

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **046150**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- | | | |
|---------------------------------------|---------------|-----------------------------|
| (45) Дата публикации и выдачи патента | (51) Int. Cl. | <i>A61K 38/04</i> (2006.01) |
| 2024.02.12 | | <i>A61K 38/06</i> (2006.01) |
| (21) Номер заявки | | <i>A61K 38/07</i> (2006.01) |
| 201990394 | | <i>C07K 5/02</i> (2006.01) |
| (22) Дата подачи заявки | | <i>C07K 19/00</i> (2006.01) |
| 2016.12.02 | | <i>C07K 5/078</i> (2006.01) |
| | | <i>C07K 5/10</i> (2006.01) |

(54) **КОНЬЮГАТЫ КВАТЕРНИЗИРОВАННЫХ ТУБУЛИЗИНОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

- | | |
|--|------------------------|
| (31) 62/263,578; 62/263,587; 62/309,448;
62/309,462 | (56) US-A1-20110263650 |
| (32) 2015.12.04; 2015.12.04; 2016.03.16;
2016.03.17 | US-A1-20100092496 |
| (33) US | US-A1-20080176958 |
| (43) 2019.06.28 | US-A1-20130217638 |
| (86) PCT/US2016/064834 | WO-A1-2016040684 |
| (87) WO 2017/096311 2017.06.08 | |
| (71)(73) Заявитель и патентовладелец:
СИДЖЕН ИНК. (US) | |
| (72) Изобретатель:
Берк Патрик Дж., Кортер Джоэл (US) | |
| (74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU) | |

-
- (57) Описаны соединения и композиции, в которых звено кватернизированного лекарственного соединения связано со звеном нацеливающего лиганда, из которых лекарственное соединение, содержащее третичный амин, высвобождается на целевом сайте действия. Предложены также способы лечения заболеваний, характеризующихся целевыми патологическими клетками, таких как рак и аутоиммунное заболевание, с использованием соединений и композиций по изобретению.

B1

046150

046150

B1

Перекрестная ссылка на связанные заявки

По данной заявке испрашивается приоритет в соответствии с заявкой США сер. № 62/263578, поданной 4 декабря, 2015, заявкой США сер. № 62/263587, поданной 4 декабря, 2015, заявкой США сер. № 62/309448, поданной 16 марта, 2016, и заявкой США сер. № 62/309462, поданной 17 марта, 2016, которые все включены в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

Предпосылки изобретения

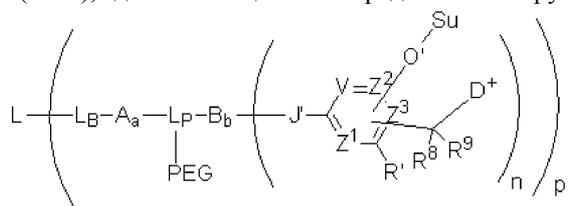
Изобретение относится к конъюгатам лекарственного соединения с лигандом (LDC) для направленной доставки тубулизиновых соединений в патологические клетки, связанные с данным болезненным состоянием, или в непосредственной близости от таких клеток. Нацеливающий лиганд в таком LDC селективно воздействует тубулизиновым соединением на патологические клетки, но не на нормальные клетки, удаленные от патологических клеток. Это селективное воздействие достигается путем концентрирования соединения в желаемом месте действия в результате связывания нацеливающего лиганда LDC с патологическими клетками или поблизости от них. В результате этого воздействие тубулизиновым соединением на удаленные нормальные клетки уменьшается, тем самым уменьшая нежелательные побочные эффекты, обусловленные цитотоксичностью тубулизинового соединения, в то же время снижая вклад патологических клеток в болезненное состояние в результате этой цитотоксичности.

Обычно конструирование LDC включает рассмотрение множества факторов, включая требование, чтобы лекарственное соединение имело сайт присоединения к линкерному фрагменту, связывающий лекарственное соединение с нацеливающим лигандом и способный высвобождать лекарственное соединение на сайте-мишени. В одном из подходов тубулизиновые соединения ранее вводились в LDC посредством ковалентного присоединения линкерного фрагмента к С-концевому компоненту тубулизинового соединения, которым обычно является тубуфенилаланин (Tup) или тубутирозин (Tut), либо через его фрагмент карбоновой кислоты, преобразованный в гидразидную функциональную группу, либо через фенильную часть С-концевого компонента посредством amino заместителя, введенного в этот фрагмент. В другом подходе присоединение линкерного фрагмента осуществляется к N-концевому компоненту, который в природных тубулизинах представляет собой D-N-метилпипеколиновую кислоту (D-Mep), после удаления его метильного заместителя. В обоих подходах модифицированное тубулизиновое соединение высвобождается со значительной потерей цитотоксичности по сравнению с исходным соединением, что снижает его эффективность в качестве терапевтического соединения.

Ввиду сложности введения тубулизинового соединения в LDC, который будет условно высвобождать это соединение в неизменной форме, сохраняющей его цитотоксическую активность, в данной области техники существует потребность в таких конъюгатах, в которых используется азот третичного амина в N-концевом компоненте тубулизина в качестве сайта конъюгирования для высвобождения полностью активного тубулизинового соединения на участке-мишени его действия. Существует также необходимость в подавлении гидрофобности гидрофобного тубулизинового соединения в LDC для обеспечения увеличенной нагрузки соединения в нацеливающем лигандном звене LDC с тем, чтобы повысить количество тубулизинового соединения, доставляемого в желаемое место действия, уменьшая при этом агрегацию, приводящую к элиминированию LDC, и устранить потери ацетатной части в тубувалинном (Tuv) компоненте *in vivo*. Либо отдельно, либо в сочетании это снижает эффективность введенной LDC.

Сущность изобретения

Основными вариантами осуществления изобретения являются композиции конъюгата лекарственного соединения с лигандом (LDC), где композиция LDC представлена структурой формулы 1А



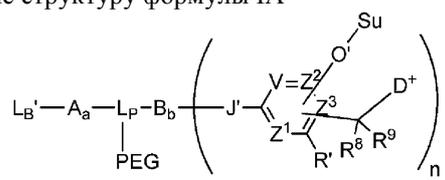
(Формула 1А)

где L представляет собой лигандное звено (L); L_B представляет собой ковалентно связывающее лигандное звено; L_P представляет собой параллельное соединительное звено; PEG представляет собой полиэтиленгликолевое звено; индекс a обозначает 0 или 1; индекс b обозначает 0 или 1; A представляет собой первое необязательное расширяющее звено, таким образом, когда индекс a обозначает 0, A отсутствует, или, когда индекс a обозначает 1, A присутствует и, необязательно, состоит из двух, трех или четырех независимо выбранных субъединиц (A₁, A₂, A₃, A₄); B представляет собой разветвляющее звено или второе необязательное расширяющее звено (A₀), таким образом, когда индекс b обозначает 0, B отсутствует, или, когда индекс b обозначает 1, B присутствует и, необязательно, состоит из двух, трех или четырех субъединиц независимо от A; индекс n обозначает 1, 2, 3 или 4, при условии, что индекс b обозначает 1, и B представляет собой разветвление, когда индекс n обозначает 2, 3 или 4 и индекс b обозначает 0 или 1, так что B представляет собой A₀, когда индекс b обозначает 1 и индекс n обозначает 1; Su

представляет собой карбогидратный фрагмент; -O'- представляет собой атом кислорода O-гликозидной связи, расщепляемой гликозидазой; -J'- представляет собой гетероатом, необязательно замещенный, если это азот; V, Z¹, Z² и Z³ представляют собой =N- или =C(R²⁴)-, где R²⁴ представляет собой водород или алкил, алкенил или алкинил, необязательно замещенные, или галоген, -NO₂, -CN или другую электроноакцепторную группу, или -OCH₃ или другую электронодонорную группу, -O'-Su или -C(R⁸)(R⁹)-D⁺, где по меньшей мере два из V, Z¹, Z² и Z³ представляют собой =C(R²⁴)-, при условии, что один и только один R²⁴ представляет собой -C(R⁸)(R⁹)-D⁺, так что -C(R⁸)(R⁹)-D⁺ присоединен к одному из V, Z¹, Z², Z³, когда эта переменная группа представляет собой =C(R²⁴)-, и один и только один другой R²⁴ представляет собой -O'-Su, так что -O'-Su присоединен к другому одному из V, Z¹, Z², Z³, когда эта переменная группа представляет собой =C(R²⁴)-, и заместители -O'-Su и -C(R⁸)(R⁹)-D⁺ являются орто или пара по отношению друг к другу; R⁸ и R⁹, независимо, представляют собой водород, алкил, алкенил или алкинил, необязательно замещенные, или арил или гетероарил, необязательно замещенные; R' представляет собой водород или представляет собой галоген, -NO₂, -CN или другую электроноакцепторную группу; D⁺ представляет собой звено кватернизированного тубулизинового лекарственного соединения; индекс p обозначает число в диапазоне от 1 до 24; и где указанное расщепление гликозидазой инициирует высвобождение терапевтического тубулизинового соединения (D) из соединения конъюгата лекарственного соединения с лигандом в композиции.

В некоторых аспектах лигандное звено представляет собой антитело, тем самым предоставляя конъюгат лекарственного соединения с антителом (ADC), имеющим лигандное звено из антитела, а целевой фрагмент, с которым лигандное звено из антитела способно связываться, представляет собой антиген клеточной поверхности патологических клеток-мишеней, который способен к клеточной интернализации связанного ADC.

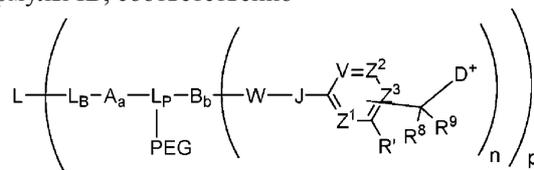
Другими основными вариантами осуществления изобретения являются соединения лекарственного соединения с линкером, имеющие структуру формулы 1A



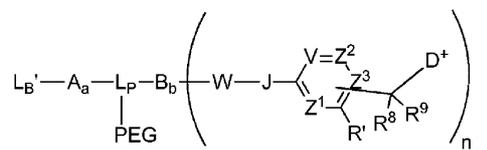
(Формула 1A)

где L_B' представляет собой предшественник звена ковалентно связывающего лиганда и остальные переменные группы являются такими, как указано для формулы 1A.

В других основных вариантах осуществления в изобретении предложены композиции конъюгата лекарственного соединения с лигандом и соединения лекарственного соединения с линкером, имеющие структуры формулы 1B и формулы 1B', соответственно



(Формула 1B)

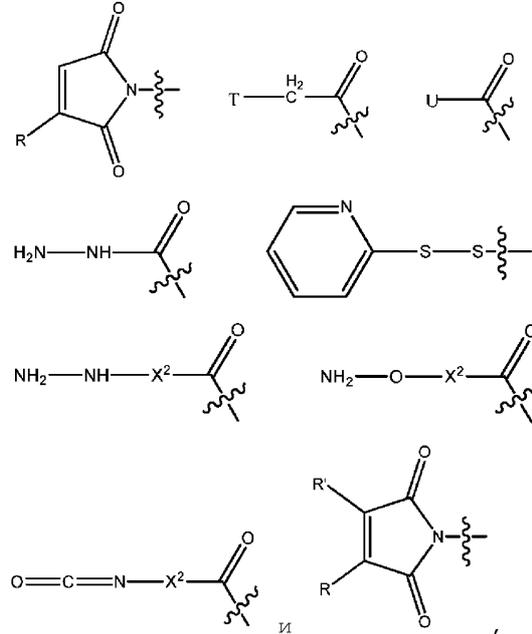


(Формула 1B')

где V, Z¹, Z² и Z³ представляют собой =N- или =C(R²⁴)-, где R²⁴ представляет собой водород или алкил, алкенил или алкинил, необязательно замещенные, или галоген, -NO₂, -CN или другую электроноакцепторную группу, или -OCH₃ или другую электроноакцепторную группу, или -C(R⁸)(R⁹)-D⁺, где по меньшей мере один из V, Z¹ и Z³ представляет собой =C(R²⁴)-, при условии, что один и только один R²⁴ представляет собой -C(R⁸)(R⁹)-D⁺, так что -C(R⁸)(R⁹)-D⁺ присоединен к одному из V, Z¹ и Z³, когда эта переменная группа представляет собой =C(R²⁴)-, J представляет собой гетероатом, необязательно замещенный, если это атом азота; R' представляет собой водород или -OCH₃ или другую электронодонорную группу, W представляет собой пептид, состоящий из аминокислотной последовательности, ковалентно присоединенной к J посредством амидной связи, где эта амидная связь может расщепляться протеазой, и другие переменные группы являются такими, как указано для формулы 1A и формулы 1B; и где указанное расщепление с помощью протеазы инициирует высвобождение терапевтического тубулизинового соединения (D) из соединения конъюгата лекарственного соединения с лигандом в композиции.

В некоторых аспектах изобретение относится к LDC конъюгатным композициям, полученным при контактировании соединения формулы IA или соединения формулы IB с нацеливающим фрагментом, обладающим реакционноспособной сульфгидрильной, amino или альдегидной группой, в подходящих условиях для осуществления конденсации реакционноспособного фрагмента с фрагментом L_B' соединения формулы I, где L_B' преобразуется в L_B, ковалентно связанный с лигандным звеном, которое в результате этого контакта соответствует нацеливающему агенту или включает его в структуру.

В некоторых аспектах L_B' имеет одну из следующих структур:



где R представляет собой водород или C₁-C₆-необязательно замещенный алкил; R' представляет собой водород или галоген, или R и R' независимо выбраны из галогена; T представляет собой -Cl, -Br, -I, -O-метил или -O-тозил или другую сульфонатную удаляемую группу; U представляет собой -F, -Cl, -Br, -I, -O-N-сукцинимид, -O-(4-нитрофенил), -O-пентафторфенил, -O-тетрафторфенил или -O-C(=O)-OR⁵⁷; X² представляет собой C₁₋₁₀алкилен, C₃-C₈-карбоцикл, -O-(C₁-C₆-алкил), -арилен-, C₁-C₁₀-алкилен-арилен, -арилен-C₁-C₁₀-алкилен, -C₁-C₁₀-алкилен-(C₃-C₆-карбоцикл)-, -(C₃-C₈-карбоцикл)-C₁-C₁₀-алкилен-, C₃-C₈-гетероцикл, -C₁-C₁₀-алкилен-(C₃-C₈-гетероцикло)-, -C₃-C₈-гетероцикло)-C₁-C₁₀-алкилен-, -(CH₂CH₂O)_u или -(CH₂CH₂O)_u-CH₂-, где u обозначает целое число в диапазоне от 1 до 10 и R⁵⁷ представляет собой C₁-C₆-алкил или арил.

Краткое описание фигур

Фиг. 1 - средний объем опухоли (мм³) в зависимости от времени (в днях) последующей после имплантации обработки ксенотрансплантата лимфомы Ходжкина CD30⁺ L540cy с DAR для 4 конъюгатов антитело-тубулизиновое лекарственное соединение, связанный с четвертичным амином, которые содержат звенья лекарственного соединения кватернизованного тубулизина M, связанные посредством расщепляемого протеазой Val-Ala дипептидного звена (сAC10-15), в сравнении с конъюгированием посредством расщепляемого β-глюкуронидазой глюкуронидного звена (сAC10-82), и сравнение конъюгатов антитело-лекарственное соединение, которые содержат звенья лекарственного соединения кватернизованного тубулизина M (сAC10-82) и этилового эфира тубулизина (сAC10-57), оба связанных посредством β-глюкуронид-расщепляемых глюкуронидных линкеров, которые все имеют неПЭГилированные линкерные звенья.

Фиг. 2 - средний объем опухоли (мм³) в зависимости от времени (дней) последующей после имплантации обработки с DAR для 8 глюкуронидных конъюгатов антитело-тубулизиновое лекарственное соединение, связанный с четвертичным амином, которые содержат звенья лекарственного соединения этилового эфира кватернизованного тубулизина с (сAC10-66) и без (сAC10-57) ПЭГилирования их линкерных звеньев, и звенья лекарственного соединения пропилового эфира кватернизованного тубулизина с (сAC10-67) и без (сAC10-58) ПЭГилирования их линкерных звеньев.

Фиг. 3 - средний объем опухоли (мм³) в зависимости от времени (в днях) последующей после имплантации обработки ксенотрансплантата лимфомы Ходжкина CD30⁺ L540cy с DAR для 8 глюкуронидных конъюгатов антитело-тубулизиновое лекарственное соединение M, связанный с четвертичным амином, (сAC10-99) с ПЭГилированием их линкерных звеньев.

Фиг. 4 - средний объем опухоли (мм³) в зависимости от времени (дней) последующей после имплантации обработки ксенотрансплантата, состоящего из смешанной популяции CD30⁺ Karpas и CD30-негативных опухолевых клеток KarpasBVR, для оценки bystander-активности, при этом мышей с ксе-

нотрансплантатной опухолью обрабатывали однократной дозой 0,5 мг/кг глюкуронидных конъюгатов антитела-лекарственные соединения тубулизины, связанные с четвертичным амином, в которых звеном кватернизованного лекарственного соединения является тубулизин М (сАС10-99), этиловый эфир тубулизина (сАС10-66) или метил-(пропен-метил)2-ил)овый эфир тубулизина (сАС10-185).

Фиг. 5 - фармакокинетические профили, представленные как общее количество антител (мкг/мл) в зависимости от времени (дней), конъюгатов антитело-лекарственное соединение, вводимых внутривенно крысам по 1 мг/кг, имеющих DAR с 4 или 8 кватернизованными тубулизинами М, конъюгированными с гуманизированным IgG посредством расщепляемого протеазой линкера из Val-Ala (hIgG-15) или val-glu (hIgG-91) дипептидного четвертичного амина без или с ПЭГилированием линкерного звена (hIgG-95) в сравнении с расщепляемым β-глюкуронидазой глюкуронидного конъюгата антитело-лекарственное соединение кватернизованный тубулизин М (hIgG-82), имеющий DAR для 4 без ПЭГилирования линкерного звена.

Фиг. 6 - фармакокинетические профили, представленные как общее количество антител (мкг/мл) в зависимости от времени (дней) для конъюгатов антитело-лекарственное соединение, вводимых внутривенно крысам по 1 мг/кг с DAR для 8 нагрузок на гуманизированное антитело IgG глюкуронидным пропиловым эфиром тубулизина, связанного с четвертичным амином, с (hIgG-67) и без (hIgG-58) ПЭГилирования линкерного звена.

Фиг. 7 - фармакокинетические профили, представленные как общее количество антител (мкг/мл) в зависимости от времени (дней), для конъюгатов антитело-лекарственное соединение, вводимым внутривенно крысам по 1 мг/кг с DAR для 8 замен на гуманизированном антителе IgG глюкуронидным тубулизином М, связанным с четвертичным амином, (hIgG-99) и этиловым эфиром тубулизина (hIgG-66), оба с ПЭГилированным линкерным звеном.

Фиг. 8 - средний объем опухоли (мм³) в зависимости от времени (дней) последующей после имплантации обработки ксенотрансплантата лимфомы Ходжкина CD30⁺ L540су дозированным внутривенно 0,15 мг/кг или 0,3 мг/кг глюкуронидным конъюгатом антитело-тубулизиновое лекарственное соединение М, связанным с четвертичным амином, с (сАС10-99) или без (сАС10-82) ПЭГилированием линкера, с DAR для 8 и 4, соответственно, или обработки глюкуронидным конъюгатом антитело-лекарственное соединение этиловый эфир тубулизина, связанный с четвертичным амином, с (сАС10-66) или без (сАС10-57) ПЭГилирования линкера, с DAR для 8 и 4, соответственно, по сравнению с обработкой введением внутривенно дозы 0,3 мг/кг с DAR для 4 конъюгатов антитело-тубулизиновое лекарственное соединение М, связанный с четвертичным амином, которые связаны посредством расщепляемого протеазой Val-Ala дипептидного звена (сАС10-15) без ПЭГилирования линкерного звена.

Фиг. 9 - средний объем опухоли (мм³) в зависимости от времени (в днях) последующей после имплантации обработки устойчивого к действию лекарства ксенотрансплантата почечно-клеточного рака CD70⁺ 786-О (MDR+) внутривенно в дозе 0,5 мг/кг или 1,5 мг/кг ПЭГилированного глюкуронидного конъюгата антитело-лекарственное соединение этиловый эфир тубулизина, связанного с четвертичным амином, (h1F6-66) или с ПЭГилированным глюкуронидным метил-(пропен-2-ил)овым эфиром тубулизина, связанным с четвертичным амином, (h1F6-185), оба с DAR для 8, в сравнении с обработкой глюкуронидным конъюгатом антитело-тубулизиновое лекарственное соединение М, связанный с четвертичным амином, (h1F6-99), с DAR для 8.

Фиг. 10 - средний объем опухоли (мм³) в зависимости от времени (в днях) последующей после имплантации обработки устойчивого к действию лекарства ксенотрансплантата анапластической крупноклеточной лимфомы CD30⁺ сАС10-mc-Val-Cit-MMAE (DELBVR ALCL) с DAR для 4 неПЭГилированных глюкуронидных конъюгатов антитело-лекарственное соединение этиловый эфир тубулизина, связанным с четвертичным амином, (сАС10-57) или неПЭГилированным глюкуронидным конъюгатом антитело-тубулизиновое лекарственное соединение М, связанный с четвертичным амином, в сравнении с их соответствующими с DAR для 8 ПЭГилированными конъюгатов (сАС10-66 и сАС10-99), вводимых внутривенно в дозе 0,3 мг/кг или 1 мг/кг, и с DAR для 4 конъюгатов антитело-тубулизиновое лекарственное соединение М, связанный с четвертичным амином, которые связаны через расщепляемый протеазой Val-Ala дипептид без ПЭГилирования линкерного звена (сАС10-15), вводимого внутривенно в дозе 1 мг/кг.

Подробное описание изобретения

Определения.

Как используется в настоящем документе и если не указано иное или не подразумевается из контекста, термины, которые используются в настоящем документе, имеют значения, определенные ниже. Если иное не противоречит или не подразумевается, например, путем включения в эти определения и по всему данному описанию взаимоисключающих элементов или опций, термины в единственном числе означают "один или несколько" и термин "или" означает "и/или", где это разрешено контекстом. Таким образом, как используется в описании и прилагаемой формуле изобретения, формы единственного числа включают отсылки и к множественному числу, если из контекста явно не предписывается иное.

В различных частях описания настоящего изобретения, например в любых описанных вариантах осуществления или в формуле изобретения, приводится ссылка на соединения, композиции или способы,

которые "включают" один или несколько указанных компонентов, элементов или стадий. Варианты осуществления изобретения также конкретно включают в себя такие соединения, композиции, композиции или способы, которые состоят или которые по существу состоят из указанных компонентов, элементов или стадий. Термин "состоит из" используется взаимозаменяемо с термином "включающий", и они считаются эквивалентными терминами. Например, описание композиции, устройства, изделия или способов, которые "включают" компонент или стадию, являются открытыми, и они включают или охватывают эти композиции или способы плюс дополнительное количество компонентов или стадий. Тем не менее, данные термины не охватывают неуказанные элементы, которые могут нарушать функциональность описанных композиций, устройств, изделий или способов по их прямому назначению. Аналогично, описанные композиции, устройства, изделия или способы, которые "состоят из" компонента или стадий, являются закрытыми, и они не будут включать или указывать такие композиции или способы, которые имеют дополнительное количество компонента (компонентов) или дополнительную стадию (стадии). Кроме того, использование термина "включая", а также других форм, таких как "включать", "включает в себя" и "включенный", не является ограничивающим. Наконец, термин "состоящий по существу из" допускает включение неуказанных элементов, которые не оказывают существенного влияния на функциональность описанных композиций, устройств, изделий или способов по их прямому назначению и указаны далее в настоящем документе. Заголовки разделов, используемые в настоящем документе, предназначены только для организационных целей и не должны рассматриваться как ограничивающие описанный в нем объект изобретения. Если не указано иное, используются общепринятые методы масс-спектропии, ЯМР, ВЭЖХ, белковой химии, биохимии, методов рекомбинантной ДНК и фармакологии.

Термин "около", как используется в настоящем документе, когда он используется в связи с числовым значением или диапазоном значений, предоставленными для описания конкретного свойства соединения или композиции, указывает, что значение или диапазон значений могут отклоняться до степени, которая считается разумной по мнению любого обычного специалиста в данной области техники в рамках описания этого конкретного свойства. Разумные отклонения включают отклонения, которые находятся в пределах точности или точности прибора (приборов), используемого для измерения, определения или получения конкретного свойства. В частности, термин "около", используемый в данном контексте, означает, что числовое значение или диапазон значений могут отличаться на 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1 или 0,01% от указанного значения или интервала значений, обычно на от 10 до 0,5%, более обычно на от 5 до 1%, в рамках описания этого конкретного свойства.

Термин "по существу сохраняет", "по существу сохраняющий" и подобные термины в контексте настоящего описания относятся к свойству, характеристике или активности соединения, или композиции, или фрагмента, которые не были заметно изменены или находятся в пределах экспериментальной ошибки определения этой же активности, характеристики или свойства другого соединения, или композиции, или фрагмента, из которого они были получены.

Термин "пренебрежимо малый" или "незначительный", как он используется в настоящем документе, представляет собой количество примеси ниже уровня количественного определения путем анализа ВЭЖХ, и, если примесь присутствует, составляет от около 0,5% до около 0,1 мас./мас.% композиции, которую она загрязняет. В зависимости от контекста эти термины могут также означать, что не наблюдается статистически значимой разницы между измеренными значениями или результатами, или находится в пределах экспериментальной ошибки приборов, используемых для получения этих значений. Незначительные различия в значениях параметра, определенного экспериментально, не означают, что примесь, характеризуемая этим параметром, присутствует в незначительном количестве.

Используемый в настоящем документе термин "по существу сохраняет" относится к измеренному значению физического свойства соединения или композиции или их фрагмента, которое статистически отличается от определения того же физического свойства другого соединения или композиции или фрагмента, из которого они были получены, но где такое различие не сводится к статистически значимому различию в биологической активности в подходящей биологической тест-системе для оценки этой активности (то есть биологическая активность по существу сохраняется) или которое не имеет биологического последствия. Таким образом, фраза "по существу сохраняет" сделана со ссылкой на влияние, которое физическое свойство соединения или композиции оказывает на биологическую активность, которая явно связана с этим свойством.

Термин "преимущественно содержащий", "преимущественно имеющий" и подобные термины относятся к основному компоненту смеси. Когда смесь состоит из двух компонентов, тогда основной компонент составляет более 50% по массе смеси. При использовании смеси из трех или более компонентов преобладающим компонентом является тот, который присутствует в смеси в наибольшем количестве и может составлять или не составлять большую часть массы смеси.

Термин "электроноакцепторная группа", используемый в настоящем документе, относится к функциональной группе или электроотрицательному атому, которые оттягивают на себя электронную плотность от атома, с которым они связаны индуктивно и/или посредством резонанса, в зависимости от того, что является более доминирующим (то есть функциональная группа или атом могут быть донорами электронов посредством резонанса, но в целом могут индуктивно оттягивать электроны) и имеют тен-

денцию стабилизировать анионы или фрагменты, обогащенные электронами. Электроноакцепторное действие обычно передается индуктивно, хотя и в ослабленной форме, на другие атомы, присоединенные к связанному атому, что создает дефицит электронов с помощью электроноакцепторной группы (EWG), таким образом влияя на электрофильность более удаленного реакционноспособного центра. Типичные электроноакцепторные группы включают, но не ограничиваются ими, $-C(=O)$, $-CN$, $-NO_2$, $-CX_3$, $-X$, $-C(=O)OR'$, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)N(R')R^{op}$, $-C(=O)R'$, $-C(=O)X$, $-S(=O)_2R^{op}$, $-S(=O)_2OR'$, $-SO_3H_2$, $-S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2N(R')R^{op}$, $-PO_3H_2$, $-P(=O)(OR')(OR^{op})_2$, $-NO$, $-NH_2$, $-NH(R')(R^{op})$, $-N(R^{op})_3^+$, и их соли, где X представляет собой -F, -Br, -Cl или -I, и R^{op} в каждом случае независимо выбран из группы, ранее описанной для необязательных заместителей, и иногда выбран из группы, состоящей из C_1 - C_6 -алкила и фенила, и R' выбран из группы, описанной ранее для необязательных заместителей, и иногда представляет собой C_1 - C_6 -алкил. Типичные EWG также могут включать арильные группы (например, фенил) в зависимости от замещения и некоторые гетероарильные группы (например, пиридин). Таким образом, термин "электроноакцепторная группа" также включает арилы или гетероарилы, которые дополнительно замещены электроноакцепторными группами. Обычно электроноакцепторными группами являются $-C(=O)$, $-CN$, $-NO_2$, $-CX_3$ и $-X$, где X представляет собой галоген. В зависимости от его заместителей ненасыщенный алкильный фрагмент также может быть электроноакцепторной группой.

Термин "электронодонорная группа" относится к функциональной группе или электроположительному атому, которые увеличивают электронную плотность атома, с которым они связаны, индуктивно и/или посредством резонанса, в зависимости от того, что является более доминирующим (то есть функциональная группа или атом могут быть индуктивно электроноакцепторными, но в целом могут быть электронодонорными посредством резонанса) и имеют тенденцию стабилизировать катионы или системы с низким содержанием электронов. Электронодонорное действие обычно передается через резонанс на другие атомы, присоединенные к связанному атому, который был обогащен электронами с помощью электронодонорной группы (EDG), таким образом влияя на нуклеофильность более удаленного реакционноспособного центра. Типичные электронодонорные группы включают, но не ограничиваются ими, $-OH$, $-OR'$, $-NH_2$, $-NHR'$ и $N(R')_2$, где каждый R' представляет собой независимо выбранный алкил, обычно C_1 - C_6 -алкил. В зависимости от их заместителей арильный, гетероарильный или ненасыщенный алкильный фрагмент также могут быть электронодонорной группой.

Термин "фрагмент" в контексте настоящего описания означает указанный сегмент, фрагмент или функциональную группу молекулы или соединения. Химические фрагменты иногда обозначаются как химические объекты, которые встроены или присоединены (то есть заместитель или переменная группа) к молекуле, соединению или химической формуле.

Для любой группы заместителей или любого фрагмента, описанных в настоящем документе, заданных диапазоном атомов углерода, указанный диапазон означает, что описано любое отдельное число атомов углерода. Таким образом, ссылка, например, на "необязательно замещенный C_1 - C_4 -алкил", "необязательно замещенный C_2 - C_6 -алкенил", "необязательно замещенный C_3 - C_8 -гетероцикл", в частности, означает, что представлены необязательно замещенный алкильный фрагмент с 1, 2, 3 или 4 атомами углерода, как определено в настоящем документе, или необязательно замещенный алкенильный фрагмент с 2, 3, 4, 5 или 6 атомами углерода, или 3, 4, 5, 6, 7 или 8 членный гетероцикл, как определено в настоящем документе. Все такие числовые обозначения специально предназначены для описания всех отдельных групп атомов углерода; и, таким образом, "необязательно замещенный C_1 - C_4 -алкил" включает метил, этил, алкилы с 3 атомами углерода и алкилы с 4 атомами углерода, включая все их изомеры положения, как замещенные, так и незамещенные. Таким образом, когда алкильный фрагмент является замещенным, числовые обозначения относятся к незамещенному основному фрагменту и не предназначены для включения атомов углерода, которые могут присутствовать в заместителях этого основного фрагмента. Для сложных эфиров, карбонатов, карбаматов и мочевины, определенных в настоящем документе, которые идентифицированы заданным диапазоном атомов углерода, указанный диапазон включает карбонильный углерод соответствующей функциональной группы. Таким образом, C_1 сложный эфир относится к формиатному эфиру, C_2 сложный эфир относится к ацетатному эфиру, а незамещенная C_1 мочевина относится к $NH_2(C=O)NH_2$.

Органические заместители, фрагменты и группы, описанные в настоящем документе, и для других любых других фрагментов, описанных в настоящем документе, обычно исключают нестабильные фрагменты, за исключением тех случаев, когда такие нестабильные фрагменты являются переходными компонентами, которые можно использовать при получении соединения с достаточной химической стабильностью для одного или нескольких применений, описанных в настоящем документе. Обязательно исключаются заместители, фрагменты или группы, когда по определениям, предложенным в настоящем документе, это приводит к заместителям, содержащим пятивалентный углерод.

Термин "алкил", как используется в настоящем документе, сам по себе или как часть другого термина относится к метилу или совокупности атомов углерода, где один или несколько атомов углерода являются насыщенными (то есть состоит из одного или нескольких sp^3 атомов углерода), которые ковалентно связаны вместе в нормальном, вторичном, третичном или циклическом расположении, то есть в линейном, разветвленном, циклическом расположении или некоторой их комбинации. Когда смежные

насыщенные атомы углерода находятся в циклическом расположении, такие алкильные группы иногда называют циклоалкилом, как определено в настоящем документе. Насыщенные алкильные заместители содержат насыщенные атомы углерода (то есть sp^3 атомы углерода) и не содержат ароматических, sp^2 или sp атомов углерода (то есть не замещены ненасыщенными, ароматическими и гетероароматическими фрагментами). Ненасыщенные алкильные заместители представляют собой алкильные фрагменты или группы, которые содержат фрагменты, как описано в настоящем документе для алкенильных, алкинильных, арильных и гетероарильных фрагментов.

Таким образом, если не указано иное, термин "алкил" будет обозначать насыщенный нециклический углеводородный радикал, необязательно замещенный одним или несколькими циклоалкильными или ненасыщенными, ароматическими или гетероароматическими фрагментами или их некоторой комбинацией, где насыщенный углеводородный радикал имеет указанное число ковалентно связанных насыщенных атомов углерода (например, " C_1 - C_6 -алкил" или " C_1 - C_6 -алкил" означает алкильный фрагмент или группу, которые содержат 1, 2, 3, 4, 5 или 6 смежных нециклических насыщенных атомов углерода, и " C_1 - C_8 -алкил" относится к алкильному фрагменту или группе, имеющим 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 смежных насыщенных нециклических атомов углерода). Число насыщенных атомов углерода в алкильном фрагменте или группе может варьироваться и обычно составляет 1-50, 1-30 или 1-20, и более типично составляет 1-8 или 1-6. Как правило, алкил относится к насыщенному C_1 - C_8 -алкильному фрагменту или, более типично, представляет собой C_1 - C_6 - или C_1 - C_4 -алкильный фрагмент, где последний иногда называют низшим алкилом. Когда число атомов углерода не указано, алкильный фрагмент или группа содержат от 1 до 8 атомов углерода.

При упоминании алкильного фрагмента или группы в качестве алкильного заместителя этот алкильный заместитель в структуре Маркуша или в другом органическом фрагменте, с которым он связан, представляет собой цепь из смежных атомов насыщенного углерода, ковалентно присоединенную к структуре или фрагменту через sp^3 углерод алкильного заместителя. Поэтому алкильный заместитель, как используется в настоящем документе, содержит по меньшей мере один насыщенный фрагмент и может также содержать или необязательно быть замещенным циклоалкильными, ненасыщенными алкильными, ароматическими или гетероароматическими фрагментами или группами. Таким образом, алкильный заместитель может дополнительно содержать одну, две, три или более независимо выбранные двойные связи, тройные связи или циклоалкильные, ароматические или гетероароматические фрагменты или некоторые их комбинации, обычно одну двойную связь, одну тройную связь, или быть замещенным одним циклоалкильным ароматическим или гетероароматическим фрагментом. Когда указан алкильный заместитель, фрагмент или группа, примеры включают те, которые получены в результате удаления атома водорода у исходного алкана (то есть является одновалентным) и могут включать метил, этил, 1-пропил (н-пропил), 2-пропил (изо-пропил, $-CH(CH_3)_2$), 1-бутил (н-бутил), 2-метил-1-пропил (изо-бутил, $-CH_2CH(CH_3)_2$), 2-бутил (втор-бутил, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$), 2-метил-2-пропил (трет-бутил, $-C(CH_3)_3$), амил, изоамил, втор-амил и другие алкильные фрагменты с линейной, циклической и разветвленной цепью.

Термин "алкилен", как используется в настоящем документе, сам по себе или как часть другого термина относится к насыщенному, разветвленному, циклическому или линейному углеводородному дирадикалу, замещенному или незамещенному, где один или несколько атомов углерода являются ненасыщенными (то есть включают один или несколько sp^3 атомов углерода) из указанного числа атомов углерода, обычно 1-10 атомов углерода, и имеющему два радикальных центра (то есть двухвалентный), образованными путем удаления двух атомов водорода у одного или двух разных насыщенных (то есть sp^3) атомов углерода исходного алкана. Алкиленовые фрагменты, кроме того, включают алкильные радикалы, как описано в настоящем документе, в которых атом водорода удален из насыщенного фрагмента или от углерода алкильного радикала с образованием дирадикала. Как правило, алкиленовые фрагменты включают, но этим не ограничиваются, двухвалентные фрагменты, полученные в результате удаления атома водорода у насыщенного атома углерода исходного алкильного фрагмента, и представлены, например, как $(-CH_2-)$, 1,2-этилен $(-CH_2CH_2-)$, 1,3-пропилен $(-CH_2CH_2CH_2-)$, 1,4-бутилен $(-CH_2CH_2CH_2CH_2-)$ и подобные дирадикалы. Как правило, алкилен представляет собой углеводород с разветвленной или прямой цепью, обычно содержащий только sp^3 атомы углерода (то есть полностью насыщенный независимо от радикальных атомов углерода).

"Циклоалкил", как используется в настоящем документе, представляет собой моноциклической, бициклической или трициклической радикал кольцевой системы, где каждый из атомов, образующих кольцевую систему (то есть атомы скелета), является атомом углерода, и где один или несколько из этих атомов углерода в каждом кольце циклической кольцевой системы являются насыщенными (то есть состоит из одного или нескольких sp^3 атомов углерода). Таким образом, циклоалкил представляет собой циклически расположенные насыщенные атомы углерода, но может также содержать ненасыщенный атом(атомы) углерода, и, следовательно, его карбоциклическое кольцо может быть насыщенным или частично ненасыщенным, или может быть конденсировано с ароматическим кольцом, где точки конденсации циклоалкила с ароматическим кольцом относятся к соседним ненасыщенным атомам углерода циклоалкильных фрагмента, группы или заместителя и к соседним ароматическим атомам углерода ароматического кольца.

Если не указано иное, циклоалкильные фрагмент, группа или заместитель могут быть замещены фрагментами, описанными для алкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, алкиларила и тому подобного, или могут быть замещены другими циклоалкильными фрагментами. Циклоалкильные фрагменты, группы или заместители включают циклопропильные, циклопентильные, циклогексильные, адамантальные или другие циклические фрагменты, содержащие только атомы углерода. Циклоалкилы, кроме того, включают циклобутил, циклопентенил, циклогексенил, циклогептил и циклооктил. В зависимости от своей структуры циклоалкильный заместитель может быть монорадикальным, как описано выше для циклоалкильных фрагментов или групп, или дирадикалом (то есть циклоалкиленом или, альтернативно, карбоцикло), таким как, но не ограничиваясь этим, циклопропан-1,1-диил, циклобутан-1,1-диил, циклопентан-1,1-диил, циклогексан-1,1-диил, циклогексан-1,4-диил, циклогептан-1,1-диил и тому подобное).

Когда циклоалкил используется в качестве группы Маркуша (то есть заместителя), циклоалкил является присоединенным к формуле Маркуша или другому органическому фрагменту, с которым он связан через углерод, который входит в карбоциклическую кольцевую систему циклоалкильной группы, при условии, что углерод не является ароматическим углеродом конденсированной кольцевой системы. Когда ненасыщенный углерод алкенового фрагмента, включающего циклоалкильный заместитель, присоединен к формуле Маркуша, с которой он связан, этот циклоалкил иногда называют циклоалкенильным заместителем. Число атомов углерода в циклоалкильном заместителе определяется общим числом атомов скелета кольцевой системы. Это число может варьироваться и обычно колеблется в диапазоне от 3 до 50, 1-30 или 1-20 и, более типично, 3-8 или 3-6, если не указано иное, например, C₃₋₈-циклоалкил означает циклоалкильный заместитель, фрагмент или группу, содержащие 3, 4, 5, 6, 7 или 8 карбоциклических атомов углерода, и C₃₋₆-циклоалкил означает циклоалкильный заместитель, фрагмент или группу, содержащие 3, 4, 5 или 6 карбоциклических атомов углерода. Поэтому циклоалкильные заместители, фрагменты или группы обычно имеют 3, 4, 5, 6, 7, 8 атомов углерода в своей карбоциклической кольцевой системе и могут содержать экзо- или эндоциклические двойные связи, или эндоциклические тройные связи, или комбинацию обеих, где эндоциклические двойные или тройные связи или их комбинация не образуют циклически сопряженную систему из 4n+2 электронов. Бициклическая кольцевая система может иметь один (то есть является спиро-кольцевой системой) или два атома углерода, и трициклическая кольцевая система может иметь в общей сложности 2, 3 или 4 атома углерода, обычно 2 или 3.

Термин "алкенил", как используется в настоящем документе, означает заместитель, фрагмент или группу, которые содержат одну или несколько групп с двойной связью (например, функциональную группу -CH=CH-) или 1, 2, 3, 4, 5 или 6 или более, обычно 1, 2 или 3 таких фрагментов, и могут быть замещены арильным фрагментом или группой, такими как бензол, или связаны нормальными, вторичными, третичными или циклическими атомами углерода, то есть линейными, разветвленными, циклическими или любой их комбинацией, за исключением случаев, когда алкенильные заместитель, фрагмент или группа представляют собой винильную группу (например, функциональную группу -CH=CH₂). Алкенильные фрагмент, группа или заместитель, имеющие несколько двойных связей, могут иметь двойные связи, расположенные непрерывно (то есть 1,3-бутадиенильный фрагмент) или не непрерывно с одним или несколькими промежуточными насыщенными атомами углерода или их комбинацией, при условии, что циклическое непрерывное расположение двойных связей не образует циклически сопряженную систему из 4n+2 электронов (то есть не является ароматическим).

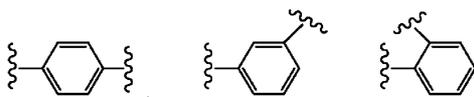
Когда указываются алкенильные фрагмент, группа или заместитель, разновидности включают, в качестве примера, но не ограничения, любые из описанных в настоящем документе алкильные или циклоалкильные группы, фрагменты или заместители, которые имеют одну или несколько эндо двойных связей и одновалентных фрагментов, образованных в результате удаления атома водорода у sp² углерода исходного соединения алкена. Такие одновалентные группы обычно включают винил (-CH=CH₂), аллил, 1-метилвинил, бутенил, изобутенил, 3-метил-2-бутенил, 1-пентенил, циклопентенил, 1-метилциклопентенил, 1-гексенил, 3-гексенил, циклогексенил и другие линейные, циклические и разветвленные цепи, все углеродсодержащие фрагменты, содержащие по меньшей мере одну двойную связь. Когда алкенил используется в качестве группы Маркуша (то есть является заместителем), алкенил является присоединенным к формуле Маркуша или другому органическому фрагменту, с которым он связан через углерод с двойной связью (то есть sp² углерод) алкенильного фрагмента группы. Число атомов углерода в алкенильном заместителе определяется числом sp² атомов углерода в алкеновой функциональной группе, которая определяет его как алкенильный заместитель, и общим количеством смежных насыщенных атомов углерода, присоединенных к каждому из этих sp² атомов углерода. Это число может варьироваться и, если не указано иное, находится в диапазоне от 1 до 50, например обычно 1-30 или 1-20, более типично, 1-8 или 1-6, когда функциональная группа с двойной связью находится в экзо положении в структуре Маркуша, или может варьироваться и колебаться в диапазоне от 2 до 50, обычно 2-30 или 2-20, более типично, от 2 до 8 или 2-6, когда функциональная группа с двойной связью является эндо по отношению к структуре Маркуша. Например, C₂₋₈-алкенил или C₂₋₈-алкенил означает алкенильную группу, содержащую 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода, в которой по меньшей мере два представляют собой sp² атомы углерода в сопряжении друг с другом, и C₂₋₆-алкенил или C₂₋₆-алкенил означает алкенильную группу, содержащую 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода, в которой по меньшей мере два представляют собой sp²

атомы углерода, которые находятся в сопряжении друг с другом. Как правило, алкенильный заместитель представляет собой C_2-C_6 -или C_2-C_4 -алкенильный фрагмент, имеющий два sp^2 углерода, которые находятся в сопряжении друг с другом.

Термин "алкенилен", как используется в настоящем документе, сам по себе или как часть другого термина, относится к заместителю, фрагменту или группе, которые содержат одну или несколько групп с двойной связью, как ранее описано для алкенила, с указанным числом атомов углерода, обычно 1-10 атомов углерода, когда функциональная группа с двойной связью является экзо по отношению к большому фрагменту, или 2-10, когда функциональная группа с двойной связью является эндо в алкениленовом фрагменте, и имеют два радикальных центра, образованных путем удаления двух атомов водорода от одного или двух разных sp^2 атомов углерода в группе с двойной связью исходного алкена. Алкениленовые фрагменты, кроме того, включают алкенильные радикалы, как описано в настоящем документе, в которых атом водорода был удален от того же или другого sp^2 атома углерода во фрагменте с двойной связью радикала алкенила с образованием дирадикала или от sp^2 углерода в другом фрагменте с двойной связью, чтобы обеспечить еще один радикальный углерод. Как правило, алкениленовые фрагменты включают дирадикалы, имеющие структуру $-C=C-$ или $-C=C-X^1-C=C-$, где X^1 отсутствует или представляет собой алкилен, определенный в настоящем документе.

Термин "арил", как используется в настоящем документе, означает органический фрагмент, заместитель или группу, которые определяют ароматическую кольцевую систему или конденсированную кольцевую систему без кольцевых гетероатомов, содержащие 1, 2, 3 или от 4 до 6 колец, обычно от 1 до 3 колец, где кольца состоят только из атомов углерода, которые участвуют в циклически сопряженной системе из $4n+2$ электронов (правило Хюккеля), обычно 6, 10 или 14 электронов, некоторые из которых могут дополнительно участвовать в экзоциклическом сопряжении с гетероатомом (перекрестно сопряженным, например, с хиноном). Арильные заместители, фрагменты или группы обычно образованы шестью, восемью, десятью или более ароматическими атомами углерода. Арильные заместители, фрагменты или группы являются необязательно замещенными. Примеры арилов включают C_6-C_{10} -арилы, такие как фенил и нафталин и фенантрил. Поскольку ароматичность в нейтральном арильном фрагменте требует четного числа электронов, следует понимать, что данный диапазон для этого фрагмента не будет охватывать виды с нечетным количеством ароматических атомов углерода. Когда арил используется в качестве группы Маркуша (то есть заместителя), арил присоединяется к формуле Маркуша или другому органическому фрагменту, с которым он связан через ароматический углерод арильной группы. В зависимости от структуры арильная группа может быть монадикальной (то есть одновалентной) или дирадикальной (то есть описанной в настоящем документе ариленовой группой, которая является двухвалентной).

Термин "арилен" или "гетероарилен", как используется в настоящем документе, сам по себе или как часть другого термина представляет собой арильные или гетероарильные фрагмент, группу или заместитель, определенные в настоящем документе, которые образуют две ковалентные связи (то есть являются двухвалентными) в пределах более крупного фрагмента, который может находиться в орто-, мета- или пара-конфигурации, или ароматический дирадикальный фрагмент. Примеры ариленов включают, но этим не ограничиваются, фенил-1,2-ен, фенил-1,3-ен и фенил-1,4-ен, как показано следующими структурами:



Термин "арилалкил", как используется в настоящем документе, означает заместитель, фрагмент или группу, где арильный фрагмент связан с алкильной группой, то есть -алкил-арил, где алкильные и арильные группы являются такими, как описано выше, например, $CH_2-C_6H_5$, $-CH_2CH(CH_3)-C_6H_5$ или $-CH(CH_2CH_2CH_3)-CH_2-C_6H_5$. Когда арилалкил используется в качестве группы Маркуша (то есть заместителя), алкильная часть арилалкила присоединяется к формуле Маркуша, с которой он связан через sp^3 углерод алкильной группы.

Термин "алкиларил", как используется в настоящем документе, означает заместитель, фрагмент или группу, где алкильный фрагмент связан с арильной группой, то есть -арил-алкил, где арильная и алкильная группы являются такими, как описано выше, например, $-C_6H_4-CH_3$ или $-C_6H_4-CH_2CH(CH_3)$. Когда алкиларил используется в качестве группы Маркуша (то есть заместителя), арильный фрагмент алкиларила присоединяется к формуле Маркуша, с которой он связан через ароматический углерод арильного фрагмента.

"Необязательно замещенный алкил", "необязательно замещенный алкенил", "необязательно замещенный алкинил", "необязательно замещенный алкиларил", "необязательно замещенный арилалкил", "необязательно замещенный гетероцикл", "необязательно замещенный арил", "необязательно замещенный гетероарил", "необязательно замещенный алкилгетероарил", "необязательно замещенный гетероарилалкил" и подобные термины относятся к алкильному, алкенильному, алкинильному, алкиларильному, арилалкильному, гетероциклическому, арильному, гетероарильному, алкилгетероарильному, гетероари-

лалкильному или другим заместителю, фрагменту или группе, определенным или описанным в настоящем документе, где атом(атомы) водорода этих заместителя, фрагмента или группа обязательно заменены другим фрагментом(фрагментами) или группой(группами), или где алициклическая углеродная цепь, которая включает один из этих заместителей, фрагмент или группу, прерывается заменой атома(атомов) углерода этой цепи другими фрагментом(фрагментами) или группой(группами).

Необязательный заместитель(заместители), заменяющий водород(водороды) в любом из указанных выше заместителей, фрагментов или групп, включает заместители, независимо выбранные из группы, состоящей из галогена, $-\text{CN}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, алкила, фторалкила, гетероалкила, циклоалкила, гетероциклоалкила, арила, гетероарила, алкокси, арилокси, алкилтио, арилтио, алкилсульфоксида, арилсульфоксида, алкилсульфона и арилсульфона, или те, которые выбраны из группы, состоящей из галогена, $-\text{CN}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, $-\text{NH}(\text{CH}_3)$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ (то есть CO_2H), $-\text{C}(=\text{O})\text{O}$ -алкила (то есть CO_2 -алкила), $\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}$ (алкил), $-\text{C}(=\text{O})\text{N}$ (алкил) $_2$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}_2$, $\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}$ (алкил), $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}$ (алкил) $_2$, алкила, циклоалкила, фторалкила, гетероалкила, алкокси, фторалкокси, $-\text{S}$ -алкила и $\text{S}(=\text{O})_2$ алкила.

Обычно обязательный заместитель(заместители), заменяющий водород(водороды) в любом из указанных выше заместителей, фрагментов или групп, независимо выбран из группы, состоящей из алкила, циклоалкила, арила, гетероарила, гетероалифатического цикла, гидроксила, алкокси, арилокси, циано, галогена, нитро, галогеналкила, фторалкила, фторалкокси и амино, включая моно-, ди- и тризамещенные аминогруппы и их защищенные производные, или выбран из группы, состоящей из галогена, $-\text{CN}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, $\text{NH}(\text{CH}_3)$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CF}_3$, $-\text{OCH}_3$, и $-\text{OCF}_3$. Обычно любой из вышеуказанных заместителей, фрагментов или групп, который обязательно замещен путем замены одного или нескольких своих водородов, имеет водород(водороды), замененный одним или двумя из предшествующих обязательных заместителей или, более типично, одним из предшествующих обязательных заместителей. Необязательный заместитель на насыщенном алифатическом атоме углерода в ациклической или циклической кольцевой системе дополнительно включает оксо ($=\text{O}$). Для фенильного или 6-членного гетероарильного фрагмента расположение любых двух заместителей, присутствующих в ароматическом или гетероароматическом кольце, может быть орто (o), мета (m) или пара (p).

Обычно обязательный заместитель, замещающий углерод в ациклической углеродной цепи, выбран из группы, состоящей из $-\text{O}-$, $-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{NH}-$, $-\text{NHC}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$, $\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}-$, $-\text{NHS}(=\text{O})_2$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{NH}-$ и $-\text{NHC}(=\text{O})\text{O}-$.

Обычно любой из вышеуказанных заместителей, фрагментов или групп, который обязательно замещен путем замены одного или нескольких водородов, имеет водород(водороды), замененный одним или двумя из предшествующих обязательных заместителей или, более типично, одним из предшествующих обязательных заместителей.

Понятно, что обязательный заместитель алкильных или алкиленовых заместителя, фрагмента или группы исключает алкил, и что обязательный заместитель алкеновых или алкениленовых заместителя, фрагмента или группы исключает алкенил, так как такие замещения предоставляют фрагменты, попадающие в определение основных фрагментов, таким образом замещенный и обязательный заместитель алкила или алкилена, кроме того, исключает алкилен или алкенилен, так как такое замещение предоставляет фрагменты, попадающие под определение ненасыщенного алкила и ненасыщенного алкилена, соответственно.

Термин "гетероцикл" в контексте настоящего описания означает карбоцикл, в котором один или несколько, но не все атомы углерода скелета в карбоциклической кольцевой системе независимо заменены на гетероатом, обязательно замещенный, где это разрешено, включая N, O, S, Se, B, Si, P, где два или более гетероатома могут быть смежными по отношению друг к другу или разделенными одним или несколькими атомами углерода в одной и той же кольцевой системе, обычно 1-3 атомами. Эти гетероатомы обычно включают N, O или S. Гетероцикл обычно содержит в общей сложности от одного до десяти гетероатомов в гетероциклической кольцевой системе при условии, что не все атомы скелета любого одного кольца в гетероциклической кольцевой системе являются гетероатомами, где каждый гетероатом в кольце(кольцах), обязательно замещенный, где это разрешено, является независимо выбранным из группы, состоящей из O, S и N, при условии, что любое одно кольцо не содержит двух соседних атомов O или S. Когда они являются неароматическими, гетероциклы имеют по меньшей мере 3 атома в своей кольцевой системе, и когда они являются ароматическими, гетероциклы имеют по меньшей мере 5 атомов в своей кольцевой системе. Типичные гетероциклы предложены Paquette, Leo A.; "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W.A. Benjamin, New York, 1968), в частности, главы 1, 3, 4, 6, 7 и 9; "The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, Нью-Йорк, 1950 г. по настоящее время), в частности тома 13, 14, 16, 19 и 28; и J. Am. Chem. Soc. 1960, 82:5545-5473, в частности 5566-5573).

Когда гетероцикл используется в качестве группы Маркуша (то есть заместителя), гетероцикл присоединяется к формуле Маркуша или более крупному фрагменту, с которым он связан через углерод или гетероатом гетероцикла, где такое присоединение не приводит к нестабильному или не допускается формальное состояние окисления этого углерода или гетероатома. Таким образом, гетероциклы в этом контексте представляют собой одновалентные фрагменты, иногда называемые гетероциклами, кото-

рые включают гетероарилы, которые имеют гетероароматическую кольцевую систему, или гетероциклоалкилом, в котором кольцевая система является неароматической, любой из которых может быть конденсирован с карбоциклическим арилом или гетероарильным фрагментом и включает фенил- (то есть бензо) конденсированный гетероциклоалкильный и гетероарильный фрагменты, при условии, что, когда гетероарильный фрагмент конденсирован с гетероциклоалкильным или карбоциклическим фрагментом (то есть когда гетероциклическая часть конденсированной кольцевой системы является одновалентной), образовавшаяся в результате конденсированная кольцевая система классифицируется как гетероарил, и, когда гетероциклоалкильный фрагмент конденсирован с карбоциклическим фрагментом (то есть когда карбоциклическая часть конденсированной кольцевой системы является одновалентной), образовавшаяся конденсированная кольцевая система классифицируется как гетероциклоалкил.

Обычно гетероциклоалкил представляет собой циклоалкильные группы, фрагмент или заместитель, где 1, 2 или 3 атома углерода циклоалкильной цепи заменены на гетероатом, выбранный из группы, состоящей из азота, кислорода и серы, и представляют собой C_3 - C_{10} -гетероциклоалкил, более типично, C_5 - C_{10} -гетероциклоалкил, в котором нижний индекс указывает общее количество атомов скелета (включая атомы углерода и гетероатомы) в кольцевой системе гетероциклоалкила. Неограничивающие гетероциклоалкилы могут содержать 0-2 атома N, 0-2 атома O или 0-1 атома S или некоторую их комбинацию, при условии, что по меньшей мере один из указанных гетероатомов присутствует в циклической кольцевой системе и может быть замещен одним или двумя оксо (=O) фрагментами, как в пирролидин-2-оне. Более типично, гетероциклоалкилы включают пирролидинил, пиперидинил, морфолинил и пиперазинил.

Гетероарилы обычно содержат от одного до четырех гетероатомов в кольце (кольцах) гетероарильной кольцевой системы, при условии, что не все атомы скелета любой одной кольцевой системы в гетероариле являются гетероатомами, необязательно замещенными там, где это разрешено, и имеют 0-3 атома N, 1-3 атома N или 0-3 атома N с 0-1 атомом O или 0-1 атомом S, при условии, что присутствует по меньшей мере один гетероатом. Гетероарил может быть моноциклическим, бициклическим или полициклическим. Моноциклические гетероарилы включают C_5 - C_{24} -гетероарилы, обычно C_5 - C_{12} или C_5 - C_6 -гетероарилы, в которых нижний индекс указывает общее количество атомов скелета (включая его атомы углерода и гетероатомы) ароматической кольцевой системы гетероарила. Более типичным гетероарилом является арильный фрагмент, где один 1, 2 или 3 атомов углерода ароматического кольца(колец) исходного арильного фрагмента заменены гетероатомом, необязательно замещенным, где это разрешено, включая N, O и S, при условии, что не все атомы скелета какой-либо одной ароматической кольцевой системы в арильном фрагменте заменены гетероатомами и, как правило, заменены кислородом (-O-), серой (-S-), азотом (=N-) или -NR-, где R представляет собой -H, защитную группу или алкил, арил, или представляет собой азот, замещенный другим органическим фрагментом таким образом, который сохраняет циклическую сопряженную систему, где гетероатом азота, серы или кислорода участвует в сопряженной системе либо посредством пи-связи с соседним атомом в кольцевой системе, либо через неподеленную пару электронов на гетероатоме.

В других аспектах гетероарил является моноциклическим и обычно представляет собой гетероарил с 5-членной или 6-членной гетероароматической кольцевой системой. 5-членный гетероарил представляет собой моноциклический C_5 гетероарил, содержащий от 1 до 4 атомов углерода и необходимое количество гетероатомов в своей гетероароматической кольцевой системе. 6-членный гетероарил представляет собой моноциклический C_6 гетероарил, содержащий от 1 до 5 атомов углерода и необходимое количество гетероатомов в своей гетероароматической кольцевой системе. Гетероарилы, которые являются 5-членными, имеют четыре, три, два или один ароматический гетероатом(гетероатомов), и гетероарилы, которые являются 6-членными, включают гетероарилы, имеющие четыре, три, два или один ароматический гетероатом(гетероатомов). C_5 гетероарилы представляют собой одновалентные фрагменты, образованные в результате удаления атома водорода у ароматического углерода или электрона у ароматического гетероатома, где это возможно, в исходном гетероциклическом соединении, включая пиррол, фуран, тиофен, оксазол, изоксазол, тиазол, изотиазол, имидазол, пиразол, триазол и тетразол. Примеры C_6 гетероарилов, которые являются 6-членными, представляют собой одновалентные фрагменты, образованные в результате удаления атома водорода у ароматического углерода или электрона у ароматического гетероатома, где это разрешено, в следующих исходных гетероциклических соединениях: пиридин, пиридазин, пиримидин и триазин.

"5-членный азотсодержащий гетероарил", "5-членный азотный гетероарил" и подобные термины относятся к 5-членному гетероароматическому фрагменту, содержащему по меньшей мере один атом азота в своей ароматической кольцевой системе, и представляют собой моноциклический гетероарил или являются конденсированными с арилом или другой гетероарильной кольцевой системой и могут содержать один или несколько других независимо выбранных гетероатомов, таких как N, O или S. Примеры 5-членных азотных гетероарилов включают тиазол, имидазол, оксазол и триазол, и обычно представляют собой тиазол или оксазол, более типично, тиазол.

"Гетероарилалкил", как используется в настоящем документе, означает заместитель, фрагмент или группу, где гетероарильная группа связана с алкильной группой, то есть -алкилгетероарил, где алкильные и гетероарильные группы являются такими, как описано выше. Когда арилалкил используется в ка-

честве группы Маркуша (то есть заместителя), алкильный фрагмент арилалкила присоединяется к формуле Маркуша, с которой он связан через sp^3 углерод алкильной группы.

"Алкилгетероарил", как используется в настоящем документе, означает заместитель, фрагмент или группу, где гетероарильная группа связана с алкильной группой, то есть гетероарилалкил, где гетероарильные и алкильные группы являются такими, как описано выше. Когда гетероарилалкил используется в качестве группы Маркуша (то есть заместителя), гетероарильный фрагмент гетероарилалкила присоединяется к формуле Маркуша, с которой он связан через sp^2 углерод или гетероатом алкильного фрагмента.

"О-связанный фрагмент", "О-связанный заместитель" и подобные термины, как используется в настоящем документе, относятся к группе или заместителю, который присоединен к фрагменту непосредственно через атом кислорода группы или заместителя. О-связанная группа может быть одновалентной, включая группы, такие как -ОН, ацетокси (то есть $-OC(=O)CH_3$), ацилокси (то есть $-OC(=O)R^a$, где R^a представляет собой -Н, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный алкенил, необязательно замещенный алкинил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный гетероарил или необязательно замещенный гетероцикл) и, кроме того, включает одновалентные группы, такие как алкилокси, необязательно замещенные, где алкильный фрагмент является насыщенным или ненасыщенным, и другие простые эфиры, включая арилокси (арил-О-), фенокси (Ph-О-), гетероарилокси (гетероарил-О-), необязательно замещенные, и силилокси, (то есть R_3SiO- , где каждый R независимо представляет собой алкил или арил, необязательно замещенный), и $-OR^{PR}$, где R^{PR} представляет собой защитную группу, определенную выше, или О-связанная группа может быть двухвалентной, то есть $=O$ или $-X-(CH_2)_n-Y-$, где X и Y независимо представляют собой S и O, и n обозначает от 2 до 3, для образования спиро кольцевой системы с углеродом, к которому присоединены X и Y. Обычно О-связанный заместитель представляет собой одновалентный фрагмент, выбранный из группы, состоящей из -ОН, $-OC(=O)CH_3$, $-OC(=O)R^a$, C_1-C_6 насыщенного алкилового эфира и C_3-C_6 ненасыщенного эфира, где R^a представляет собой C_1-C_6 насыщенный алкил или C_3-C_6 ненасыщенный алкил или C_2-C_6 -алкенил, или выбран из этой группы, за исключением -ОН. Другие типичные О-связанные заместители представлены в определениях для карбамата, эфира и карбоната, описанных в настоящем документе.

Термин "галоген", используемый в данном описании, означает фтор, хлор, бром или йод и обычно представляет собой -F или -Cl.

Термин "защитная группа", как используется в настоящем документе, означает фрагмент, который предотвращает или уменьшает способность атома или функциональной группы, с которой он связан, участвовать в нежелательных реакциях. Типичные защитные группы для атомов или функциональных групп приведены в обзоре Greene (1999), "Protective groups in organic synthesis, 3rd ed.", Wiley Interscience. Защитные группы для гетероатомов, такие как кислород, сера и азот, иногда используются для минимизации или предотвращения нежелательных реакций с электрофильными соединениями. В других случаях защитная группа используется для уменьшения или устранения нуклеофильности и/или основности незащищенного гетероатома. Неограничивающие примеры защищенного кислорода приведены в виде $-OR^{PR}$, где R^{PR} представляет собой защитную группу для гидроксила, где гидроксил обычно защищен в виде эфира (например, ацетата, пропионата или бензоата). Другие защитные группы для гидроксила не влияют на нуклеофильность металлоорганических реагентов или других высокоосновных реагентов, где гидроксил обычно защищен в виде простого эфира, включая алкиловые или гетероциклоалкиловые простые эфиры (например, метиловые или тетрагидропириновые простые эфиры), алкоксиметиловые простые эфиры (например, метоксиметиловые или этоксиметиловые эфиры), необязательно замещенные ариловые эфиры и силиловые эфиры (например, триметилсиллил (TMS), триэтилсиллил (TES), трет-бутилдифенилсиллиловый (TBDPS), трет-бутилдиметилсиллиловый (TBS/TBDMS), триизопропилсиллиловый (TIPS) и [2-(триметилсиллил)этокси]метилсиллиловый (SEM)). Защитные группы для азота включают группы для первичных или вторичных аминов, такие как в $-NHR^{PR}$ или $-N(R^{PR})_2-$, где по меньшей мере один из R^{PR} представляет собой защитную группу для атома азота, или оба R^{PR} вместе образуют защитную группу.

Защитная группа представляет собой подходящую защиту, когда она способна предотвращать или избегать нежелательных побочных реакций или преждевременную потерю защитной группы в условиях реакции, необходимой для осуществления желаемого химического превращения в другом месте молекулы, и в процессе очистки вновь образованной молекулы, когда это желательно, и может быть удалена в условиях, которые не оказывают отрицательного влияния на структуру или стереохимическую целостность этой вновь образованной молекулы. В качестве примера, а не ограничения, подходящая защитная группа может включать группы, ранее описанные для защиты функциональных групп. В некоторых аспектах подходящая защитная группа обычно представляет собой защитную группу, используемую в реакциях конденсации пептидов. Например, подходящей защитной группой для азота является кислотночувствительная карбаматная защитная группа, такая как BOC.

Термин "сложный эфир", как используется в настоящем документе, означает заместитель, фрагмент или группу, которые содержат структуру $-C(=O)-O-$ (то есть сложноэфирную функциональную группу), в

которой атом углерода в структуре не связан напрямую с другим гетероатомом и непосредственно связан с -H или другим атомом углерода органического фрагмента, а моновалентный атом кислорода присоединен к тому же органическому фрагменту с образованием лактона или другого органического фрагмента. Обычно сложные эфиры включают или состоят из органических фрагментов, содержащих 1-50 атомов углерода, обычно 1-20 атомов углерода или, более типично, 1-8 атомов углерода и из 0-10 независимо выбранных гетероатомов (например, O, S, N, P, Si, но обычно O, S и N), обычно 0-2, где органические фрагменты связаны через структуру -C(O)-O- (то есть через сложноэфирную функциональную группу). Когда сложный эфир является заместителем или вариабельной группой структуры Маркуша, этот заместитель связан со структурой через атом одновалентного кислорода сложноэфирной функциональной группы. В этих случаях органический фрагмент, присоединенный к карбонильному углероду сложноэфирной функциональной группы, включает любую из органических групп, описанных в настоящем документе, например, C₁-C₂₀-алкильные фрагменты, C₂-C₂₀-алкенильные фрагменты, C₂-C₂₀-алкинильные фрагменты, C₆-C₂₄-арильные фрагменты, C₅-C₂₄-гетероциклы или замещенные производные любого из них, например, содержащие 1, 2, 3, 4 или более заместителей, где каждый заместитель является независимо выбранным. Типичные сложные эфиры включают в качестве примера, но не ограничения, ацетат, пропионат, изопропионат, изобутират, бутират, валерат, изовалерат, капроат, изокапроат, гексаноат, гептаноат, октаноат, фенилацетатные эфиры или бензоатные эфиры, или имеют структуру -OC(=O)R^a, где R^a такой, как определено для ацилокси O-связанного заместителя, и обычно являются выбранными из группы, состоящей из метила, этила, пропила, изопропила, 3-метилпроп-1-ила, 3,3-диметилпроп-1-ила и вирила. Сложноэфирные заместители, описанные в настоящем документе, являются примерами одновалентных O-связанных заместителей.

Термин "эфир", как используется в настоящем документе, означает органический фрагмент, группу или заместитель, которые содержат 1, 2, 3, 4 или более -O- (то есть окси) фрагментов, которые не связаны с карбонильным фрагментом(фрагментами), обычно 1 или 2, где никакие два фрагмента -O- не являются непосредственно смежными (то есть непосредственно связанными) друг с другом. Обычно структура простого эфира образована или состоит из формулы -O-органический фрагмент, где органический фрагмент является таким, как описано для органического фрагмента, связанного со сложноэфирной функциональной группой. Более типично, эфирный фрагмент, группа или заместитель имеют формулу -O-органический фрагмент, где органический фрагмент является таким, как описано в настоящем документе для необязательно замещенной алкильной группы. Когда в качестве группы Маркуша используется простой эфир (то есть эфирный заместитель), кислород простой эфирной функциональной группы присоединяется к формуле Маркуша, с которой он связан. Когда простой эфир используется в качестве заместителя в группе Маркуша, ее иногда обозначают как "алкокси" группу, которая является примером O-связанного заместителя. Алкокси включает C₁-C₄-эфирные заместители, такие как, в качестве примера, но не ограничения, метокси, этокси, пропокси, изопропокси, бутокси и аллилокси.

Термин "амид" или "карбоксамид", как используется в настоящем документе, означает группу, которая содержит структуру R-C(=O)N(R)- или -C(=O)N(R)₂ (то есть амидную или карбоксамидную функциональную группу, соответственно) без какого-либо другого гетероатома, непосредственно связанного с карбонильным углеродом структуры, и где R, независимо выбранный, представляет собой водород, защитную группу или органический фрагмент, как описано в настоящем документе для органического фрагмента, связанного со сложноэфирной функциональной группой, и обычно является необязательно замещенной алкильной группой. Обычно водород или органический фрагмент, независимо выбранный из R, связан с карбоксамидной или амидной функциональной группой, причем этот органический фрагмент также является таким, как описано в настоящем документе для органического фрагмента, связанного со сложноэфирной функциональной группой. При связывании с органическим фрагментом образованная структура представлена R-C(=O)N(R)-органическим фрагментом или органическим фрагментом -C(=O)N(R)₂. Когда амид указан в качестве переменной для структуры Маркуша, амидный азот связан с этой структурой. Для карбоксамидных заместителей карбонильный углерод амидной функциональной группы связан со структурой Маркуша. Амиды и карбоксамиды обычно получают конденсацией галогенангидрида кислоты, такого как хлорангидрид, с соединением, содержащим первичный или вторичный амин. Альтернативно используются реакции амидной конденсации, хорошо известные в области синтеза пептидов, которые часто протекают через активированный сложный эфир соединения, содержащего карбоновую кислоту. Примеры образования амидных связей с помощью способов пептидной конденсации представлены в Benoiton (2006) Chemistry of peptide synthesis CRC Press, Bodansky "Peptide synthesis: A practical textbook" (1988) Springer-Verlag; Frinkin, M. et al. "Peptide Synthesis" Ann. Rev. Biochem. (1974) 43: 419-443. Реагенты, используемые при получении активированных карбоновых кислот, представлены в Han, et al. "Recent development of peptide coupling agents in organic synthesis" Tet. (2004) 60: 2447-2476.

Термин "карбонат", как используется в настоящем документе, означает заместитель, фрагмент или группу, которые содержат структуру -O-C(=O)-O- (то есть карбонатную функциональную группу). Обычно карбонатные группы, как используется в настоящем документе, образованы или состоят из органического фрагмента, где органический фрагмент является таким, как описано в настоящем документе для органического фрагмента, связанного со сложноэфирной функциональной группой, связанной через

структуру $-O-C(=O)-O-$, например, органический фрагмент $-O-C(=O)-O-$. Когда карбонат используется в качестве группы Маркуша (то есть заместителя), один из связанных простой связью атомов кислорода карбонатной функциональной группы присоединяется к формуле Маркуша, с которой он связан, а другой связан с атомом углерода органического фрагмента, как описано ранее для органического фрагмента, связанного со сложноэфирной функциональной группой. В таких случаях карбонат является примером O-связанного заместителя.

Термин "карбамат" или "уретан", как используется в настоящем документе, означает заместитель, фрагмент или группу, которые содержат карбаматную функциональную группу, представленную $-O-C(=O)N(R^a)-$ или $-O-C(=O)N(R^a)_2$, и включают $OC(=O)NH$ (необязательно замещенный алкил) или $OC(=O)N$ (необязательно замещенный алкил)₂, которые являются типичными карбаматными заместителями, где R^a и необязательно замещенный алкил являются независимо выбранными, где R^a , независимо выбранный, представляет собой водород, защитную группу или органический фрагмент, где органический фрагмент является таким, как описано в настоящем документе для органического фрагмента, связанного со сложноэфирной функциональной группой, и обычно представляет собой необязательно замещенный алкил. Обычно карбаматные группы, используемые в настоящем документе, образованы или состоят из органического фрагмента, независимо выбранного из R^a , где органический фрагмент является таким, как описано в настоящем документе для органического фрагмента, связанного со сложноэфирной функциональной группой, связанной через структуру $-O-C(=O)-N(R^a)-$, в которой образованная группа имеет формулу органического фрагмента $-O-C(=O)-N(R^a)-$ или органического фрагмента $-O-C(=O)-N(R^a)-$. Когда карбамат используется в качестве группы Маркуша (то есть заместителя), связанный простыми связями кислород (O-связанный) или азот (N-связанный) функциональной группы карбамата присоединяется к формуле Маркуша, с которой он связан. Связь карбаматного заместителя указана либо явно (N- или O-связанная), либо неявно в контексте, к которому относится этот заместитель. O-связанные карбаматы, описанные в настоящем документе, являются примерами одновалентных O-связанных заместителей.

Термин "антитело", как используется в настоящем документе, используется в самом широком смысле и конкретно охватывает интактные моноклональные антитела, поликлональные антитела, моноспецифические антитела, полиспецифические антитела (например, биспецифические антитела) и фрагменты антител, которые проявляют желаемую биологическую активность, при условии, что фрагмент антитела имеет необходимое количество участков прикрепления для лекарственного линкера. Нативная форма антитела представляет собой тетрамер и состоит из двух идентичных пар цепей иммуноглобулина, каждая из которых имеет одну легкую цепь и одну тяжелую цепь. В каждой паре переменные области легкой и тяжелой цепи (VL и VH) вместе в первую очередь ответственны за связывание с антигеном. Переменные домены легкой цепи и тяжелой цепи состоят из каркасной области, прерываемой тремя гиперпеременными областями, также называемыми "областями, определяющими комплементарность" или "CDR". Константные области могут распознаваться иммунной системой и взаимодействовать с ней (см., например, Janeway et al., 2001, Immunol. Biology, 5th Ed., Garland Publishing, New York). Антитело может быть любого вида (например, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA), класса (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подкласса. Антитело может быть получено из любого подходящего вида. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет человеческое или мышьеное происхождение. Антитело может быть, например, человеческим, гуманизированным или химерным. Антитело или его фрагмент антитела представляет собой типичный нацеливающий агент, который соответствует или включен в LDC по настоящему изобретению в виде лигандного звена из антитела.

В некоторых аспектах антитело селективно и специфически связывается с эпитопом на гиперпролиферирующих клетках или гиперстимулированных клетках млекопитающих (то есть патологических клетках), где эпитоп преимущественно представлен или более характерен для патологических клеток в отличие от нормальных клеток, или предпочтительно отображается или является более характерным для нормальных клеток вблизи патологических клеток в отличие от нормальных клеток, не локализованных в патологических клетках. В этих аспектах клетки млекопитающих обычно являются клетками человека. Другие аспекты антител, включенных в лигандные единицы, описаны в вариантах осуществления для конъюгатов лекарственных соединений с лигандом.

Термин "моноклональное антитело", как используется в настоящем документе, относится к антителу, полученному из популяции в значительной степени одородных антител, то есть отдельные антитела в составе популяции являются идентичными, за исключением мутаций, происходящих по естественным причинам, которые могут присутствовать в небольших количествах. Моноклональные антитела являются высокоспецифичными, поскольку они направлены против одной области детерминанты. Определение "моноклональное" указывает на то, что антитело получено из практически однородной популяции антител; и не должно быть истолковано как требующее продукции антитела конкретным способом.

"Цитотоксическая активность", как используется в настоящем документе, относится к цитотоксическому эффекту лекарственного соединения, конъюгату лекарственного соединения с лигандом или внутриклеточному метаболиту конъюгата лекарственного соединения с лигандом. Цитотоксическая активность может быть выражена в виде значения IC_{50} , которое представляет собой концентрацию (молярную или массовую) на единицу объема, при которой выживает половина клеток.

Выражение "цитостатическая активность", как используется в настоящем документе, относится к антипролиферативному действию лекарственного соединения, конъюгата лекарственного соединения с лигандом или внутриклеточного метаболита конъюгата лекарственного соединения с лигандом, которое не зависит от гибели клеток, но действие которого обусловлено ингибированием клеточного деления гиперпролиферирующих клеток, гиперстимулированных иммунных клеток или других патологических или нежелательных клеток.

Термины "специфическое связывание" и "специфически связываются" означают, что антитело или лигандное звено из антитела в LDC в качестве нацеливающего фрагмента способно связываться селективным или высокоселективным образом с соответствующим антигеном-мишенью, а не множеством других антигенов. Обычно антитело или производное антитела связывается со сродством, по меньшей мере, приблизительно 1×10^{-7} M, и, предпочтительно, от 10^{-8} от M до 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M или 10^{-12} , и связывается с заранее определенным антигеном со сродством, которое по меньшей мере в два раза превышает его сродство к связыванию с неспецифическим антигеном (например, BSA, казеином), отличным от близкородственного антигена.

Термин "конъюгат лекарственного соединения с лигандом" или "LDC", как используется в настоящем документе, относится к конструкции, состоящей из лигандного звена из нацеливающего агента и звена лекарственного соединения, содержащего кватернизированный третичный амин (D^+), соответствующего по структуре лекарственному соединению, содержащему третичный амин, которые связаны друг с другом через линкерное звено, где LDC селективно связывается с целевым фрагментом посредством своего нацеливающего лигандного звена. В некоторых случаях термин LDC представляет собой несколько (то есть состав) отдельных соединений LDC, отличающихся в основном количеством D^+ звеньев, связанных с каждым лигандным звеном, и/или расположением на лигандном звене, с которым связаны звенья D^+ . В других случаях термин LDC применяется к отдельному члену или соединению композиции.

Термин "нацеливающий агент" в качестве термина, используемого в настоящем документе, представляет собой группу, соответствующую или включенную в качестве лигандного звена в конъюгат лекарственного соединения с лигандом, так что лигандное звено представляет собой нацеливающий фрагмент конъюгата, который способен селективно связываться с обычно имеющимся целевым фрагментом на, внутри или вблизи гиперпролиферирующих клеток, гиперстимулированных иммунных клеток или других патологических или нежелательных клеток по сравнению с другими фрагментами, присутствующими на, внутри или вблизи нормальных клеток, где эти патологические или нежелательные клетки обычно не присутствуют. Иногда целевой фрагмент присутствует на, внутри или вблизи патологических в большем количестве по сравнению с нормальными клетками или средой нормальных клеток, где патологические клетки обычно не присутствуют. В некоторых случаях нацеливающий агент представляет собой антитело, которое специфически связывается с доступным антигеном, характерным для патологической клетки, или представляет собой доступный антиген, который специфичен для окружающей среды, в которой находятся эти клетки. В других случаях нацеливающий агент представляет собой лиганд, который специфически связывается с доступным рецептором, характерным для патологических клеток или других нежелательных клеток, или в большем количестве присутствует на нем, или является доступным рецептором, специфичным для клеток окружающей среды, в которых обнаружены патологические клетки. Обычно нацеливающий агент представляет собой антитело, определенное в настоящем документе, которое селективно связывается с целевым фрагментом патологической или нежелательной клетки млекопитающего, более типично, с целевым фрагментом патологической или нежелательной клетки человека.

Термины "клетки-мишени" или "целевые клетки" в качестве термина, используемого в настоящем документе, представляют собой предполагаемые клетки (то есть патологические или другие нежелательные клетки), которые предназначены для взаимодействия с LDC, чтобы ингибировать пролиферацию или другую нежелательную активность предполагаемых клеток. В некоторых случаях целевые клетки представляют собой гиперпролиферирующие клетки или гиперактивированные иммунные клетки, которые являются примерами патологических клеток. Обычно эти патологические клетки являются клетками млекопитающих и, более типично, являются клетками человека. В других случаях клетки-мишени находятся в непосредственной близости от патологических или нежелательных клеток, так что воздействие LDC на соседние клетки оказывает ожидаемое влияние на патологические или нежелательные клетки. Например, соседние клетки могут быть эпителиальными клетками, которые характерны для патологической сосудистой системы опухоли. Таргетирование этих сосудистых клеток с помощью LDC будет оказывать цитотоксическое или цитостатическое действие на эти клетки путем ингибирования доставки питательных веществ к патологическим клеткам опухоли, либо косвенно оказывать цитотоксическое или цитостатическое действие на патологические клетки и/или оказывать прямое цитотоксическое или цитостатическое действие на патологические клетки путем высвобождения D^+ в виде тубулизинового лекарственного соединения (D) в непосредственной близости от этих клеток.

"Целевой фрагмент" в качестве термина, используемого в настоящем документе, представляет собой фрагмент, преимущественно распознаваемый нацеливающим агентом или лигандным звеном конъюгата лекарственного соединения с лигандом, соответствующий или включающий этот нацеливающий

агент (то есть селективно связанный лигандным звеном) и присутствующий на, внутри или вблизи целевых клеток. Иногда целевой фрагмент представляет собой антиген, доступный для селективного связывания антителом, которое представляет собой типичный нацеливающий агент, который соответствует или включен в LDC в качестве лигандного звена антитела. В этих случаях такой антиген представляет собой белок клеточной поверхности, присутствующий на патологических клетках или других нежелательных клетках, или присутствует на клетках, которые являются специфическими для окружающей среды, в которой обнаружены патологические или нежелательные клетки, такие как сосудистые клетки, которые характерны для среды гиперпролиферирующих клеток в опухоли. Более типично, антиген представляет собой белок клеточной поверхности патологической клетки или другой нежелательной клетки, который способен к интернализации при связывании с его родственным нацеливающим агентом или фрагментом. В других случаях нацеливающий агент представляет собой лиганд для внеклеточно доступного рецептора клеточной мембраны, который может быть интернализирован при связывании нацеливающего фрагмента или способен к пассивному или облегченному транспорту LDC, нацеливая на рецептор клеточной поверхности, так что рецептор представляет собой целевой фрагмент. В некоторых аспектах целевой фрагмент присутствует на патологических клетках млекопитающих или на клетках млекопитающих, характерных для окружающей среды таких патологических клеток.

"Конъюгат антитело-лекарственное соединение" или "ADC" в качестве термина, используемого в настоящем документе, относится к конъюгату лекарственного соединения с лигандом, где нацеливающий агент, соответствующий или включенный в его лигандное звено, представляет собой антитело, таким образом определяя лигандное звено из антитела, где лигандное звено из антитела ковалентно присоединено к звену кватернизованного лекарственного соединения (D^+), обычно через промежуточное линкерное звено. Часто этот термин относится к совокупности (то есть популяции или множеству) соединений конъюгата, содержащих одинаковые лигандные звенья из антитела, кватернизованные лекарственные звенья и линкерные звенья, но имеющих переменную нагрузку и/или распределение фрагментов линкер-лекарственное соединение для каждого антитела (как, например, когда количество кватернизованных звеньев лекарственного соединения (D^+) любых двух соединений ADC во многих таких соединениях является одинаковым, но расположение их сайтов присоединения к нацеливающему фрагменту различается). В таких случаях ADC описывается усредненной нагрузкой лекарственного соединения соединений конъюгатов. ADC, полученный описанными в настоящем документе способами, имеет общую структуру $Ab-L_B-L_O-D^+$, где $-L_B-L_O-$ определяет линкерное звено, в котором L_B представляет собой ковалентно связывающий фрагмент лиганда или ковалентно связывающее звено лиганда, иногда называемый главным линкером (L_R), названный так потому, что этот фрагмент или звено должны присутствовать в линкерной единице ADC, и L_O является вторичным линкером, чувствительным к ферментативному (например, протеазному или гликозидазному) или неферментативному (например, редуктивному или гидролитическому) расщеплению. В некоторых случаях такое расщепление усиливается в среде патологических клеток или происходит после внутриклеточной интернализации ADC после связывания лигандного звена нацеливающего антитела ADC с его родственным антигеном; D^+ представляет собой звено кватернизованного лекарственного соединения и, как правило, образуется при кватернизации лекарственного соединения, содержащего третичный амин (D), или соответствует кватернизованному из D, где D^+ высвобождается в качестве лекарственного соединения, содержащего третичный амин, в результате этого ферментативного или неферментативного воздействия на L_O .

Среднее количество звеньев кватернизованного лекарственного соединения на лигандное звено из антитела или его фрагмента в композиции ADC (то есть усредненное число для популяции ADC конъюгатных соединений, которые отличаются главным образом количеством конъюгированных звеньев кватернизованного лекарственного соединения на лигандном звене из антитела в каждом из ADC соединений ADC, которые присутствуют в этой популяции, и/или по их расположению), когда линкерные звенья не разветвлены, обозначается как p , или, когда линкеры разветвлены, p представляет собой среднее число фрагментов лекарственного соединения с линкером, присоединенных к лигандному звену из антитела. В любом контексте p представляет собой число в диапазоне от около 2 до около 24, или от около 2 до около 20, и обычно составляет около 2, около 4 или около 8. В других контекстах p представляет число звеньев кватернизованного лекарственного соединения, когда линкерные звенья не разветвлены, или число линкерных фрагментов кватернизованного лекарственного соединения, когда линкерные звенья разветвлены, которые ковалентно связаны с единичным лигандным звеном из антитела в ADC в популяции соединений конъюгатов антитело-лекарственное соединение, в которых соединения этой популяции могут, прежде всего, различаться по числу и/или расположению конъюгированных звеньев кватернизованного лекарственного соединения или линкерных фрагментов кватернизованного лекарственного соединения в каждом из соединений ADC. В этом контексте p обозначается как p' и обозначает целое число в диапазоне от 1 до 24 или от 1 до 20, обычно от 1 до 12 или от 1 до 10, и, более типично, от 1 до 8.

Среднее число звеньев кватернизованных лекарственных средств на лигандное звено при получении реакцией конъюгации можно охарактеризовать обычными средствами, например, масс-спектроскопией, анализом ELISA, HIC и/или ВЭЖХ. Также может быть определено количественное распределение соединений конъюгатов в пересчете на p' . В некоторых случаях отделение, очистка и харак-

теристика однородных соединений конъюгатов лекарственных соединений с лигандом, в которых r' является определенной величиной в композиции конъюгата лекарственного соединения с лигандом, от тех, которые имеют другие лекарственные нагрузки, могут быть достигнуты такими способами, как образцово-фазовая ВЭЖХ или электрофорез.

"Антиген" представляет собой объект, который способен селективно связываться с неконъюгированным антителом или его фрагментом или с ADC, содержащим лигандное звено из антитела, соответствующее или включающее это антитело или его фрагмент. В некоторых аспектах антиген представляет собой внеклеточно доступный белок клеточной поверхности, гликопротеин или углевод, которые преимущественно выводятся патологическими или другими нежелательными клетками по сравнению с нормальными клетками. В некоторых случаях нежелательные клетки, имеющие антиген, являются гиперпролиферирующими клетками млекопитающего. В других случаях нежелательные клетки, имеющие антиген, являются гиперактивированными иммунными клетками млекопитающего. В других аспектах специфически связанный антиген присутствует в конкретной окружающей среде гиперпролиферирующей клеткой или гиперактивированными иммунными клетками млекопитающего, отличающейся от окружающей среды, которая обычно воздействует на нормальные клетки в отсутствие таких патологических клеток. В других аспектах антиген клеточной поверхности способен к интернализации при селективном связывании соединения ADC и связан с клетками, которые являются специфическими для окружающей среды, в которой гиперпролиферирующие или гиперстимулированные иммунные клетки обнаруживаются в отсутствие таких патологических клеток. Антиген является типичным целевым фрагментом LDC, где его нацеливающее лигандное звено представляет собой или включает антитело к целевому антигену и способно преимущественно распознавать этот антиген посредством селективного связывания.

Антигены, ассоциированные с гиперпролиферирующими клетками, доступными для ADC на клеточной поверхности, включают в качестве примера, но не ограничения, CD19, CD70, CD30, CD33, NTB-A, $\alpha\upsilon\beta 6$ и CD123.

"Лигандное звено" представляет собой фрагмент, включающий конъюгат лекарственного соединения с лигандом, который способен селективно связываться с его родственным целевым фрагментом, и его иногда называют нацеливающим фрагментом LDC. Лигандное звено включает, без ограничения, нацеливающие агенты, такие как рецепторные лиганды, антитела к антигенам клеточной поверхности и транспортные субстраты. Иногда рецептор, антиген или транспортер, который должен связываться с LDC, присутствует в большем количестве на патологических клетках в отличие от нормальных клеток. В других случаях рецептор, антиген или транспортер, который должен связываться с LDC, присутствует в большем количестве в нормальных клетках, которые свойственны окружающей среде патологических клеток в отличие от нормальных клеток периферии. Различные аспекты лигандных звеньев дополнительно описаны вариантами осуществления изобретения.

"Ковалентно связывающий лигандный фрагмент" или "ковалентно связывающий лиганд" представляет собой фрагмент или компонент линкерного звена (LU) в LDC, который ковалентно присоединен к лигандному звену, которое нацелено на патологические или нежелательные клетки или их окружающую среду, а также к остатку линкерного звена и образуется в результате соответствующего фрагмента L_B' или компонента в предшественнике линкерного звена с нацеливающим агентом. Например, когда L_B' состоит из малеимидного фрагмента, взаимодействие этого фрагмента с реакционноспособной сульфгидрильной группой нацеливающего агента превращает L_B' в L_B , который состоит из тиозамещенного сукцинимидного фрагмента, связанного с лигандным звеном, что представляет собой или включает нацеливающий агент. В другом примере, когда L_B' состоит из активированной функциональной группы карбоновой кислоты, взаимодействие этой функциональной группы с эpsilon-аминогруппой лизина в нацеливающем агенте превращает функциональную группу в амид, где этот амид включает фрагмент L_B , ковалентно присоединенный к лигандному звену, который представляет собой или включает этот нацеливающий агент. Другие фрагменты или звенья L_B и их превращение из L_B' -содержащих фрагментов или звеньев описаны в вариантах осуществления изобретения. В некоторых случаях нацеливающий агент дериватизируется с помощью бифункциональной молекулы для получения промежуточного соединения, которое конденсировано с фрагментом или звеном предшественника ковалентно связывающего лиганда (L_B'). В результате этой конденсации образованный таким образом фрагмент или звено L_B содержат атомы, относящиеся к бифункциональной молекуле и L_B' .

"Предшественник ковалентно связывающего лигандного фрагмента" или "предшественник ковалентно связывающего лигандного звена" представляет собой фрагмент или компонент линкерного звена или его подструктуру, используемые при получении линкерного звена, которое способно ковалентно связываться с нацеливающим агентом в процессе получения LDC, после чего лиганд-связывающий (L_B') фрагмент или предшественник звена превращается в ковалентно связывающий лигандный (L_B) фрагмент или звено, ковалентно присоединенные к лигандному звену, соответствующему или включающему нацеливающий агент. В некоторых аспектах фрагмент L_B' обычно имеет функциональную группу, способную взаимодействовать с нуклеофилом или электрофилом, нативным для антитела или его фрагмента, или вводиться в антитело посредством химической трансформации или генной инженерии. В некотором аспекте нуклеофил представляет собой N-концевую аминокислотную группу содержащего пептид антитела или эпси-

лон-аминогруппу лизинового остатка антитела. В других аспектах нуклеофил представляет собой сульфгидрильную группу цистеинового остатка антитела, введенного с помощью генной инженерии или химическим восстановлением межцепочечного дисульфида антитела. В некоторых аспектах электрофил представляет собой альдегид, введенный путем селективного окисления карбогидратного фрагмента антитела, или представляет собой кетон неприродной аминокислоты, введенный в антитело с использованием генно-инженерной пары тРНК/тРНК-синтетазы. Эти и другие методы рассмотрены Behrens и Liu в работе "Methods for site-specific drug conjugation to antibodies" mAB (2014) 6(1): 46-53.

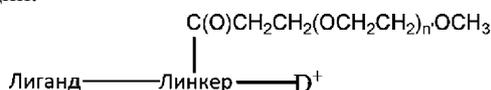
"Линкерное звено" в том смысле, в котором этот термин используется в настоящем документе, относится к органическому фрагменту в конъюгате лекарственного соединения с лигандом (LDC), который встроен и ковалентно присоединен между звеном кватернизованного лекарственного соединения (D^+) и лигандным звеном, или к органическому фрагменту соединения лекарственного соединения с линкером, встроенным и ковалентно присоединенным между звеном кватернизованного лекарственного соединения (D^+) и фрагментом или звеном предшественника ковалентно связывающего лиганда (L_B'). Обычно линкерное звено (LU) LDC или соединения лекарственного соединения с линкером состоит из фрагмента или звена ковалентно связывающего лиганда (L_B) или фрагмента или звена предшественника ковалентно связывающего лиганда (L_B'), соответственно, и вторичного линкера (L_O), описанного в настоящем документе. В некоторых аспектах предшественник или звено ковалентно связывающего лиганда содержит малеимидную (M^1) группу. Присоединение нацеливающего агента через M^1 , приводящее к ковалентному присоединению соответствующего лигандного звена к линкерному звену, происходит через сульфгидрильную группу цистеина нацеливающего агента путем присоединения по Михаэлю атома серы сульфгидрильной группы к малеимидной кольцевой системе M^1 . В результате этого присоединения получают сукцинимидный (M^2) фрагмент, имеющий замещенную серой сукцинимидную кольцевую систему. Последующий гидролиз этой кольцевой системы, либо самопроизвольно, либо в контролируемых условиях, например, когда эта система является частью фрагмента самостабилизирующегося линкера (L_{SS}), приводит к образованию фрагмента янтарная кислота-амид (M^3), который является примером самостабилизированного фрагмента (L_S), описанного далее. Также ковалентно связанным с L_B или L_B' , которые являются главным линкером (фрагменты L_R), является фрагмент вторичного линкера (L_O), который дополнительно встроен между лигандным звеном и звеном кватернизованного лекарственного соединения (D^+) в LDC или между L_B' и D^+ в соединении лекарственного соединения с линкером, где ковалентное связывание с L_R происходит через промежуточную функциональную группу простого эфира, сложного эфира, карбоната, мочевины, дисульфида, амида или карбамата, более типично, через функциональную группу простого эфира, амида или карбамата.

"Параллельное соединительное звено", как используется в настоящем документе, относится к разветвленному компоненту линкерного звена, которое соединяет PEG звено в параллельной ориентации со звеном кватернизованного лекарственного соединения (D^+). Используемый в настоящем документе термин "параллельная ориентация", "параллельное расположение", "параллельное соединение" и подобные термины относятся к конфигурации, в которой расположенные параллельно, или параллельно ориентированные, или параллельно соединенные компоненты присоединены к параллельному соединительному звену (L_P) таким образом, что каждый компонент имеет один конец, привязанный к L_P , и один свободный конец. Обычно L_P соединяет звено кватернизованного лекарственного соединения (D^+) через один или несколько компонентов линкерного звена, таких как A_O -W-Y- или A_O -Y(W)-, где необязательно присутствует A_O , и PEG звено, так что кватернизованное лекарственное соединение и PEG звенья расположены параллельно, в результате чего гидрофобность звена кватернизованного лекарственного соединения эффективно маскируется PEG звеном. Только те PEG звенья, которые необходимы для маскировки гидрофобности для данного фрагмента LU- D^+ (то есть фрагмента кватернизованного лекарственного соединения с линкером), должны быть ориентированы параллельно звену кватернизованного лекарственного соединения, для чего необязательно требуется, чтобы все звенья кватернизованного лекарственного соединения и полиэтиленгликолевые (PEG) звенья, соединенные с L_P , должны быть расположены параллельно друг другу. Таким образом, одно PEG звено может эффективно маскировать гидрофобность или 1, 2, 3, 4 или более звеньев кватернизованного лекарственного соединения, обычно от 1 до 4 D^+ и, более типично, 1 или 2 D^+ .

Термин "параллельный" используется в настоящем документе для обозначения разветвления двух компонентов конъюгата лекарственного соединения с лигандом (LDC) или соединения лекарственного соединения с линкером из L_P , который содержит LDC или соединение лекарственного соединения с линкером, и не используется для обозначения того, что два компонента расположены бок о бок в пространстве или имеют одинаковое расстояние между ними на протяжении некоторой или всей их длины. LDC или соединение лекарственного соединения с линкером, имеющие PEG звено, которое находится в параллельной ориентации по отношению к звену кватернизованного лекарственного соединения или соединению лекарственного соединения с линкером, относится к LDC или соединению лекарственного соединения с линкером, содержащему PEG звено, один конец которого соединен с компонентом линкерного звена (то есть параллельного соединительного звена) и одного или нескольких свободных несвязанных концов (или концов). Свободный несвязанный конец PEG звена при присоединении к L_P может при-

нимать вид, например, непрореагировавшей функциональной группы, например алкокси, карбоновой кислоты, алкиленкарбоновой кислоты, спирта или другой функциональной группы. В тех случаях, когда параллельно ориентированный компонент PEG сам разветвлен и, следовательно, имеет несколько концов, он все еще имеет только один связанный конец с L_p . Параллельная ориентация PEG звена по отношению к D^+ также позволяет минимизировать количество атомов между лигандным звеном и звеном лекарственного соединения, поскольку атомы PEG звена не находятся между D^+ и лигандным звеном.

Примером графического представления LDC, имеющего PEG звено, которое находится в параллельной (то есть разветвленной) ориентации по отношению к звену кватернизованного лекарственного соединения, является следующий:



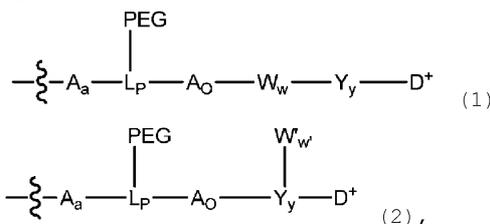
где нижний индекс n находится в диапазоне от 1 до 24.

Выражение "главный линкер", как оно используется, представляет собой ковалентно связывающие лигандный (L_B) фрагмент или звено, или предшественник ковалентно связывающих (L_B') лигандного фрагмента или звена и присутствует в качестве компонента линкерного звена в LDC или в качестве компонента L_B' -содержащего фрагмента, такого как $L_B'-L_O-$ или $L_B'-L_O-D^+$, в соединении лекарственного соединения с линкером. Главный линкер L_B' состоит из реакционноспособной функциональной группы, которая может взаимодействовать с электрофильной или нуклеофильной функциональной группой нацеливающего агента. В результате этого взаимодействия нацеливающий агент становится ковалентно связанным в виде лигандного звена с L_B главного линкера через функциональную группу, производную реакционноспособной функциональной группы L_B' .

Фрагмент "вторичного линкера", как используется в настоящем документе, относится к органическому фрагменту в линкерном звене, где вторичный линкер (L_O) ковалентно присоединен к фрагменту L_B или L_B' (то есть к главному линкерному звену) посредством промежуточного расположения функциональной группы между фрагментом L_B или L_B' и остатком линкерного звена, к которому может быть ковалентно присоединено звено кватернизованного лекарственного соединения. В LDC вторичный линкер также ковалентно присоединен к звену кватернизованного лекарственного соединения (D^+) через бензильное положение саморазрушающегося фрагмента PAB или PAB-типа, который содержит саморазрушающееся спейсерное звено. В дополнение к такому спейсерному звену (Y) вторичные линкеры состоят из расщепляемого (W или W'), где W , Y и D^+ или W' , Y и D^+ расположены либо в линейном, либо в ортогональном соотношении, соответственно, и дополнительно состоят из фрагмента $-L_p(\text{PEG})-$ и первого необязательного расширяющего звена (A) и/или разветвляющего звена, в котором последний может быть заменен вторым необязательным расширяющим звеном (A_0), когда LU присоединен к только одному звену кватернизованного лекарственного соединения (D^+). Когда он присутствует, A связывает L_B' или полученный из него L_B с остатком вторичного линкера через $-L_p(\text{PEG})-$ или через A_0 , или B , когда либо присутствует, либо связывает D^+ и $-L_p(\text{PEG})-$ через $-W-Y-$ или $-Y(W')$, когда B и A_0 отсутствуют.

В LDC L_O состоит из саморазрушающегося спейсерного звена (Y), которое содержит саморазрушающийся фрагмент и ковалентно присоединен к отщепляемому звену (W или W'), так что отщепление W или W' в условиях, которым более вероятно подвергаются патологические клетки, приводит к самоуничтожению саморазрушающегося фрагмента с сопутствующим высвобождением D^+ в качестве лекарственного соединения (D). Альтернативно, это отщепление может происходить в непосредственной близости от этих патологических клеток по сравнению с нормальными клетками в их нормальной среде. Обычно это самоуничтожение происходит посредством 1,6-элиминирования в саморазрушающемся фрагменте, как описано в настоящем документе. В этих случаях саморазрушающийся фрагмент саморазрушающегося спейсерного звена присоединяется к лекарственному соединению, содержащему третичный амин, путем кватернизации третичного азота амина этого лекарственного соединения.

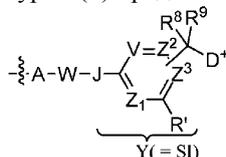
Вторичный линкер (L_O), когда он связан с D^+ в линкерном звене, присоединенном только к одному D^+ , обычно представлен структурой (1) или (2)



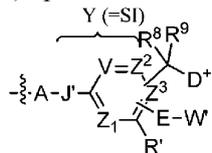
где переменные группы являются такими, как определено в настоящем документе. В некоторых аспектах изобретения Y в структуре (1) образован или состоит из саморазрушающегося фрагмента (SI), описанного в настоящем документе, замещенного W и D^+ . В других аспектах изобретения Y в структуре (2) образован или состоит из саморазрушающегося фрагмента, описанного в настоящем документе, замещенного D^+ через четвертичный азот аминогруппы тубулизинового соединения, и дополнительно за-

мещен W^1 и лиганд $-L_B-A_a-L_P(PEG)-A_O-$ или $L_B'-A_a-L_P(PEG)-A_O-$ в конъюгате лекарственного соединения с лигандом или соединении лекарственного соединения с линкером, соответственно, где A_O необязательно присутствует (то есть A_O связан с саморазрушающимся фрагментом Y , когда A_O присутствует), или дополнительно замещен $L_B-A_a-L_P(PEG)-$ или $L_B'-A_a-L_P(PEG)-$ в конъюгате лекарственного соединения с лигандом или соединении лекарственного соединения с линкером, соответственно, когда A_O отсутствует.

Обычно вторичные линкеры со структурой (1) представлены



и вторичные линкеры со структурой (2) представлены



где Y представляет собой саморазрушающийся фрагмент типа PAB или PAB, и $E, J/J', V, Z^1, Z^2, Z^3, R', R^8$ и R^9 являются такими, как определено в вариантах осуществления для саморазрушающихся фрагментов типа PAB или PAB.

"Малеимидный фрагмент", как используется в настоящем документе, представляет собой фрагмент предшественника ковалентно связывающего лиганда, имеющий малеимидную кольцевую систему. Малеимидный фрагмент (M^1) в виде L_B' способен участвовать в присоединении по Михаэлю (то есть, в присоединении 1,4-конъюгата) тиоловой функциональной группы нацеливающего агента для получения тиозамещенного сукцинимидного (M^2) фрагмента, описанного в настоящем документе, который становится компонентом в линкерном звене в LDC. Фрагмент M^1 присоединяется к остатку линкерного звена соединения лекарственного соединения с линкером через его имидный азот с превращением его в тиозамещенный сукцинимидный фрагмент. Помимо имидного азота, фрагмент M^1 обычно является незамещенным, но может быть асимметрично замещен по циклической двойной связи его малеимидной кольцевой системы. Такое замещение обычно приводит к региохимически предпочтительному присоединению атома серы сульфгидрильной группы к менее затрудненному или с более электронно дефицитным углеродом с двойной связью (в зависимости от более доминирующего вклада) малеимидной кольцевой системы. Ожидается, что контролируемый гидролиз сукцинимидной кольцевой системы тиозамещенного сукцинимидного фрагмента M^2 , полученного из такого замещенного фрагмента M^1 , если он присутствует во фрагменте самостабилизирующегося линкера (L_{SS}) LDC, предоставляет или может редоставить региохимические изомеры фрагментов янтарная кислота-амид (M^3) в виде L_B в самостабилизированном линкерном (L_S) фрагменте, относительное количество которых обусловлено различиями в реакционной способности двух карбонильных атомов углерода M^2 , относящихся к заместителю(заместителям), который имелся в предшественнике M^1 .

"Сукцинимидный фрагмент", как используется в настоящем документе, представляет собой органический фрагмент линкерного звена конъюгата лекарственного соединения с лигандом и является результатом добавления по Михаэлю тиоловой функциональной группы нацеливающего агента к малеимидной кольцевой системе малеимидного фрагмента (M^1) в виде L_B' , где M^1 обычно представляет собой соединение лекарственного соединения с линкером. В некоторых аспектах конъюгат лекарственного соединения с лигандом представляет собой конъюгат лекарственного соединения с антителом, и функциональная тиоловая группа происходит из цистеинового остатка антитела или его фрагмента. Таким образом, сукцинимидный (M^2) фрагмент в виде L_B состоит из тиозамещенной сукцинимидной кольцевой системы и содержит имидный азот, замещенный остатком линкерного звена, и необязательно замещен заместителем(заместителями), который имелся в предшественнике M^1 . Обычно, когда присутствует A (то есть индекс a для A_a обозначает 1), имидный азот ковалентно присоединяется к расширяющему звену (A) или его субзвену (то есть A_1), как описано в настоящем документе. Иногда M^2-A (от M^2-A_1) относится к фрагменту самостабилизирующегося линкера (L_{SS}), описанному в настоящем документе.

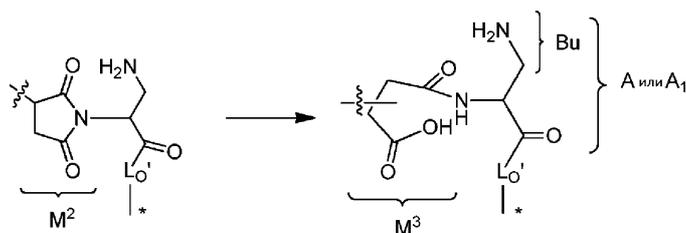
"Фрагмент янтарная кислота-амид", как используется в настоящем документе, относится к янтарной кислоте, имеющей амидный заместитель, который образуется из тиозамещенной сукцинимидной кольцевой системы сукцинимидного фрагмента M^2 в виде L_B , подвергшегося разрыву одной из его карбонил-азотных связей путем гидролиза. При гидролизе ADC, приводящем к образованию фрагмента янтарная кислота-амид (M^3), линкерное звено менее подвержено преждевременной потере своего лигандного звена из антитела, имеющего этот фрагмент M^3 , путем элиминирования тио-заместителя антитела. Ожидается, что когда он присутствует во фрагменте самостабилизирующегося линкера (L_{SS}), контролируемый гидролиз сукцинимидной кольцевой системы тиозамещенного сукцинимидного фрагмента M^2 , полученного из замещенного фрагмента M^1 в виде L_B' , обеспечит региохимические изомеры фрагментов M^3 (от-

дельно обозначенные как M^{3A} и M^{3B}), которые обусловлены различиями в реакционной способности двух карбонильных атомов углерода M^2 , относящихся к заместителю(заместителям), который имелся в предшественнике M^1 , и тио-заместителю лигандного звена, которое образовано из антителя или соответствует нацеливающему агенту из антителя.

"Самостабилизирующийся линкер", как используется в настоящем документе, представляет собой L_B -содержащий фрагмент линкерного звена LDC или его предшественника (то есть L_B^1 -содержащего фрагмента), который в контролируемых условиях способен подвергаться химическому превращению в самостабилизированный линкер (L_S), так что LDC, изначально состоящий из самостабилизирующегося (L_{SS}), становится более устойчивым к преждевременной потере своего нацеливающего лигандного звена. Обычно фрагмент L_{SS} в дополнение к фрагменту L_B или L_B^1 состоит из первого расширяющего звена (A), к которому ковалентно присоединены L_{SS} и $-L_P(PEG)$ -. Однако иногда отсутствует промежуточный A, и L_{SS} ковалентно присоединяется непосредственно к $-L_P(PEG)$ -. В некоторых аспектах L_{SS} до его включения в LDC содержит фрагмент малеимида (M^1) в качестве своего фрагмента L_B^1 (через который нацеливающий агент должен быть присоединен в качестве лигандного звена) и первое расширяющее звено (A) или его субзвено (то есть A_1) и представлено формулой M^1-A - или M^1-A_1 -. После включения в LDC (то есть после присоединения нацеливающего фрагмента в виде лигандной единицы посредством присоединения по Михаэлю к малеимидному фрагменту) фрагмент M^1-A - (или M^1-A_1 -) в L_{SS} превращается в его соответствующий тиозамещенный сукцинимидный фрагмент M^2-A - (или M^2-A_1 -). Обычно L_{SS} также состоит из основного звена (BU), как описано в настоящем документе, и обычно является заместителем расширяющего звена, связанного с M^2 или его предшественником M^1 . В этих аспектах BU способствует гидролизу сукцинимидного фрагмента M^2 до его соответствующей формы с открытым кольцом M^3 [то есть $M^2-A(BU)$ - или $M^2-A_1(BU)$ - превращается в $M^3-A(BU)$ или $M^3-A_1(BU)$].

"Самостабилизированный линкер" представляет собой органический фрагмент, образованный из фрагмента L_{SS} , оба из них представляют собой L_B -содержащие фрагменты, в LDC, который подвергался гидролизу, обычно в контролируемых условиях, обеспечивая новый L_B -содержащий фрагмент, это дает меньшую вероятность обратить назад реакцию конденсации нацеливающего агента с L_B^1 -содержащим фрагментом, которая давала бы исходный L_B -содержащий фрагмент. Обычно самостабилизирующийся линкер (L_S) состоит из расширяющего звена или его субзвена, ковалентно присоединенного к фрагменту, полученному в результате превращения сукцинимидного фрагмента (M^2) путем гидролиза его сукцинимидной кольцевой системы. В этих случаях предшественник M^2 этого фрагмента имеет тиозамещенную сукцинимидную кольцевую систему, полученную в результате присоединения по Михаэлю функциональной тиоловой группы нацеливающего агента к малеимидной кольцевой системе M^1 , так что фрагмент, полученный из M^2 (M^3), имеет пониженную реакционную способность элиминирования его тиозаместителя по сравнению с соответствующим заместителем в M^2 . В этих аспектах фрагмент, полученный из M^2 , имеет структуру фрагмента янтарная кислота-амид (M^3) соответствующего M^2 , где M^2 подвергся гидролизу одной из своих карбонил-азотных связей в его сукцинимидной кольцевой системе. Этот гидролиз может происходить самопроизвольно или, как правило, катализируется основной функциональной группой BU. Для этой цели BU ковалентно присоединен к расширяющему звену, связанному M^2 , так что BU находится в соответствующей близости в результате этого присоединения, чтобы способствовать разрыву карбонил-азот. Таким образом, продукт этого гидролиза имеет функциональную группу карбоновой кислоты и амидную функциональную группу, замещенную на амидном атоме азота, где этот атом азота соответствует имидному атому азота в M^2 -содержащем предшественнике L_{SS} по структуре вышеупомянутого расширяющего звена. Обычно эта основная функциональная группа представляет собой аминогруппу, эффективность которой по увеличению скорости гидролиза для превращения M^2 в M^3 контролируется с помощью pH. Таким образом, самостабилизирующийся линкер (L_S) обычно имеет структуру M^3 , ковалентно связанную с расширяющим звеном или его субзвеном, которое, в свою очередь, ковалентно связано с оставшейся частью вторичного линкера L_O (L_O^1) в линейном расположении и имеет основное звено, ковалентно связанное с расширяющим звеном (A) в ортогональном расположении относительно A и L_O^1 . L_S с M^3 , A, BU и L_O , расположенными таким образом, как указано, представлен формулой $M^3-A(BU)-L_O$ - или $M^3-A_1(BU)-L_O$ -.

После гидролиза полученный в результате самостабилизированный линкер (L_S) обычно будет иметь структуру M^3 , ковалентно связанную с BU-замещенным расширяющим звеном (например, $M^3-A(BU)$ - или $M^3-A_1(BU)$ -). Этот первое расширяющее звено в свою очередь ковалентно связано с остатком L_O в линейном расположении с основным звеном, ортогонально расположенным относительно M^3 и других звеньев компонента L_O . Примеры структур фрагментов L_{SS} и L_S с M^2 или M^3 , A(BU) [или $A_1(BU)$] и L_O^1 -, где L_O^1 -представляет собой остаток L_O -, расположенные указанным способом, показаны в качестве примера, но не ограничения:



где показанный фрагмент $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{NH}_2)\text{C}(=\text{O})-$ представляет собой структуру первого расширяющего звена (A) или его субъединицы, ковалентно связанных с имидным или амидным азотом M^2 или M^3 , соответственно, где фрагмент $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ является BU заместителем этого расширяющего звена. Остаток структур L_{SS} и L_{S} представляет собой сукцинимидный фрагмент M^2 и фрагмент янтарная кислота-амид M^3 в результате гидролиза сукцинимидного кольца M^2 , соответственно, где M^2 и M^3 замещены по имидному и соответствующему амидному азоту, соответственно, sp^3 -углеродом расширяющего звена. Волнистая линия указывает точку ковалентного присоединения к лигандному звену в результате присоединения по Михаэлю тиоловой функциональной группы нацеливающего агента к малеимидной кольцевой системе M^1 , и звездочка указывает точку ковалентного присоединения к D^+ . Поскольку сукцинимидная кольцевая система M^2 асимметрично замещена благодаря ее тиозамещению лигандным звеном, могут быть получены региохимические изомеры фрагментов янтарная кислота-амид (M^3), которые различаются по положению лигандного звена относительно освобожденной в результате гидролиза M^2 группы карбоновой кислоты. В вышеупомянутых структурах карбонильная функциональная группа показанного расширяющего звена является примером усилителя гидролиза (HE), определенного в настоящем документе, который включен в структуру такого звена.

M^3 -A(BU)- представляет собой примеры структур самостабилизированного линкера (L_{S}), поскольку эти структуры с меньшей вероятностью элиминируют тиозаместитель нацеливающего лигандного звена и, таким образом, вызывают потерю нацеливающего фрагмента из конъюгата лекарственного соединения с лигандом по сравнению с соответствующей структурой M^2 -A(BU)- фрагмента L_{SS} . Не ограничиваясь теорией, полагают, что повышенная стабильность является результатом большей конформационной гибкости в M^3 по сравнению с M^2 , которая больше не ограничивает тиозаместитель в конформации, благоприятной для E^2 элиминирования.

"Основное звено", как используется в настоящем документе, представляет собой органический фрагмент в самостабилизирующемся линкере (L_{SS}), описанном в настоящем документе, который может быть перенесен в соответствующий L_{S} путем осуществления гидролиза сукцинимидной кольцевой системы во фрагменте M^2 , включая L_{SS} (то есть катализируемое добавлением воды присоединение молекулы воды к одной из связей сукцинимидный карбонил-азот) и может инициироваться или усиливаться в контролируемых условиях, приемлемых для нацеливающего лигандного звена, присоединенного к L_{SS} . С этой целью основная функциональная группа основного звена (BU) и ее относительное положение в L_{SS} относительно его компонента M^2 в некоторых аспектах выбраны по ее способности к образованию водородной связи с карбонильной группой M^2 , что эффективно повышает ее электрофильность и, следовательно, чувствительность к воздействию воды. В другом аспекте этот выбор сделан таким образом, что молекула воды, нуклеофильность которой увеличивается за счет водородных связей с основной функциональной группой BU, направлена на карбонильную группу M^2 . В третьем аспекте этот выбор сделан таким образом, что основной азот при протонировании увеличивает электрофильность сукцинимидных карбониллов за счет наведенной электроакцепторности. В последнем аспекте некоторая комбинация этих механизмов способствует катализу при гидролизе L_{SS} до L_{S} .

Для увеличения электрофильности карбонила M^2 посредством водородной связи, BU должен иметь первичный или вторичный амин в качестве своей основной функциональной группы, поскольку повышение нуклеофильности воды или электрофильности карбонила описанным выше способом может быть осуществлено с первичным, вторичным или третичным амином в качестве основной функциональной группы. Для того чтобы основной амин находился в требуемой близости, чтобы способствовать гидролизу сукцинимидного фрагмента M^2 до соответствующего амида карбоновой кислоты M^3 , соответствующего его раскрытому кольцу, с помощью любого из этих механизмов, аминокислотная углеродная цепь BU обычно присоединена к расширяющему звену L_{SS} на альфа-углероде этого фрагмента относительно точки присоединения A (или A_1) к сукцинимидному азоту M^2 (и, следовательно, к малеимидному азоту структуры его соответствующего предшественника M^1 -A или M^1 - A_1). В некоторых аспектах этот альфа-углерод имеет (S) стереохимическую конфигурацию или конфигурацию, соответствующую альфа-углероду L-аминокислот.

Термин "звено усилителя гидролиза", как используется в настоящем документе, представляет собой электроакцепторную группу или фрагмент и является необязательным заместителем расширяющего звена, содержащего фрагмент L_{SS} . Когда он присутствует, звено усилителя гидролиза (HE) обычно включено в расширяющее звено, которое связано с имидным азотом фрагмента M^2 , так что его электроакцепторные эффекты увеличивают электрофильность сукцинимидных карбонильных групп в этом фраг-

менте. Когда расширяющее звено, кроме того, имеет заместитель BU, действие HE на карбонильные группы в сочетании с действием BU, которое зависит от основности основной функциональной группы BU и расстояния между этой функциональной группой и этим карбонилем, сбалансированы таким образом, что преждевременный гидролиз M^1 или M^2 до M^3 не происходит в значительной степени, что потребовало бы чрезмерного избытка соединения лекарственного соединения с линкером для получения LDC из предшественника L_{SS} , имеющего структуру M^1 -A(BU)-, но допускает гидролиз (то есть превращение LDC-содержащего фрагмента $-M^2$ - в его соответствующий фрагмент $-M^3$ -A(BU)-) в контролируемых условиях (например, когда pH преднамеренно повышен), что является допустимым для присоединенного нацеливающего лигандного звена. Обычно звено HE представляет собой карбонильную или карбонилсодержащую функциональную группу, расположенную на удалении от конца расширяющего звена, которое связано с M^2 или полученным из него M^3 , так что HE ковалентно присоединен к этому расширяющему звену и к остатку вторичного линкера. Карбонилсодержащие функциональные группы, отличные от кетона (то есть HE представляет собой $-C(=O)-$), включают сложные эфиры, карбаматы, карбонаты и мочевины. Когда HE представляет собой карбонилсодержащую функциональную группу, отличную от кетона, карбонильный фрагмент этой функциональной группы обычно связан с A. В некоторых аспектах звено HE может быть достаточно удалено в расширяющем звене от имидного азота, с которым расширяющее звено связано ковалентно, так что заметного эффекта на гидролитическую чувствительность связей сукцинимидный карбонил-азот у M^2 -содержащего фрагмента не наблюдается.

"Расширяющее звено" в том смысле, в котором этот термин используется в настоящем документе, относится к органическому фрагменту во вторичном линкере, который физически отделяет нацеливающий фрагмент от других промежуточных компонентов линкерного звена, которые расположены дистально по отношению к расширяющему звену, таких как расщепляемое звено и/или спейсерное звено. Первое расширяющее звено (A) и/или второе расширяющее звено (A_0) могут потребоваться, когда L_B и/или фрагмент $-L_P(PEG)$ - обеспечивают недостаточный стерический рельеф, чтобы обеспечить эффективную обработку линкерного звена в точке W или W' для высвобождения D^+ в качестве тубулизинового лекарственного соединения, и/или иногда включаются для простоты синтеза при конструировании линкерного звена по настоящему изобретению. Первое или второе расширяющее звено может содержать одно или несколько расширяющих звеньев, описанных в настоящем документе. Перед включением в LDC A имеет функциональные группы, способные ковалентно связывать L_B с $-L_P(PEG)$ -, и A_0 имеет функциональные группы, способные ковалентно связывать вместе $-L_P(PEG)$ - и расщепляемое звено (W) в некоторых линкерных конструкциях (как с A, W и Y в линейном расположении, то есть $-A-Y-W-$), или A_0 имеет функциональные группы, способные ковалентно связывать вместе $-L_P(PEG)$ - и спейсерное звено (Y) в других линкерных конструкциях (как с W' ортогонально к A и Y, то есть $-AY(W')-$). В некоторых аспектах изобретения вторичный линкер присоединен к фрагменту L_B или L_B' через первое расширяющее звено, в то время как другое из его субзвеньев ковалентно связано с $-L_P(PEG)$ -.

Первое расширяющее звено (A), когда оно присутствует в LDC или в соединении лекарственного соединения с линкером, обычно находится в линкерных звеньях, имеющих формулу $-A-L_P(PEG)-W-Y-$, $-A-L_P(PEG)-A_0-W-Y-$, $A-L_P(PEG)-Y(W')$ - или $A-L_P(PEG)-A_0-Y(W')$ -, в которых A присоединен к ковалентно связывающий лигандному звену или предшественнику ковалентно связывающего лигандного звена. Первое или второе расширяющее звено может содержать или состоять из двух, трех или более субзвеньев. Обычно A представляет собой одно отдельное звено или имеет от 2 до 4 дополнительных отдельных субзвеньев, обозначаемых как A_2 , A_3 и A_4 . В этих Aa представляет собой $-A_1-A_2-$, $-A_1-A_2-A_3-$ и $-A_1-A_2-A_3-A_4-$, совместно обозначаемые как $-A_1-A_{2,4}-$. Обычно первое расширяющее звено или его субзвено имеет от одного до шести смежных атомов углерода, которые находятся между ковалентно связывающим лигандным звеном или предшественником ковалентно связывающего лигандного звена и функциональной группой, которая ковалентно присоединяет A к $L_P(PEG)$ - или к другому субзвену A. В некоторых аспектах эта функциональная группа может также служить в качестве звена, усиливающего гидролиз (HE).

Термин "разветвляющее звено", как используется в настоящем документе, относится к трехфункциональному органическому фрагменту, который является необязательным компонентом линкерного звена (LU). Разветвляющее звено (B) присутствует, когда более чем одно звено четвертичного тубулизинового лекарственного соединения (D^+), обычно 2, 3 или 4, присоединено к линкерному звену (LU) конъюгата лекарственного соединения с лигандом или соединения лекарственного соединения с линкером. В конъюгате лекарственного соединения с лигандом формулы 1A, 1B, 1C или 1D или в соединении лекарственного соединения с линкером формулы 1A, 1B или 1D присутствие разветвляющего звена указывается, когда индекс b в B_b обозначает 1, и встречается, когда индекс n больше чем 1 в любой из этих структурных формул. Разветвляющее звено является трехфункциональным для того, чтобы его можно было включить во вторичное линкерное звено (L_0). В аспектах, где n обозначает 1 в любой из этих структурных формул, разветвляющее звено либо отсутствует, как указано, когда нижний индекс b обозначает 0, или нижний индекс b обозначает 1, и B заменен вторым необязательным разветвляющим звеном, обозначаемым как A_0 . Соединение лекарственного соединения с линкером или конъюгат лекарственного соединения с лигандом, имеющие разветвляющее звено из-за ряда звеньев D^+ на LU имеют лин-

кernые звенья, состоящие из таких фрагментов, как $-A_a-L_p(\text{PEG})-B-W-Y-$ или $-A_a-L_p(\text{PEG})-B-Y(W')$.

В некоторых аспектах природная или неприродная аминокислота или другое соединение аминосодержащей кислоты, имеющее функционализированную боковую цепь, служит в качестве разветвляющего звена. В некоторых аспектах В представляет собой фрагмент лизина, глутаминовой кислоты или аспарагиновой кислоты в L- или D-конфигурации, в которой функциональная группа эpsilon-амино, гамма-карбоновой кислоты или бета-карбоновой кислоты, соответственно, соединяет В с остатком LU.

"Расщепляемое звено", как определено, обеспечивает реакционноспособный сайт, в котором реакционная активность на этом сайте больше внутри или вокруг гиперпролиферирующей клетки или гиперстимулированной иммунной клетки (то есть патологической клетки) по сравнению с нормальной клеткой, так что действие на этом участке приводит к преимущественному воздействию на патологическую клетку тубулизинового лекарственного соединения (D). Это воздействие является результатом возможного высвобождения звена кватернизованного тубулизинового лекарственного соединения (D^+) в виде D из LDC, имеющего такое расщепляемое звено. В некоторых аспектах изобретения расщепляемое звено, W или W', включает реакционноспособный сайт, расщепляемый ферментом (то есть W или W' состоит из субстрата фермента), активность которого или расположение являются больше внутри или вокруг гиперпролиферирующей, иммуностимулирующей или другой патологической или нежелательной клетки. В других аспектах расщепляемое звено состоит из реакционноспособного сайта, расщепляемого другими механизмами (то есть неферментативными), с большей вероятностью работоспособными в среде внутри или вокруг патологических клеток целевого сайта по сравнению со средой нормальных клеток, в которой патологические клетки, как правило, отсутствуют. В других аспектах изобретения реакционноспособный сайт более вероятно действует после клеточной интернализации LDC в патологическую клетку. Эта интернализация проходит с большей вероятностью в этих клетках по сравнению с нормальными клетками из-за большей представленности целевого фрагмента, который распознается целевым нацеливающим лигандным звеном в LDC на клеточной мембране патологических или нежелательных клеток. Следовательно, клетки-мишени с большей вероятностью будут подвергаться внутриклеточному воздействию фрагментом активного лекарственного соединения при высвобождении его из LDC. Расщепляемое звено может содержать один или несколько сайтов, чувствительных к расщеплению в этих условиях для целевого сайта, но обычно имеется только один такой сайт.

В некоторых аспектах изобретения расщепляемое звено представляет собой субстрат для регуляторной протеазы, гидролазы или гликозидазы, расположенной внутриклеточно в клетках-мишенях (то есть реакционноспособный сайт W или W' представляет собой пептидную связь или гликозидную связь, соответственно, расщепляемые с помощью регуляторной протеазы, гидролазы или гликозидазы). В этих аспектах пептидная или гликозидная связь способна селективно расщепляться регуляторной протеазой, гидролазой или гликозидазой по сравнению с сывороточными протеазами, гидролазами или гликозидазами. Эти регуляторные протеазы, гидролазы или гликозидазы могут быть более специфичными к патологическим или другим нежелательным клеткам-мишеням по сравнению с нормальными клетками, или W или W' обладают способностью селективно расщепляться протеазой, гидролазой или гликозидазой, выделяемой в больших количествах патологическими или другими нежелательными клетками-мишенями по сравнению с нормальными клетками или нормальными клетками-мишенями, которые свойственны среде патологических клеток по сравнению с нормальными клетками на периферии. Альтернативно, W предоставляет функциональную группу, которая при включении в LDC восприимчива к кислой среде лизосом, когда LDC преимущественно интернализуется в аномальную клетку, или к более восстановительной среде внутри или вокруг этих клеток по сравнению со средой нормальных клеток, где патологические клетки обычно отсутствуют, так что высвобождение D^+ в качестве тубулизинового лекарственного соединения преимущественно подвергает патологические клетки воздействию этого лекарственного соединения по сравнению с нормальными клетками, удаленными от местоположения патологических клеток.

Расщепляемое звено (W или W') в соединении лекарственного соединения с линкером или после его включения в LDC обеспечивает расщепляемую связь (то есть реакционноспособный сайт), которая в некоторых аспектах при действии фермента, присутствующего в гиперпролиферирующих клетках или гиперактивированных иммунных клетках, высвобождает лекарственное соединение, содержащее третичный амин, из D^+ . В других аспектах высвобождающий фермент характерен для непосредственно окружающей среды этих патологических или нежелательных клеток. В других аспектах неферментативное действие на W из-за условий, более вероятно испытываемых гиперпролиферирующими клетками по сравнению с нормальными клетками, высвобождает свободное тубулизиновое лекарственное соединение из D^+ . Обычно W или W' обеспечивают расщепляемую связь, которая, скорее всего, действует внутриклеточно в гиперпролиферирующей клетке или гиперактивированной иммунной клетке благодаря преимущественному проникновению в такие клетки по сравнению с нормальными клетками. Обычно W или W' в соединении LDC или в соединении лекарственного соединения с линкером ковалентно присоединены к спейсерному звену (Y), имеющему саморазрушающийся фрагмент, так что ферментативное действие на W или W' вызывает саморазрушение этого фрагмента в пределах $-Y-D^+$ из $-W-Y-D^+$ или $-Y(W')-D^+$, соответственно, чтобы высвободить D^+ в виде D.

Функциональные группы, которые обеспечивают расщепляемые связи, включают, в качестве примера, а не ограничения, (а) сульфгидрильные группы, образующие дисульфидную связь, которая больше восприимчива к более восстановительным средам патологических клеток по сравнению с нормальными клетками или к избытку глутатиона, продуцируемого в гипоксических условиях, испытываемых такими клетками, (b) альдегидные, кетоновые или гидразиновые группы, которые образуют функциональные группы основания Шиффа, или гидразоновые группы, которые более чувствительны к кислотным условиям лизоцимов при селективной интернализации LDC, имеющего линкерное звено с такой расщепляемой связью, патологической клеткой по сравнению с ее интернализацией нормальными клетками, (с) карбоксильные или аминокислотные группы, которые образуют амидную связь, как в пептидных связях, более чувствительную к ферментативному расщеплению протеазами, продуцируемыми или выделяемыми преимущественно патологическими клетками, по сравнению с нормальными клетками, или преимущественно выделяемыми нормальными клетками, которые присущи среде патологических клеток, по сравнению с нормальными клетками на периферии, или с помощью регуляторной протеазы в клетке-мишени, (d) амино или гидроксильные группы, которые образуют соответствующие мочевиновые или карбаматные группы, или карбоновые или гидроксильные группы, которые образуют сложноеэфирные или карбонатные группы, которые более восприимчивы к ферментативному расщеплению гидролазой или эстеразой, вырабатываемой или выделяемой преимущественно патологическими клетками по сравнению с нормальными клетками, или выделяемой преимущественно нормальными клетками, присущими среде патологических клеток, по сравнению с нормальными клетками на периферии.

Еще другие функциональные группы, которые обеспечивают расщепляемые связи, обнаружены в сахарах или углеводах, имеющих гликозидную связь, являющихся субстратами для гликозидов, которые иногда могут образовываться преимущественно патологическими клетками по сравнению с нормальными клетками. Альтернативно, фермент протеаза, гидролаза или гликозидаза, необходимый для обработки линкерного звена с целью высвобождения D^+ в качестве активного тубулизинового лекарственного соединения, не должен продуцироваться преимущественно патологическими клетками по сравнению с нормальными клетками, при условии, что воздействующий фермент не выделяется нормальными клетками в тех пределах, которые вызвали бы нежелательные побочные эффекты от преждевременного высвобождения свободного лекарственного соединения. В других случаях требуемый фермент протеаза, гидролаза или гликозидаза может выводиться из организма, но во избежание нежелательного преждевременного высвобождения лекарственного соединения предпочтительно, чтобы воздействующий фермент выделялся вблизи патологических клеток и оставался локализованным в этой среде независимо от того, продуцируется ли он патологическими клетками или соседними нормальными клетками в ответ на аномальную среду, вызванную патологическими клетками. В этом отношении W или W' выбираются так, чтобы на них преимущественно воздействовала протеаза, гидролаза или гликозидаза в или внутри среды патологических клеток в отличие от свободно циркулирующих ферментов. В этих случаях LDC с меньшей вероятностью высвобождает тубулизиновое лекарственное соединение вблизи нормальных клеток, удаленных от желаемого места действия, и при этом оно не интернализуется в нормальные клетки, которые продуцируют, но не выделяют выбранный фермент, поскольку такие клетки с меньшей вероятностью демонстрируют целевой фрагмент, необходимый для проникновения в LDC посредством селективного связывания с помощью нацеливающего лигандного звена.

В некоторых аспектах W представляет собой расщепляемое пептидом звено, образованное из аминокислоты, или образованное из или состоящее из одной или нескольких последовательностей аминокислот, которые обеспечивают субстрат для протеазы, присутствующей в патологических клетках или локализованный в среде этих патологических клеток. Таким образом, W может быть образован или состоять из дипептида, трипептида, тетрапептида, пентапептида, гексапептида, гептапептида, октапептида, нонапептида, декапептида, ундекапептида или додекапептида, включенных в линкерное звено посредством амидной связи с саморазрушающимся Y , где этот пептидный фрагмент представляет собой последовательность распознавания для этой протеазы. В некоторых аспектах W представляет собой единственную природную L-аминокислоту, такую как L-глутамат.

В некоторых аспектах W' глюконоидного звена формулы $-Y(W')$ образован или состоит из карбогидратного фрагмента, присоединенного к саморазрушающему фрагменту Y гликозидной связью, которая расщепляется гликозидазой, преимущественно продуцируемой патологическими клетками, или находящейся в таких клетках, в которых LDC, который состоит из этих саморазрушающихся и карбогидратных фрагментов, имеет селективный вход ввиду присутствия целевого фрагмента на патологических клетках.

Термин "спейсерное звено", как используется в настоящем документе, представляет собой органический фрагмент во вторичном линкере (L_0) в линкерном звене, который ковалентно связан с D^+ и вторым необязательным расширяющим звеном (A_0) или разветвляющим звеном (B), если любое из них присутствует, или с $-L_p(PEG)$ -, если A_0 и B отсутствуют, и/или с расщепляемым звеном (W или W'), в зависимости от конфигурации расщепляемого звена к спейсерному звену относительно друг друга. Обычно в одной конфигурации звено кватернизованного лекарственного соединения (D^+) и W' , оба ковалентно связаны с Y , который, в свою очередь, также связан с A_0 или B , когда они присутствуют, или с $L_p(PEG)$,

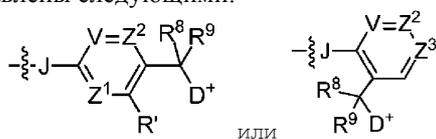
когда оба отсутствуют, так что W' расположен ортогонально к остатку L_0 , тогда как в другой конфигурации W , Y , D^+ расположены в линейной конфигурации с D^+ , связанным с Y . В любой конфигурации Y также может служить для отделения сайта расщепления W или W' от D^+ , чтобы избежать стерических взаимодействий с этим звеном, что мешало бы расщеплению W/W' всякий раз, когда это расщепление происходит посредством ферментативного воздействия.

Обычно спейсерное звено (Y), имеющее саморазрушающийся фрагмент, определенный в настоящем документе, имеет этот фрагмент, ковалентно связанный с расщепляющим звеном (W/W'), так что обработка расщепляемого звена *in vivo* активирует самоуничтожение Y , высвобождая таким образом тубулизиновое лекарственное соединение из D^+ . В некоторых аспектах саморазрушающийся фрагмент Y связан с W через амидную (или анилидную) функциональную группу, причем Y также ковалентно связан с четвертичным азотом амина D^+ , так что самопроизвольное разрушение саморазрушающегося фрагмента происходит при ферментативном действии на эту функциональную группу, что приводит к высвобождению свободного тубулизинового лекарственного соединения из D^+ . В других аспектах саморазрушающийся фрагмент Y связан с W' через гликозидную связь, так что расщепление этой связи высвобождает свободное тубулизиновое лекарственное соединение из D^+ .

Термин "саморазрушающийся фрагмент", как используется в настоящем документе, относится к бифункциональному фрагменту в спейсерном звене (Y), имеющему органический фрагмент, встроенный между фрагментами первой и второй функциональных групп и ковалентно включающий эти фрагменты в стабильную при нормальных условиях состоящую из трех частей молекулу, если не является активированным. При активации, когда ковалентная связь с первым фрагментом функциональной группы расщепляется, второй фрагмент функциональной группы самопроизвольно отделяется от состоящей из трех частей молекулы путем саморазрушения остатка саморазрушающегося фрагмента. Это самоуничтожение при активации высвобождает свободное тубулизиновое лекарственное соединение (D). В некоторых аспектах это самоуничтожение происходит после клеточной интернализации LDC, содержащей D^+ и линкерное звено, имеющее саморазрушающееся спейсерное звено. Промежуточный органический фрагмент между фрагментами функциональных групп саморазрушающегося фрагмента иногда представляет собой ариленовый или гетероариленовый фрагмент, способный подвергаться фрагментации с образованием хинонметида или родственной структуры путем 1,4 или 1,6 элиминирования с одновременным высвобождением свободного тубулизинового лекарственного соединения. Примерами таких саморазрушающихся фрагментов являются необязательно замещенные фрагменты *p*-аминобензилового спирта (PAB), орто- или пара-аминобензилацетали или ароматические соединения, которые электронно подобны группе PAB (то есть типа PAB), такие как производные 2-аминоимидазол-5-метанола (см., например, *Hay et al.*, 1999, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 9:2237) и другие гетероарилы, описанные в настоящем документе.

В одном аспекте ароматический углерод ариленовой или гетероариленовой группы саморазрушающегося фрагмента типа PAB или PAB при включении в линкерное звено замещен электронодонорным (EDG) гетероатомом, присоединенным к сайту расщепления W через первую функциональную группу, содержащую гетероатом, где этот гетероатом функционализирован таким образом, что его электронодонорная способность ослаблена (то есть EDG маскируется путем включения саморазрушающегося фрагмента Y в линкерное звено). Другим заместителем, который обеспечивает вторую функциональную группу, является бензильный углерод, который также присоединен к другому ароматическому атому углерода центральной ариленовой или гетероариленовой группы и имеет заместитель четвертичный амин, в котором четвертичный амин представляет собой или включает тубулизиновое лекарственное соединение, присоединенное через бензильный углерод, где ароматический углерод, несущий ослабленный электронодонорный гетероатом, является смежным (то есть 1,2-взаиморасположение) или удален на два дополнительных положения (то есть 1,4-взаиморасположение) от этого бензильного атома углерода. EDG выбирается таким образом, что воздействие на сайт расщепления W восстанавливает электронодонорную способность замаскированной EDG, таким образом вызывая 1,4- или 1,6-элиминирование для вытеснения тубулизинового лекарственного соединения из бензильного четвертичного аминного заместителя.

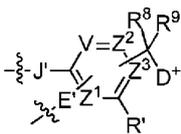
Примеры фрагментов $-L_0-D^+$, имеющих PAB или связанные с PAB саморазрушающиеся фрагменты, содержащие центральный арилен или гетероарилен с необходимыми вариантами 1,2- или 1,4-замещения, которые допускают 1,4- или 1,6-фрагментацию для высвобождения D из кватернизированного звена лекарственного соединения представлены следующими:



где D^+ в $-C(R^8)(R^9)-D^+$ ковалентно присоединен к вышеуказанному бензильному углероду через четвертичный азот амина, который соответствует третичному азоту амина тубулизинового лекарственного соединения (D), которое должно быть высвобождено из D^+ , и J представляет гетероатом, который свя-

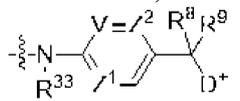
зан с W через вышеуказанную ослабленную функциональную группу, содержащую J, и является необязательно замещенным, если представляет собой азот (то есть J является необязательно замещенным -NH), где J представляет собой -O-, -N(R³³)- или -S-, и R⁸, R⁹, R³³, R', V, Z¹, Z², Z³ определены в вариантах осуществления саморазрушающихся спейсерных звеньев, содержащих фрагменты типа PAB или PAB. Эти переменные выбраны таким образом, чтобы реакционная способность J при высвобождении в процессе воздействия на W в целевом сайте была надлежащим образом сбалансирована с реакционной способностью третичного амина тубулизинового лекарственного соединения, элиминированного из саморазрушающегося фрагмента Y, и со стабильностью промежуточного соединения типа хинонметида, образующегося в результате этого элиминирования, для эффективного высвобождения D⁺ как D.

В некоторых аспектах фрагмента -L_O-D⁺ структуры (2) спейсерное звено L_O, содержащее саморазрушающийся фрагмент типа PAB или PAB, связанное с D⁺, имеет следующую структуру:



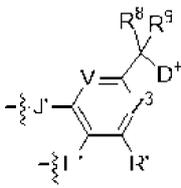
где волнистая линия к J' указывает на стабильное ковалентное связывание (то есть не подвергается воздействию в целевом сайте) с лиганд-L_B-A-L_P(PEG)-A_O- в конъюгате лекарственного соединения с лигандом, или с L_B'-A-L_P(PEG)-A_O- в соединении лекарственного соединения с линкером, когда а обозначает 1 и необязательно присутствует A_O, или с лиганд-L_B-A_a-L_P(PEG)-B- или L_B'-A_a-L_P(PEG)-B-, где а обозначает 0 или 1 и где J' представляет собой -O-, N(R³³)- или -S-, связанные непосредственно с A_O, В или его субзвеном, или с лиганд-L_B-L_P(PEG)- или L_B'-L_P(PEG)-, когда нет ни одного из А, В и A_O, через функциональную группу, содержащую J', и где R', R⁸, R⁹, V, Z¹, Z² и Z³ имеют значения, определенные в формуле 1A или формуле 1A, и E', независимо выбранный из J', представляет собой электронодонорную группу в W', такую как -O-, -N(R³³)- или -S-, где R³³ представляет собой -H, необязательно замещенный алкил или необязательно замещенный аралкил, и электронодонорная способность E' ослабляется его связью с карбогидратным фрагментом W', где связь W'-E' предоставляет сайт расщепления для гликозидазы, и E' и бензильный углерод фрагмента -C(R⁸)(R⁹)-D⁺ связаны с указанным выше центральным ариленом или гетероариленом в положениях, определяемых V, Z¹, Z² или Z³, так что E' и фрагмент -C(R⁸)(R⁹)-D⁺ находятся в 1,2- или 1,4-взаиморасположении для возможности 1,4- или 1,6-фрагментации, которая приводит к высвобождению D⁺ в виде тубулизинового лекарственного соединения.

В некоторых аспектах фрагмента -L_O-D⁺, имеющего структуру (1), спейсерное звено L_O, содержащее саморазрушающийся фрагмент типа PAB или PAB, связанный с D⁺, имеет следующую структуру:



где R', R⁸, R⁹, V, Z¹ и Z² являются такими, как определено в формуле 1D или формуле 1D, R³³ представляет собой -H, необязательно замещенный алкил или необязательно замещенный аралкил, и волнистая линия, смежная с необязательно замещенным гетероатомом азотом, указывает участок ковалентного связывания W с остатком L_O, где W связан с лиганд-L_B-A-L_P(PEG)-A_O- в конъюгате лекарственного соединения с лигандом или с L_B'-A-L_P(PEG)-A_O- в соединении лекарственного соединения с линкером, когда индекс а обозначает 1 и A_O необязательно присутствует, или с лиганд-L_B-A_a-L_P(PEG)-B- или L_B'-A_a-L_P(PEG)-B-, где индекс а обозначает 0 или 1, или с лиганд -L_B-L_P(PEG)- или L_B'-L_P(PEG)-, когда ни один из А, В и A_O не присутствует, где селективное действие протеазы на эту ковалентную связь инициирует саморазрушение спейсерного звена для высвобождения D⁺ в виде D.

В некоторых аспектах фрагмента -L_O-D⁺, имеющего структуру (2), спейсерное звено L_O, содержащее саморазрушающийся фрагмент типа PAB или PAB, связанный с D⁺, имеет следующую структуру:



где E', J', R', R⁸, R⁹, V и Z³ имеют значения, определенные в формуле 1A или формуле 1A. Другие определения структур и их переменных групп, включая саморазрушающийся фрагмент, во вторичном линкерном фрагменте D⁺ структуры (2), представлены в вариантах осуществления.

Арилен или гетероарилен саморазрушающегося фрагмента Y может быть дополнительно замещен, чтобы влиять на кинетику 1,2-или 1,4-элиминирования для модулирования высвобождения D⁺ в виде D или улучшения физико-химических свойств конъюгата лекарственного соединения с лигандом (например, уменьшенная гидрофобность), в который он включен. Например, отличной от водорода группой R' может быть электроноакцепторная группа, такая как хлор, фтор или -NO₂, например, когда E' представ-

ляет собой атом кислорода гликозидной связи с карбогидратным фрагментом W'.

Другие иллюстративные и неограничивающие примеры саморазрушающихся структур, которые могут быть модифицированы для размещения бензильных четвертичных аминовых заместителей, представлены в работах Blencowe et al. "Self-immolative linkers in polymeric delivery systems" *Polym. Chem.* (2011) 2: 773-790; Greenwald et al. "Drug delivery systems employing 1,4- or 1,6-elimination: poly(ethylene glycol) prodrugs of amine-containing compounds" *J. Med. Chem.* (1999) 42: 3657-3667; и в патентах США №№ 7091186, 7754681, 7553816 и 7989434, которые все включены в настоящее описание посредством ссылки во всей их полноте со структурами и вариабельными группами, представленными в них, специально включенными в виде ссылки.

"Цитотоксическое лекарственное соединение", как используется в настоящем документе, относится к соединению или метаболиту, полученному из LDC, которое оказывают анти-выживающий эффект на гиперпролиферирующие клетки, гиперактивированные иммунные клетки или другие патологические или нежелательные клетки. В некоторых аспектах цитотоксическое лекарственное соединение действует непосредственно на эти клетки или действует косвенно, воздействуя на аномальную сосудистую сеть, которая поддерживает выживание и/или рост гиперпролиферирующих или других патологических или нежелательных клеток, или цитотоксическое лекарственное соединение действует в местах проникновения гиперактивированных иммунных клеток. Обычно патологические или нежелательные клетки, на которые воздействует цитотоксическое лекарственное соединение, представляют собой клетки млекопитающих, более типично, клетки человека. Цитотоксическая активность цитотоксического лекарственного соединения может быть выражена в виде значения IC_{50} , которое представляет собой эффективную концентрацию, обычно молярное количество на единицу объема, при которой половина раковых клеток в модельной системе клеток *in vitro* выдерживает воздействие цитотоксического агента. Таким образом, значение IC_{50} зависит от модели. Обычно цитотоксический агент, включенный в LDC, будет иметь значение IC_{50} в клеточной модели *in vitro*, состоящей из гиперпролиферирующих клеток, в диапазоне от 100 нМ до 0,1 пМ или более, обычно от 10 нМ до 1 пМ. Высокотоксичное цитотоксическое лекарственное соединение обычно имеет значение IC_{50} в таких моделях около 100 пМ или ниже. Хотя ряд устойчивых к лекарственным соединениям ингибиторов, которые возвращают устойчивость к цитотоксическим лекарственным средствам, сами по себе не являются цитотоксическими, их иногда включают в качестве цитотоксических лекарственных средств. В некоторых случаях цитотоксическое лекарственное соединение для применения по настоящему изобретению представляет собой цитотоксическое тубулизиновое соединение, содержащее третичный азот амина, который можно кватернизировать для включения в качестве D^+ в структуру, представляющую композицию конъюгата лекарственного соединения с лигандом. В других случаях цитотоксическое тубулизиновое лекарственное соединение, имеющее третичный азот амина, получается, когда D^+ высвобождается в виде D из соединения конъюгата лекарственного соединения с лигандом в композиции по настоящему изобретению.

"Цитотоксическое лекарственное соединение", как используется в настоящем документе, относится к соединению или метаболиту, полученному из LDC, которое оказывают ингибирующий эффект на рост и пролиферацию гиперпролиферирующих клеток, гиперактивированных иммунных клеток или других патологических или нежелательных клеток. В некоторых аспектах цитотоксическое лекарственное соединение действует непосредственно на эти клетки или действует косвенно, воздействуя на аномальную сосудистую сеть, которая поддерживает выживание и/или рост гиперпролиферирующих или других патологических или нежелательных клеток, или цитотоксическое лекарственное соединение действует в местах проникновения гиперактивированных иммунных клеток. Обычно патологические или нежелательные клетки, на которые воздействует цитотоксическое лекарственное соединение, представляют собой клетки млекопитающих, более типично клетки человека. Хотя ряд устойчивых к лекарственным соединениям ингибиторов, которые возвращают устойчивость к цитотоксическим лекарственным средствам, сами по себе не являются цитотоксическими, их иногда включают в качестве цитотоксических лекарственных средств. В некоторых случаях цитотоксическое лекарственное соединение для применения по настоящему изобретению представляет собой цитотоксическое тубулизиновое соединение, содержащее третичный азот амина, которое можно кватернизировать для включения в качестве D^+ в структуру, представляющую композицию конъюгата лекарственного соединения с лигандом. В других случаях тубулизиновое соединение, которое является цитостатическим и имеет третичный аминовый азот, образуется, когда D^+ высвобождается в виде D из соединения конъюгата лекарственного соединения с лигандом в композиции по настоящему изобретению.

"Гемобластоз" как термин, используемый в настоящем документе, относится к опухоли клеток крови, которая возникает из клеток лимфоидного или миелоидного происхождения и является синонимом термина "опухоль жидких тканей". Гемобластозы могут быть классифицированы как индолентные, умеренно агрессивные или высокоагрессивные.

"Лимфома", как используется в настоящем документе, представляет собой гематологическое злокачественное образование, которое обычно развивается из гиперпролиферирующих клеток лимфоидного происхождения. Лимфомы иногда подразделяют на два основных типа: лимфома Ходжкина (HL) и неходжкинская лимфома (NHL). Лимфомы также могут быть классифицированы в соответствии с видом

нормальных клеток, которые наиболее похожи на раковые клетки в соответствии с фенотипическими, молекулярными или цитогенными маркерами. Подтипы лимфомы в соответствии с этой классификацией включают без ограничения зрелые В-клеточные новообразования, зрелые Т-клеточные и естественные киллерные (НК) клеточные новообразования, лимфому Ходжкина и связанные с иммунодефицитом лимфопролиферативные нарушения. К подтипам лимфомы относятся лимфобластная из Т-клеток предшественников лимфома (иногда ее называют лимфобластным лейкозом, поскольку Т-клеточные лимфобласты продуцируются в костном мозге), фолликулярная лимфома, диффузная В-крупноклеточная лимфома, лимфома мантийных клеток, В-клеточная хроническая лимфоцитарная лимфома (иногда называемый лейкозом из-за поражения периферической крови), MALT-лимфома, лимфома Беркитта, грибковый микоз и его более агрессивный вариант болезнь Сезари, периферическая Т-клеточная лимфома, не указанная иным образом, нодулярный склероз лимфомы Ходжкина и подтип смешанно-клеточной лимфомы Ходжкина.

"Лейкоз" в качестве термина, используемого в настоящем документе, представляет собой гемобластоз, который обычно развивается из гиперпролиферирующих клеток миелоидного происхождения и включает, без ограничения, острый лимфобластный лейкоз (ALL), острый миелогенный лейкоз (AML), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), хронический миелогенный лейкоз (ХМЛ) и острый моноцитарный лейкоз (АМЛ). Другие лейкозы включают волосатоклеточный лейкоз (HCL), Т-клеточный лимфолейкоз (Т-PLL), крупногранулярный лимфоцитарный лейкоз и Т-клеточный лейкоз взрослых.

Термин "звено кватернизированного лекарственного соединения" или звено кватернизированного тубулизинового лекарственного соединения, как используется в настоящем документе, представляет собой присоединенное тубулизиновое соединение, содержащее третичный амин, (D) или соответствует такому соединению, в котором азот третичного амина присутствует в структуре соединения в виде соли четвертичного амина, и проявляет цитотоксическое, цитостатическое, иммунодепрессивное или противовоспалительное свойство, обычно в отношении клеток млекопитающих, при высвобождении из соединения конъюгата лекарственного соединения с лигандом. В некоторых аспектах звено кватернизированного тубулизинового лекарственного соединения (D⁺) получают путем конденсации азота третичного амина С-концевого компонента тубулизинового соединения с предшественником вторичного линкерного L₀, имеющего подходящую удаляемую группу. В некоторых аспектах тубулизиновое соединение, содержащее третичный амин, превращается в его кватернизованную форму при включении в L_B или L_B'-содержащий фрагмент. В других аспектах С-концевой компонент сначала кватернизируется с остатком тубулизина, а затем добавляется для завершения звена D⁺. Следовательно, такие структуры, как L-L_B-L₀-D⁺ и L_B'-L₀-D⁺ не предполагают какого-либо конкретного метода, в котором бы образовывался D⁺, и не требуется, чтобы реагент, используемый при их образовании, представлял собой лекарство, содержащее третичный амин, но требуется только D⁺ для включения или соответствия структуре соединения, содержащего третичный амин, предназначенного для высвобождения из соединения конъюгата лекарственного соединения с лигандом. Класс лекарственных соединений, содержащих третичный амин, высвобождаемых из LDC по настоящему изобретению, включает тубулизиновые соединения, описанные в настоящем документе, оказывающие цитотоксическое или цитостатическое действие на патологические или другие нежелательные клетки.

Термин "гиперпролиферирующие клетки", как используется в настоящем документе, относится к клеткам, которые характеризуются нежелательной клеточной пролиферацией или аномально высокой скоростью или постоянным состоянием деления клеток, которое не связано или не согласуется с таковым у окружающих нормальных тканей. Обычно гиперпролиферирующие клетки представляют собой клетки млекопитающих. В некоторых аспектах гиперпролиферирующие клетки представляют собой гиперстимулированные иммунные клетки, определенные в настоящем документе, у которых постоянное состояние деления клеток происходит после прекращения стимула, который мог первоначально вызывать изменение в их клеточном делении. В других аспектах гиперпролиферирующие клетки представляют собой трансформированные нормальные клетки или раковые клетки, и их неконтролируемое и прогрессирующее состояние клеточной пролиферации может привести к опухоли, которая является доброкачественной, потенциально злокачественной (предраковой) или явно злокачественной. Условия гиперпролиферации, возникающие из трансформированных нормальных клеток или раковых клеток, включают в себя, но не ограничиваются ими, условия, характеризующиеся как предраковое состояние, гиперплазия, дисплазия, аденома, саркома, бластома, рак, лимфома, лейкоз или папиллома. Предраковые заболевания обычно определяются как поражения, которые показывают гистологические изменения, связанные с повышенным риском развития злокачественного новообразования и иногда имеют некоторые, но не все, молекулярные и фенотипические свойства, которые характеризуют злокачественное новообразование. Связанные с гормонами или гормоночувствительные предраковые состояния включают интраэпителиальную неоплазию предстательной железы (PIN), особенно PIN высокого уровня (HGPN), атипичную мелкоацинарную пролиферацию (ASAP), дисплазию шейки матки и протоковый рак *in situ*. Гиперплазия обычно относится к пролиферации клеток внутри органа или ткани за пределами того, что обычно наблюдается, что может привести к значительному увеличению органа или образованию доброкачественной опухоли или роста. Гиперплазия включает, но не ограничивается этим, гиперплазию эндометрия

(эндометриоз), доброкачественную гиперплазию предстательной железы и протоковую гиперплазию.

"Нормальные клетки", как используется в настоящем документе, относятся к клеткам, подвергающимся согласованному делению клеток, связанному с поддержанием целостности клеток нормальной ткани или пополнением циркулирующих лимфатических или кровяных клеток, что необходимо для регулируемой регенерации клеток или для восстановления ткани, требуемым при поражении, или для регулируемого иммунного или воспалительного ответа, возникающего в результате воздействия патогена или другого повреждающего клетки фактора, где вызванное деление клеток или иммунный ответ прекращается после завершения необходимого поддержания, пополнения или очистки от патогена. Нормальные клетки включают нормально пролиферирующие клетки, нормальные покоящиеся клетки и нормально активированные иммунные клетки.

"Нормальные покоящиеся клетки" представляют собой нераковые клетки в состоянии покоя, и они не стимулированные стрессом или митогеном, или являются иммунными клетками, которые обычно неактивны или не были активированы воздействием провоспалительных цитокинов.

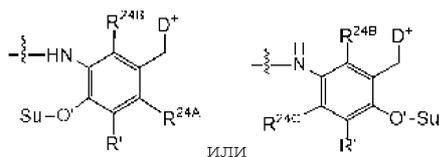
"Гиперстимулированные иммунные клетки" как термин, используемый в настоящем документе, относятся к клеткам, участвующим во врожденном или адаптивном иммунитете, характеризующимся аномально стойкой пролиферацией или ненадлежащим состоянием стимуляции, что возникает после прекращения стимула, который мог первоначально вызвать изменение пролиферации или стимуляции, или что происходит в отсутствие какого-либо внешнего поражения. Часто постоянное распространение или ненадлежащее состояние стимуляции приводит к хроническому состоянию воспаления, характерному для заболевания или болезненного состояния. В некоторых случаях стимул, который первоначально мог вызвать изменение пролиферации или стимуляции, не связан с внешним поражением, а вызывается изнутри, как при аутоиммунном заболевании. В некоторых аспектах гиперстимулированные иммунные клетки представляют собой провоспалительные иммунные клетки, которые были гиперактивированы в результате хронического воздействия провоспалительных цитокинов.

В некоторых аспектах изобретения LDC связывается с антигеном, преимущественно выявляемым провоспалительными иммунными клетками, которые аномально пролиферируются или неправильно активируются. Эти иммунные клетки включают классически активированные макрофаги или Т-хелперные клетки типа 1 (Th1), которые продуцируют интерферон-гамма (INF- γ), интерлейкин-2 (IL-2), интерлейкин-10 (IL-10) и фактор-бета некроза опухоли (TNF- β), которые представляют собой цитокины, участвующие в активации макрофагов и CD8⁺ Т-клеток.

"Гликозидаза" в контексте настоящего описания относится к белку, способному к ферментативному расщеплению гликозидной связи. Обычно гликозидная связь, подлежащая расщеплению, присутствует в расщепляемом звене (W') в LDC. Иногда гликозидаза, действующая на LDC, присутствует внутриклеточно в гиперпролиферирующих клетках, гиперактивированных иммунных клетках или других патологических или нежелательных клетках, к которым LDC имеет преимущественный доступ по сравнению с нормальными клетками, что связано с нацеливающей способностью связывающего с лигандом компонента (то есть лигандного звена). Иногда гликозид более специфичен к патологическим или нежелательным клеткам или преимущественно выделяется патологическими или нежелательными клетками по сравнению с нормальными клетками, или присутствует в большем количестве вблизи патологических или нежелательных по сравнению с количеством в сыворотке. Часто гликозидная связь в W', на которую воздействует гликозидаза, присоединяет аномальный углерод карбогидратного фрагмента (Su) к фенольному кислороду саморазрушающегося (SI) фрагмента, который содержит саморазрушающееся спейсерное звено (Y), так что гликозидное расщепление этой связи запускает 1,4- или 1,6-элиминирование тубулизинового лекарственного соединения, содержащего третичный амин, из четвертичного аминного фрагмента, связанного с бензильным положением SI.

В некоторых аспектах соединения лекарственного соединения с линкером или конъюгаты лекарственного соединения с лигандом состоят из таких групп, как $-A_a-L_p(PEG)-B_b-Y(W')-D^+$ или $-A_a-L_p(PEG)-A_o-Y(W')-D^+$, в которых индексы а и б независимо обозначают 0 или 1, где фрагмент $-Y(W')$ обычно представляет собой фрагмент Su-O', связанный с саморазрушающимся фрагментом Y, определенным в настоящем документе, содержащим A_o или -LP(PEG)-, W' и D⁺, присоединенные к саморазрушающемуся фрагменту таким образом, который обеспечивает саморазрушающееся высвобождение свободного тубулизинового соединения, содержащего третичный амин, под действием гликозидазы. Такие фрагменты $-Y(W')$ иногда называют глюкуроидным звеном, где Su является карбогидратным фрагментом, который не ограничивается такой глюкуроновой кислотой.

Обычно фрагмент Su-O' (где -O' представляет собой кислород гликозидной связи и Su представляет собой карбогидратный фрагмент), связанный с саморазрушающимся фрагментом Y, представлен структурой, описанной для саморазрушающихся фрагментов, где E', связанный с центральным ариленом или гетероариленом саморазрушающегося фрагмента, представляет собой кислород, и где этот гетероатом замещен карбогидратным фрагментом через его аномальный атом углерода. Более типично Su-O'-Y-D⁺ имеет структуру



где R^{24A} , R^{24B} и R^{24C} имеют значения, определенные для R^{24} в разделе краткое описание изобретения, и выбираются таким образом, чтобы электронодонорная способность фенольного -ОН, высвобождаемого из гликозидной связи, чувствительность к селективному расщеплению желаемой гликозидазой гликозидной связи с карбогидратным фрагментом Su, и стабильность промежуточного соединения хинонметида при фрагментации уравнивались способностью к удалению тубулизинового лекарственного соединения, содержащего третичный амин, так чтобы происходило эффективное высвобождение D из D^+ посредством 1,4-или 1,6-элиминирования. Такие структуры Su-O'-Y-, имеющие фрагмент типа PAB или PAB для саморазрушения, являются типичными глюкуронидными звеньями. Когда гликозидная связь связана с карбогидратным фрагментом глюкуроновой кислоты, гликозидаза, способная к ферментативному расщеплению этой гликозидной связи, представляет собой глюкуронидазу.

"Карбогидратный фрагмент", как используется в настоящем документе, относится к моносахариду, имеющему эмпирическую формулу $C_m(H_2O)_n$, где n равно m, содержащему альдегидный фрагмент в своей полуацетальной форме или его производное, где фрагмент $-CH_2OH$ этой формулы был окислен до карбоновой кислоты (например, до глюкуроновой кислоты в результате окисления группы CH_2OH в глюкозе). Обычно карбогидратный фрагмент (Su) представляет собой циклическую гексозу, такую как пираноза, или циклическую пентозу, такую как фураноза. Обычно пираноза представляет собой глюкуронид или гексозу в β -D-конформации. В некоторых случаях пиранозой является β -D-глюкуронидный фрагмент (то есть β -D-глюкуроновая кислота, связанная с саморазрушающейся частью Y через гликозидную связь, которая расщепляется β -глюкуронидазой). Часто карбогидратный фрагмент является незамещенным (например, представляет собой природную циклическую гексозу или циклическую пентозу). В других случаях карбогидратный фрагмент может представлять собой циклическую гексозу или циклическую пентозу, в которой гидроксильная группа удалена или заменена галогеном или низшим алкилом или алкилирована низшим алкилом.

"Протеаза", как определено в настоящем документе, относится к белку, способному к ферментативному расщеплению карбонил-азотной связи, такой как амидная связь, обычно имеющейся в пептиде. Протеазы подразделяются на шесть основных классов: сериновые протеазы, треониновые протеазы, цистеиновые протеазы, протеазы глутаминовой кислоты, протеазы аспарагиновой кислоты и металлопротеазы, названные так по каталитическому остатку в активном сайте, который в первую очередь отвечает за разрыв карбонильной и азотной связи субстрата. Протеазы характеризуются различной специфичностью, которая зависит от идентичности остатков на N-концевой и/или C-концевой стороне карбонил-азотной связи и различных распределений.

Когда W состоит из амидной или другой функциональной группы, содержащей связь карбонил-азот, расщепляемую протеазой, этот сайт расщепления часто ограничивается теми, которые распознаются протеазами, имеющимися в гиперпролиферирующих клетках или гиперстимулированных иммунных клетках, или в клетках, специфичных для окружающей среды, в которой присутствуют гиперпролиферирующие клетки или гиперстимулированные иммунные клетки. В этих случаях протеаза необязательно должна присутствовать преимущественно или обнаруживаться в большем количестве в клетках, на которые нацелена LDC, поскольку LDC будет иметь меньший доступ к тем клеткам, которые не имеют преимущественного наличия целевого фрагмента. В других случаях протеаза преимущественно выделяется патологическими клетками или нормальными клетками, свойственными среде, в которой эти патологические клетки находятся, по сравнению с нормальными клетками окружающей среды, удаленными от участка патологических клеток. Таким образом, в тех случаях, когда выделяется протеаза, обязательно требуется, чтобы протеаза присутствовала преимущественно или находилась в большем количестве вблизи клеток-мишеней для LDC по сравнению с нормальными клетками, не находящимися поблизости от патологических клеток.

При включении в LDC пептид, содержащий W, будет представлять последовательность распознавания к протеазе, которая расщепляет связь карбонил-азот в W для инициирования фрагментации линкерного звена, чтобы вызвать высвобождение лекарственного соединения, содержащего третичный амин, из D^+ . Иногда последовательность распознавания избирательно распознается внутриклеточной протеазой, присутствующей в патологических клетках, к которым LDC имеет предпочтительный доступ по сравнению с нормальными клетками из-за нацеливания на патологические клетки, или преимущественно продуцируется патологическими клетками по сравнению с нормальными клетками, с целью надежной доставки лекарственного соединения к желаемому месту действия. Обычно пептид является устойчивым к циркулирующим протеазам для минимизации преждевременного высвобождения тубулизинового лекарственного соединения и, таким образом, минимизации нежелательного системного воздействия этого соединения. Обычно пептид будет иметь одну или несколько не природных или некласси-

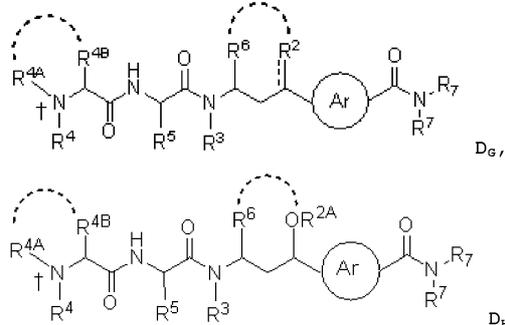
ческих аминокислот в своей последовательности, чтобы обладать такой устойчивостью. Часто амидная связь, которая специфически расщепляется протеазой, продуцируемой патологической клеткой, представляет собой анилид, в котором азот этого анилида представляет собой электронодонорный гетероатом (то есть J), появляющийся из саморазрушающегося фрагмента, имеющего определенные выше структуры. Таким образом, действие протеазы на такую пептидную последовательность в W приводит к высвобождению D⁺ в виде D из линкерного звена посредством 1,4- или 1,6-элиминирования, протекающего через центральный ариленовый или гетероариленовый фрагмент саморазрушающегося фрагмента.

Регуляторные протеазы обычно расположены внутриклеточно и необходимы для регуляции клеточной активности, которая иногда становится aberrантной или дисрегулированной в патологических или других нежелательных клетках. В некоторых случаях, когда W нацелен на протеазу, имеющую преимущественное распределение внутри клетки, эта протеаза является регуляторной протеазой, участвующей в поддержании или пролиферации клеток. В некоторых случаях эти протеазы включают катепсины. Катепсины включают в себя сериновые протеазы, катепсин А, катепсин G, протеазы аспарагиновой кислоты, катепсин D, катепсин E и цистеиновые протеазы, катепсин B, катепсин C, катепсин F, катепсин H, катепсин K, катепсин L1, катепсин L2, катепсин O, катепсин S, катепсин W и катепсин Z.

В других случаях, когда W направлен на протеазу, которая преимущественно распределяется внеклеточно в непосредственной близости от гиперпролиферирующих или гиперстимулированных иммунных клеток из-за преимущественного выделения такими клетками или соседними клетками, выделение которыми свойственно среде гиперпролиферирующих или гиперстимулированных иммунных клеток, эта протеаза обычно является металлопротеазой. Обычно такие протеазы участвуют в ремоделировании тканей, что способствует инвазивности гиперпролиферирующих клеток, или являются результатом нежелательного накопления гиперактивированных иммунных клеток, что приводит к дальнейшему рекрутированию таких клеток.

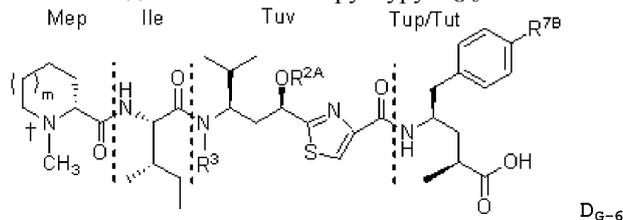
Термин "тубулизиновое лекарственное соединение" или "тубулизиновое соединение", как он используется, представляет собой разрушающий тубулин агент на основе пептидов, обладающий цитотоксической активностью, цитостатической или противовоспалительной активностью, и состоит из одного природного или не природного аминокислотного компонента и трех других природных аминокислотных компонентов, где один из этих компонентов характеризуется центральным 5-членным или 6-членным гетероариленовым фрагментом, а другой компонент обеспечивает третичный амин для включения в звено кватернизированного лекарственного соединения.

Тубулизиновые соединения имеют структуру D_G или D_H



где прямая пунктирная линия указывает на необязательную двойную связь, изогнутая пунктирная связь указывает на необязательную циклизацию, обведенный кружком Ar обозначает арилен или гетероарилен, который имеет 1,3-замещение в углеродном скелете тубулизина и необязательно где-либо замещен, где арилен или гетероарилен и другие переменные группы являются такими, как указано в вариантах осуществления изобретения.

Природные тубулизиновые соединения имеют структуру D_{G-6}



и условно разделены на четыре аминокислотные субзвенья, как показано пунктирными вертикальными линиями, называемыми N-метил-пипеколиновой кислотой (Mep), изолейцином (Ile), тубувалином (Tuv) и либо тубуфенилаланином (Tup, когда R^{7A} представляет собой водород), либо тубутирозином (Tut, когда R^{7A} представляет собой -OH). Существует около дюжины встречающихся в природе тубулизинов, известных в настоящее время под названием тубулизин A-I, тубулизин U, тубулизин V и тубулизин Z, структуры которых обозначены переменными группами для структуры D_{G-6}, определенной в вариантах

осуществления в звеньях кватернизованного лекарственного вещества на основе тубулизина.

Претубулизины имеют структуру D_G или D_H , где R^3 представляет собой $-CH_3$, и R^2 представляет собой водород, и дезметил тубулизины имеют структуру D_G , D_{G-1} , D_{G-6} , D_H или D_{H-1} , в которой R^3 представляет собой водород, и другие структуры тубулизинов представлены вариантами звеньев кватернизованного лекарственного вещества на основе тубулизина, где R^3 представляет собой водород, и где другие переменные группы имеют значения, описанные для тубулизинов. Претубулизины и дезметил тубулизины необязательно включены в определения тубулизинов.

В структурах D_G , D_{G-1} , D_{G-6} , D_H , D_{H-1} и других структурах тубулизина, описанных в настоящем документе, в вариантах осуществления звеньев кватернизованного лекарственного соединения на основе тубулизина, указанный (\dagger) атом азота представляет собой участок кватернизации, когда такие структуры соответствуют или включены в LDC или его предшественник в виде звена кватернизованного тубулизинового лекарственного соединения. При включении в LDC или его предшественник этот азот кватернизируется путем ковалентного связывания с L_O или с L_O в L_B или L_B' -содержащем фрагменте, содержащем L_O . Обычно этот кватернизованный фрагмент D^+ является результатом ковалентного присоединения атома азота третичного аминного фрагмента к бензильному углероду фрагмента типа PAB или PAB в саморазрушающемся спейсерном звене Y в L_O . Структуры других типичных содержащих третичных амин тубулизинов и претубулизинов и способ их включения в LDC в виде D^+ представлены в вариантах осуществления звеньев кватернизованных лекарственных соединений на основе тубулизина.

Примеры способов получения тубулизиновых лекарственных соединений и их структурно-активные связи предложены в работах Shankar et al. "Synthesis and structure-activity relationship studies of novel tubulysin U analogs-effect on cytotoxicity of structural variations in the tubuvaline fragment" *Org. Biomol. Chem.* (2013) 11: 2273-2287; Xiangming et al. "Recent advances in the synthesis of tubulysins" *Mini-Rev. Med. Chem.* (2013) 13: 1572-8; Shankar et al. "Synthesis and cytotoxic evaluation of diastereomers and N-terminal analogs of Tubulysin-U" *Tet. Lett.* (2013) 54: 6137-6141; Shankar et al. "Total synthesis and cytotoxicity evaluation of an oxazole analogue of Tubulysin U" *Synlett* (2011) 2011(12): 1673-6; Raghavan et al. *J. Med. Chem.* (2008) 51: 1530-3; Balasubramanian, R. et al. "Tubulysin analogs incorporating desmethyl and dimethyl tubuphenylalanine derivatives" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2008) 18: 2996-9; и Raghavan et al. "Cytotoxic simplified tubulysin analogues" *J. Med. Chem.* (2008) 51: 1530-3.

Термины "внутриклеточно расщепленный", "внутриклеточное расщепление" и подобные термины, используемые в настоящем документе, относятся к метаболическому процессу или реакции внутри клетки на LDC или тому подобное, посредством чего ковалентное связывание, например, линкером, между четвертичным амином кватернизованного тубулизинового соединения и антителом разрушаются, что приводит к образованию свободного лекарственного соединения, содержащего третичный амин, или другого метаболита конъюгата, диссоциированного из нацеливающего фрагмента внутри клетки. Таким образом, расщепленные фрагменты LDC являются внутриклеточными метаболитами.

"Биодоступность", как используется в настоящем документе, относится к системной доступности (то есть уровням в крови/плазме) данного количества лекарственного соединения, вводимого пациенту. Биодоступность представляет собой абсолютный термин, который указывает параметры как времени (скорости), так и общего количества (степени) лекарственного соединения, которое достигает общего кровообращения из введенной лекарственной формы.

Термин "субъект", используемый в данном описании, относится к человеку, примату, не являющемуся человеком, или млекопитающему, имеющему гиперпролиферацию, воспалительное или иммунное расстройство или склонному к такому расстройству, которое будет иметь положительный эффект от введения эффективного количества LDC. Неограничивающие примеры субъекта включают человека, крысу, мышь, морскую свинку, обезьяну, свинью, козу, корову, лошадь, собаку, кошку, птицу и домашнюю птицу. Как правило, субъектом является человек, не являющийся человеком примат, крыса, мышь или собака.

Термин "ингибировать" или "ингибирование" означает уменьшение на измеримую величину или полное предотвращение. Ингибирование пролиферации гиперпролиферирующих клеток до ADC обычно определяют относительно необработанных клеток (имитируемых несущей средой для лекарственного соединения) в подходящей тест-системе, такой как культура клеток (*in vitro*) или на модели ксенотрансплантата (*in vivo*). Обычно в качестве отрицательного контроля используют LDC, состоящий из нацеливающего фрагмента на антиген, который не присутствует на гиперпролиферирующих клетках или активированных иммуностимулирующих клетках, представляющих интерес.

Термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству антитела или другого лекарственного соединения, эффективного для "лечения" заболевания или расстройства у субъекта или млекопитающего. В случае злокачественного новообразования терапевтически эффективное количество лекарственного соединения может уменьшить число раковых клеток; уменьшить первичный размер опухоли; ингибировать (то есть замедлить до некоторой степени и, предпочтительно, остановить) инфильтрацию раковых клеток в периферические органы; ингибировать (то есть замедлить до некоторой степени и, предпочтительно, остановить) метастазирование опухоли; ингибировать до некоторой степени рост опухоли; и/или облегчить до некоторой степени один или более симптомов, связанных со злокачествен-

ным новообразованием. До некоторой степени лекарственное соединение может подавить рост и/или уничтожить существующие раковые клетки, причем оно может быть цитостатическим и/или цитотоксическим. При лечении рака эффективность можно измерить, например, оценивая время до начала прогрессирования заболевания (TTP) и/или определяя скорость реагирования (RR).

В случае иммунных нарушений, возникающих из-за гиперстимулированных иммунных клеток, терапевтически эффективное количество лекарственного соединения может уменьшить количество гиперстимулированных иммунных клеток, степень их стимуляции и/или инфильтрации в иные нормальные ткани и/или облегчить в некоторой степени один или нескольких симптомов, связанных с дисрегуляцией иммунной системы из-за гиперстимулированных иммунных клеток. Для иммунных нарушений, вызванных гиперстимулированными иммунными клетками, эффективность можно измерить, например, путем оценки одной или нескольких суррогатных точек воспаления, включая один или несколько уровней цитокинов, таких как уровни для IL-1 β , TNF α , INF γ и MCP-1, или количества классически активированных макрофагов.

В некоторых аспектах изобретения конъюгат лекарственного соединения с лигандом связывается с антигеном на поверхности клетки-мишени (то есть гиперпролиферирующей клетки или гиперстимулированной иммунной клетки), и затем конъюгат лекарственного соединения с лигандом помещается внутрь клетки-мишени через опосредованный рецептором эндоцитоз. Попадая внутрь клетки одно или несколько звеньев расщепления в линкерном звене расщепляются, что приводит к высвобождению лекарственного соединения, содержащего третичный амин. Высвобождаемое тубулизиновое лекарственное соединение, содержащее третичный амин, затем может свободно мигрировать в цитозоле и вызывать цитотоксическую или цитостатическую активность, или в случае гиперстимулированных иммунных клеток может альтернативно ингибировать передачу воспалительного сигнала. В другом аспекте изобретения звено кватернизованного лекарственного соединения отщепляется от конъюгата лекарственного соединения с лигандом вне клетки-мишени, но в непосредственной близости от клетки-мишени, так что высвобождаемое тубулизиновое соединение, содержащее третичный амин, впоследствии проникает в клетку, а не высвобождается на удаленных участках.

Термин "носитель", используемый в настоящем документе, относится к разбавителю, адьюванту или эксципиенту, с которым вводится соединение. Фармацевтические наполнители могут быть жидкостями, такими как вода и масла, включая полученные из нефти, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло. Носителями могут являться, например, физиологический раствор, аравийская камедь, желатин, крахмальная паста, тальк, кератин, коллоидный диоксид кремния, мочевины. Кроме того, могут быть использованы вспомогательные, стабилизирующие, загущающие, смазывающие средства и красители. В одном варианте осуществления при введении пациенту соединение или композиции и фармацевтически приемлемые носители являются стерильными. Вода является типичным носителем, когда соединения вводят внутривенно. Физиологические растворы и водные растворы декстрозы и глицерина также можно использовать в качестве жидких носителей, в частности, для растворов для инъекций. Подходящие фармацевтические носители также включают вспомогательные вещества, такие как крахмал, глюкоза, лактоза, сахароза, желатин, солод, рис, мука, мел, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропилен, глицоль, вода и этанол. Фармацевтические композиции, при желании, могут также содержать незначительные количества смачивающих или эмульгирующих средств или pH-буферирующих агентов.

Термины "лечить", "лечение" и им подобные, если иное не следует из контекста, относятся к терапевтическому лечению и профилактическим мерам по предотвращению рецидива, где целью является ингибирование или замедление (уменьшение) нежелательных физиологических изменений или расстройств, таких как развитие или распространение рака или повреждения тканей от хронического воспаления. Обычно благоприятные или желательные клинические результаты включают, без ограничения, ослабление одного или нескольких симптомов, уменьшение степени заболевания, стабилизированное (то есть не ухудшающееся) состояние заболевания, задержку или замедление прогрессирования заболевания, облегчение или временное ослабление болезненного состояния и ремиссию (частичную или полную), как обнаруживаемые, так и необнаруживаемые. "Лечение" также может означать продление выживаемости или улучшение качества жизни и тому подобное по сравнению с ожидаемой выживаемостью или качеством жизни, если нет лечения. Нуждающиеся в лечении включают тех, у кого уже имеется состояние или расстройство, а также тех, кто склонен иметь это состояние или расстройство.

В контексте злокачественного новообразования или болезненного состояния, связанного с хроническим воспалением, термин "лечение" включает любое или все варианты ингибирования роста опухолевых клеток, раковых клеток или опухолей; ингибирование репликации опухолевых клеток или раковых клеток, ингибирование распространения опухолевых клеток или раковых клеток, уменьшение общей опухолевой нагрузки или уменьшение количества раковых клеток, ингибирование репликации или стимуляции провоспалительных иммунных клеток, ингибирование или уменьшение хронического воспалительного состояния разрегулированной иммунной системы или уменьшение частоты и/или интенсивности внезапных обострений, испытываемых субъектами с аутоиммунным состоянием или заболеванием,

или ослабление одного или нескольких симптомов, связанных с раком или гипериммунным стимулированным заболеванием или состоянием.

Фраза "фармацевтически приемлемая соль", как используется в настоящем документе, относится к фармацевтически приемлемым органическим или неорганическим солям описанного в настоящем документе соединения. Соединение обычно содержит по меньшей мере одну аминогруппу, и, соответственно, с этой аминогруппой могут быть образованы соли присоединения кислоты. Другие примеры солей включают, но не ограничиваются ими, сульфат, цитрат, ацетат, оксалат, хлорид, бромид, йодид, нитрат, бисульфат, фосфат, кислый фосфат, изоникотинат, лактат, салицилат, кислый цитрат, тартрат, олеат, таннат, пантотенат, битартрат, аскорбат, сукцинат, малеат, гентизинат, фумарат, глюконат, глюкуронат, сахарат, формиат, бензоат, глутамат, метансульфонат, этансульфонат, бензолсульфонат, п-толуолсульфонат и памоат (то есть 1,1'-метилден-бис-(2-гидрокси-3-нафтоат)).

Фармацевтически приемлемая соль может иметь включение другой молекулы, такой как ацетатный ион, сукцинат-ион или другой противоион. Противоион может представлять собой любой органический или неорганический фрагмент, который стабилизирует заряд на исходном соединении. Кроме того, фармацевтически приемлемая соль может иметь более одного заряженного атома в своей структуре. В случае, когда частью фармацевтически приемлемой соли являются несколько заряженных атомов, они могут иметь несколько противоионов. Следовательно, фармацевтически приемлемая соль может иметь один или несколько заряженных атомов и/или один или несколько противоионов. Обычно звено кватернизованного тубулизинового лекарственного соединения находится в виде фармацевтически приемлемой соли.

Обычно фармацевтически приемлемая соль выбирается из тех, которые описаны в обзоре P. H. Stahl and C.G. Wermuth, editors, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use, Weinheim/Zürich: Wiley-VCH/VHCA, 2002. Выбор соли зависит от свойств, которые должен проявлять лекарственный продукт, включая адекватную растворимость в воде при различных значениях pH, в зависимости от предполагаемого пути(путей) введения, кристалличности с характеристиками текучести и низкой гигроскопичности (то есть поглощения воды в зависимости от относительной влажности), подходящей обработки и требуемого срока годности, определяемого химической и твердотельной стабильностью в условиях ускоренной деградации (то есть определение деградации или изменений в твердом состоянии при хранении при 40°C и относительной влажности 75%).

Термины "нагрузка", "лекарственная нагрузка", "загрузка полезной нагрузки" или подобные термины обозначают или относятся к среднему количеству полезных нагрузок ("полезная нагрузка" и "полезные нагрузки" используются в настоящем документе взаимозаменяемо с "лекарственным соединением" и "лекарственными соединениями") в популяции LDC (то есть композиция LDC, отличающихся по количеству присоединенных звеньев D⁺, имеющих одинаковые или разные места присоединения, но в остальном по существу являющихся идентичными по структуре). Лекарственная нагрузка может составлять от 1 до 24 лекарственных соединений на нацеливающийся фрагмент. Это иногда называют как DAR или отношение лекарственных соединений к нацеливающему фрагменту. Композиции LDC, описанные в настоящем документе, обычно имеют DAR в интервале 1-24 или 1-20, а в некоторых аспектах в интервале 1-8, 2-8, 2-6, 2-5 и 2-4. Типичные значения DAR составляют около 2, около 4, около 6 и около 8. Среднее количество лекарственных средств на антитело или значение DAR может быть охарактеризовано обычными методами, такими как УФ/видимая спектроскопия, масс-спектрометрия, анализ ELISA и ВЭЖХ. Количественное значение DAR также может быть определено. В некоторых случаях разделение, очистка и характеристика однородных LDC, имеющих конкретное значение DAR, могут быть достигнуты с помощью таких средств, как обращенно-фазовая ВЭЖХ или электрофорез. DAR может быть ограничен количеством сайтов присоединения на нацеливающем фрагменте.

Например, когда нацеливающий фрагмент представляет собой антитело, а сайт присоединения представляет собой цистеинтиол, антитело может иметь только одну или несколько достаточно реакционноспособных тиоловых групп, которые реагируют с L_B'-содержащим фрагментом. Иногда тиол цистеина представляет собой тиоловую группу, полученную из остатка цистеина, который участвует в межцепочечной дисульфидной связи. В других случаях тиол цистеина представляет собой тиоловую группу остатка цистеина, которая не участвовала в дисульфидной связи между цепями, но была введена с помощью генной инженерии. Обычно меньше, чем теоретический максимум D⁺ фрагментов конъюгируется с антителом в процессе реакции конъюгации. Например, антитело может содержать много лизиновых остатков, которые не вступают в реакцию с L_B'-содержащим фрагментом, поскольку только наиболее реакционноспособные лизиновые группы могут взаимодействовать с этим фрагментом.

I. Варианты осуществления.

В настоящем документе представлены конъюгаты лекарственных соединений с лигандом (LDC), способные к преимущественной доставке тубулизинового соединения, содержащего третичный амин, в гиперпролиферативные клетки или гиперактивированные иммунные клетки или в окрестности таких патологических клеток по сравнению с нормальными клетками или средой нормальных клеток, где патологические клетки обычно не присутствуют и, таким образом, могут быть использованы для лечения заболеваний и состояний, характеризующихся этими патологическими клетками.

1.1. Общие положения.

LDC имеет три основных компонента: (1) лигандное звено, соответствующее или включающее нацеливающий агент, который селективно связывается с целевым фрагментом, присутствующим в патологических клетках или других нежелательных клетках или поблизости от них, по сравнению с другими фрагментами, присутствующими на, в пределах или вблизи нормальных клеток, где эти патологические или нежелательные клетки обычно отсутствуют или присутствуют в патологических или других нежелательных клетках или поблизости от них в большем количестве по сравнению с нормальными клетками или средой вокруг нормальных клеток, в которой патологические или нежелательные клетки, как правило, отсутствуют, (2) звено кватернизованного тубулизинового лекарственного соединения (D^+), включающее или соответствующее структуре тубулизинового соединения, содержащего третичный амин, путем кватернизации третичного атома азота амина, и (3) линкерное звено, соединяющее D^+ с лигандным звеном и способное к условному высвобождению свободного тубулизинового лекарственного соединения, содержащего третичный амин внутри или вблизи патологических или нежелательных клеток, на которые нацелено лигандное звено.

Тубулизиновое соединение, предназначенное для использования по настоящему изобретению, представляет собой соединение, которое в первую очередь или селективно оказывает свое влияние (например, цитотоксическое, цитостатическое действие) на клетки млекопитающих по сравнению с прокариотическими клетками. В некоторых аспектах целевой фрагмент представляет собой эпитоп внеклеточного мембранного белка, который преимущественно обнаруживается на патологических или нежелательных клетках по сравнению с нормальными клетками. Специфичность по отношению к патологическим или нежелательным клеткам (то есть к клеткам-мишеням) обусловлена лигандным звеном (L) LDC, в которую включен D. В дополнение к L и D^+ , LDC, нацеленный на патологические или нежелательные клетки, имеет линкерное звено, которое ковалентно соединяет звено кватернизованного тубулизинового лекарственного соединения с лигандным звеном. В некоторых аспектах лигандное звено состоит из антитела, которое представляет собой типичный нацеливающий агент, распознающий патологические клетки млекопитающих.

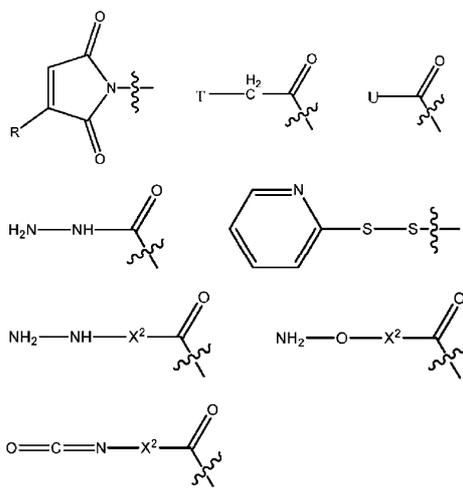
В некоторых аспектах целевой фрагмент, распознаваемый лигандным звеном, представляет собой эпитоп внеклеточного мембранного белка, который преимущественно обнаруживается на патологических или нежелательных клетках по сравнению с нормальными клетками. В некоторых из этих аспектов, а также в качестве дополнительного требования, мембранный белок, на который нацелено лигандное звено, должен иметь достаточное количество копий и быть интернализированным при связывании LDC, чтобы внутриклеточно доставить эффективное количество цитотоксического, цитостатического, иммуносупрессивного или противовоспалительного тубулизинового соединения, предпочтительно, к патологическим клеткам.

Тубулизиновое соединение, содержащее третичный амин, обычно проявляет неблагоприятные периферические эффекты при введении в неконъюгированном виде. Следовательно, это соединение должно селективно доставляться его LDC, чтобы линкерный блок LDC не был просто пассивной структурой, которая служит мостом между целевым лигандным блоком и D^+ , из которого высвобождается тубулизиновое соединение, но должен быть аккуратно спроектирован так, чтобы быть стабильным от участка введения LDC до его доставки в целевой сайт, а затем должен эффективно высвобождать активное тубулизиновое соединение. Чтобы выполнить эту задачу, нацеливающий агент подвергают взаимодействию с L_B -содержащим фрагментом с образованием L_B -содержащего фрагмента в конъюгате лекарственного соединения с линкером. Когда L_B -содержащий фрагмент образуется таким образом, полученный конъюгат лекарственного соединения с лигандом обычно состоит из нацеливающего фрагмента (в виде лигандного звена), ковалентно-связывающего лигандного звена (L_B), также называемого главным линкером (L_R), кватернизованного тубулизинового соединения (D^+) и вторичного линкера (L_O), находящегося между L_B and D^+ .

1.1. Главный линкер (L_R).

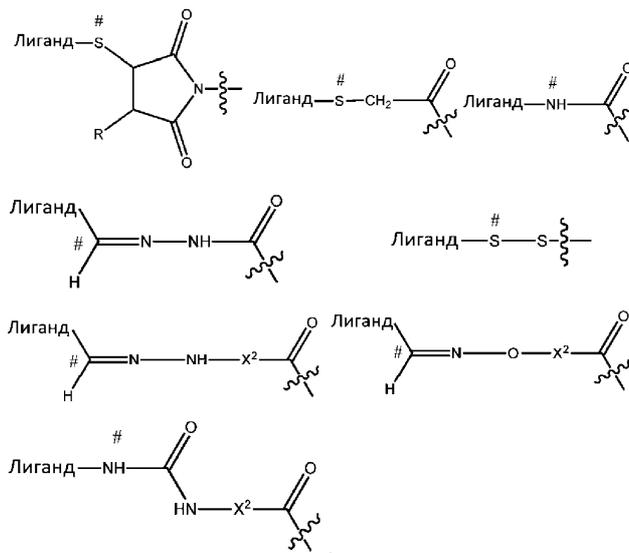
Главный линкер (L_R) представляет собой ковалентно связывающее лигандное звено (L_B) или предшественник ковалентно связывающего лигандного звена (L_B') и обычно присутствует в качестве компонента линкерного звена в LDC или L_B' -содержащем фрагменте, таком как $L_B'-L_O$ в соединении лекарственного соединения с линкером, имеющим формулу $L_B'-L_O-D^+$. Главный линкер L_B' -содержащего фрагмента состоит из функциональной группы, способной взаимодействовать с электрофильной или нуклеофильной функциональной группой нацеливающего агента. В результате этого взаимодействия нацеливающий агент становится ковалентно связанным в виде лигандного звена с главным линкером через L_B , где главным линкером теперь является L_B , имеющий функциональную группу, полученную из L_B' .

В некоторых вариантах осуществления L_B в L_B' -содержащем фрагменте имеет одну из следующих структур:



где R представляет собой водород или C₁-C₆-необязательно замещенный алкил; T представляет собой -Cl, -Br, -I, -O-метил, -O-тозил или другую сульфатную удаляемую группу; U представляет собой -F, -Cl, -Br, -I, -O-N-сукцинимид, -O-(4-нитрофенил), -O-пентафторфенил, тетрафторфенил или -O-C(=O)-OR⁵⁷; X² представляет собой C₁-C₁₀-алкилен, C₃-C₈-карбоцикл, -O-(C₁-C₆-алкил), -арилен-, C₁-C₁₀-алкилен-арилен, -арилен-C₁-C₁₀-алкилен, -C₁-C₁₀-алкилен-(C₃-C₆-карбоцикл)-, -(C₃-C₈-карбоцикл)-C₁-C₁₀-алкилен-, C₃-C₈-гетероцикл, -C₁-C₁₀-алкилен-(C₃-C₈-гетероцикло)-, -C₃-C₈-гетероцикло)-C₁-C₁₀-алкилен, -(CH₂CH₂O)_u или -(CH₂CH₂O)_u-CH₂-, где u обозначает целое число в диапазоне от 1 до 10 и R⁵⁷ представляет собой C₁-C₆-алкил или арил; и где волнистая линия обозначает ковалентное присоединение к суб-звену L₀.

При взаимодействии с электрофилом или нуклеофилом нацеливающий агент L_B' превращается во фрагмент лиганд-L_B, как проиллюстрировано ниже, где произошло одно такое взаимодействие:



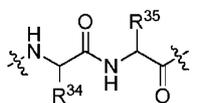
где отмеченный (#) атом является производным реакционноспособного фрагмента лиганда и X² имеет значения, определенные выше.

1.2. Вторичные линкеры (L₀).

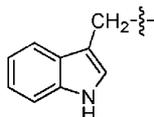
Вторичные линкеры в LDC или его L_B'-содержащем предшественнике представляют собой органический фрагмент, расположенный между главным линкером (L_R) и кватернизованным лекарственным средством (D⁺), который обеспечивает обработку расщепляемого звена (W или W') в линкерном звене LDC после селективного связывания нацеливающего фрагмента LDC с его родственным целевым фрагментом, присутствующим на, внутри или вблизи гиперпролиферирующих клеток, гиперактивированных иммунных клеток или других патологических или нежелательных клеток, на которые нацелена LDC. В некоторых вариантах осуществления W предоставляет субстрат для протеазы, которая присутствует в гиперпролиферирующих клетках или гиперактивированных иммунных клетках. Предпочтительными являются такие звенья расщепления, которые не распознаются протеазами, выделяемыми нормальными клетками, которые обычно не присутствуют в гиперпролиферирующих клетках или гиперактивированных иммунных клетках, или являются субстратами для протеаз, имеющих системное кровообращение, чтобы минимизировать нецелевое высвобождение лекарственного соединения или системное воздействие лекарственного соединения, содержащего третичный амин, из-за его преждевременного высвобож-

дения из LDC. Более предпочтительными являются такие протеазы, которые являются регуляторными протеазами или протеазами, имеющимися в лизосомах, которые представляют собой клеточные компартменты, в которые доставляется LDC при интернализации рецептора на поверхности мембраны, с которым LDC специфически связывается. Регуляторные и лизосомальные протеазы являются типичными внутриклеточными протеазами.

В одном варианте осуществления W во втором линкере включает или состоит из дипептидного фрагмента, имеющего структуру



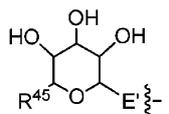
где R²⁹ представляет собой бензил, метил, изопропил, изобутил, втор-бутил, -CH(OH)CH₃, или имеет следующую структуру:



и R³⁰ представляет собой метил, -(CH₂)₄-NH₂, -(CH₂)₃NH(C=O)NH₂, -(CH₂)₃NH(C=NH)NH₂ или -(CH₂)₂CO₂H, где дипептидный фрагмент относится к сайту распознавания регуляторной или лизосомальной протеазы.

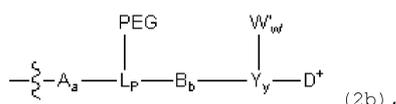
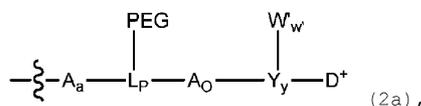
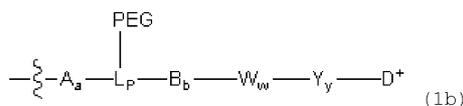
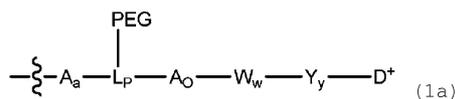
В предпочтительных воплощениях дипептид представляет собой валин-аланин (Val-Ala). В другом предпочтительном варианте осуществления W содержит или состоит из дипептида валин-цитруллин (Val-Cit). В другом предпочтительном воплощении W образован или состоит из дипептида треонин-глутаминовая кислота (Thr-Glu). В других вариантах осуществления W представляет собой одну природную L-аминокислоту, предпочтительно L-глутамат или L-лизин. В некоторых из этих вариантов осуществления дипептидный фрагмент или L-аминокислота ковалентно присоединены к саморазрушающемуся компоненту (SI) Y через амидную связь, образованную между функциональной группой карбоновой кислоты аланина или цитруллина или функциональной группой альфа-карбоновой кислоты глутамата и арильной или гетероарильной аминогруппой SI. Таким образом, в этих вариантах осуществления SI состоит из ариламинового или гетероариламинового фрагмента, и функциональная группа вышеупомянутой карбоновой кислоты дипептидного фрагмента образует анилидную связь с азотом амина этого ариламинового фрагмента.

В другом варианте осуществления изобретения W' во вторичном линкере состоит из карбогидратного фрагмента, связанного с гликозидом, имеющего сайт распознавания для внутриклеточно расположенной гликозидазы. В таких вариантах осуществления W' представляет собой карбогидратный фрагмент, связанный с E' через гликозидную связь, где W'-E' предоставляет сайт распознавания для отщепления W' от E', и где E' представляет собой необязательно замещенный гетероатом, который входит в состав саморазрушающегося спейсерного звена, к которому присоединен W' в глюкуронидном звене формулы -Y(W')-. В таких вариантах осуществления W'-E'- обычно имеет следующую структуру:



где R⁴⁵ представляет собой -CH₂OH или -CO₂H и E' представляет собой гетероатомный фрагмент, такой как -O-, -S-или -NH-, связанный с карбогидратным фрагментом и саморазрушающимся фрагментом из Y (как указано волнистой линией), где связь с карбогидратным фрагментом предоставляет сайт распознавания для гликозидазы. Предпочтительно, этот сайт распознается лизосомальной гликозидазой. В некоторых вариантах осуществления гликозидаза представляет собой глюкуронидазу, когда R⁴⁵ представляет собой -CO₂H.

Вторичное линкерное звено (LO) в дополнение к W или W' также состоит из спейсерного звена (Y) и фрагмента -L_p(PEG)- и может дополнительно включать второе расширяющее (A₀) или разветвляющее звено (B), расположенное относительно W/W' в линейной отношении, представленном структурами L₀-D⁺ из (1a) и (1b), или в ортогональном отношении, представленном структурами L₀-D⁺ из (2a) и (2b), соответственно

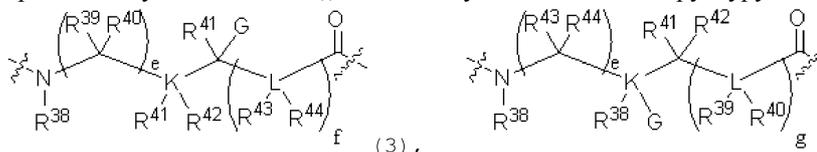


где A_a представляет собой первое необязательное расширяющее звено, A_O представляет собой второе необязательное расширяющее звено; W_w и W'_w представляют собой отщепляемые звенья; и Y_y представляет собой спейсерное звено, где индексы a и b независимо обозначают 0 или 1, индекс w или w' обозначает 1, и индекс y обозначает 1. Когда индекс a обозначает 1, волнистая линия перед A_a указывает ковалентное связывание этого субзвена L_O с L_B' или L_B (образованного из L_B' после его включения в LDC). Когда индекс a обозначает 0, эта волнистая линия указывает ковалентное связывание L_B' или L_B с фрагментом $-L_P(\text{PEG})-$ в структуре (1a), (1b) (2a) или (2b).

В предпочтительных вариантах осуществления индекс a обозначает 1. В других предпочтительных вариантах осуществления $-L_O-D^+$ имеет следующую структуру (2a) или 2 (b), более предпочтительно, когда A_O присутствует, или индекс b обозначает 0. В конкретных предпочтительных вариантах осуществления $-L_O-D^+$ имеет следующую структуру (2a), где A_O присутствует, и индекс a обозначает 1, так что A также присутствует.

Структуры некоторых примеров фрагментов A/A_O , W и Y в L_O и их заместители описаны в WO 2004/010957, WO 2007/038658, патентах США № 6214345, 7498298, 7968687 и 8163888, и публикациях патентов США № 2009-0111756, 2009-0018086 и 2009-0274713, которые включены в настоящий документ в виде ссылки.

В некоторых вариантах осуществления A_O , A или их субзвенья имеют структуру



(4),

где волнистые линии указывают ковалентное связывание в остатке L_O , и где для A_O волнистая линия к карбонильному фрагменту в любой структуре в (1a) представляет собой точку присоединения к аминоконцу дипептидного фрагмента или природной L-аминокислоты, содержащей W , когда Y расположен линейно по отношению к Y и D^+ , или в (2b) представляет собой точку присоединения к саморазрушающемуся фрагменту Y , описанному в настоящем документе, в котором W' связан с Y , и расположен ортогонально по отношению к Y и D^+ , и где волнистая линия к аминному фрагменту любой структуры представляет собой для (1a) или (2a) точку присоединения к карбонилсодержащей функциональной группе L_P в $-L_P(\text{PEG})$;

где K и L , независимо, представляют собой C , N , O или S , при условии, что, когда K или L представляет собой O или S , R^{41} и R^{42} - K или R^{43} и R^{44} - L отсутствуют, и, когда K или L представляет собой N , один из R^{41} , R^{42} - K или один из R^{42} , R^{43} - L отсутствуют, и при условии, что два соседних L не являются независимо выбранными в виде N , O или S ;

где индексы e и f являются независимо выбранными целыми числами, которые варьируются от 0 до 12, и индекс g обозначает целое число в диапазоне от 1 до 12;

где G представляет собой водород, необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, $-\text{OH}$, $-\text{OR}^{\text{PR}}$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CO}_2\text{R}^{\text{PR}}$, где R^{PR} представляет собой соответствующую защитную группу, $-\text{N}(\text{R}^{\text{PR}})(\text{R}^{\text{PR}})$, где R^{PR} независимо представляют собой защитную группу, или R^{PR} вместе образуют соответствующую защитную группу, или $-\text{N}(\text{R}^{45})(\text{R}^{46})$, где один из R^{45} , R^{46} представляет собой водород или R^{PR} , где R^{PR} представляет собой соответствующую защитную группу, и другой представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил;

где R^{38} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил; R^{39} - R^{44} , независимо, представляют собой водород, необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил, или оба R^{39} , R^{40} вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют C_3 - C_6 -циклоалкил, или R^{41} , R^{42} вместе с K , к которому они присоединены,

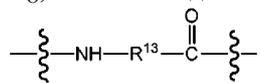
когда К представляет собой С или R⁴³, R⁴⁴ вместе с L, к которому они присоединены, когда L представляет собой С, образуют С₃-С₆-циклоалкил, или R⁴⁰ и R⁴¹, или R⁴⁰ и R⁴³, или R⁴¹ и R⁴³ вместе с атомом углерода или гетероатомом, к которому они присоединены, и атомами, промежуточными между этими атомами углерода и/или гетероатомами, образуют 5- или 6-членный циклоалкил или гетероциклоалкил, при условии, что, когда К представляет собой О или S, R⁴¹ и R⁴² отсутствуют, когда К представляет собой N, один из R⁴¹, R⁴² отсутствует, когда L представляет собой О или S, R⁴³ и R⁴⁴ отсутствуют, и, когда L представляет собой N, один из R⁴³, R⁴⁴ отсутствует.

В некоторых вариантах осуществления R³⁸ представляет собой водород. В других вариантах осуществления -K(R⁴¹)(R⁴²) представляет собой -(CH₂)-. В других вариантах осуществления в каждом случае, когда индекс e не представляет собой О, R³⁹ и R⁴⁰ представляют собой водород. В других вариантах осуществления в каждом случае когда индекс f не представляет собой О, L(R⁴³)(R⁴⁴)- представляет собой -CH₂-.

В предпочтительных вариантах осуществления G представляет собой -CO₂H. В других предпочтительных вариантах осуществления K и/или L представляют собой С. В других предпочтительных вариантах осуществления индекс e или f обозначает 0. В еще других предпочтительных вариантах осуществления e+f обозначает целое число в диапазоне от 1 до 4.

В некоторых вариантах осуществления A₀, A или их подзвено имеет следующую структуру -NH-C₁-C₁₀-алкилен-C(=O)-, -NH-C₁-C₁₀-алкилен-NH-C(=O)-C₁-C₁₀-алкилен-C(=O)-, -NH-C₁-C₁₀-алкилен-C(=O)-NH-C₁-C₁₀-алкилен (C=O)-, -NH-(CH₂CH₂O)₅-CH₂(C=O)-, -NH-(C₃-C₈-карбоцикло)(C=O)-, -NH-(арилен)-C(=O)- и -NH-(C₃-C₈-гетероцикло-)C(=O).

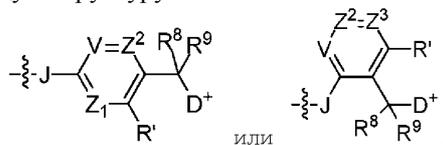
В других вариантах осуществления A₀, A или их подзвено имеют следующую структуру:



где R¹³ представляет собой -C₁-C₁₀-алкилен-, -C₃-C₈-карбоцикло-, -арилен-, -C₁-C₃₀-гетероалкилен-, -C₃-C₈-гетероцикло-, -C₁-C₁₀-алкилен-арилен-, арил-С₁-C₁₀-алкилен-, -C₁-C₁₀-алкилен-(C₃-C₈-карбоцикло)-, -(C₃-C₈-карбоцикло)-C₁-C₁₀-алкилен-, -C₁-C₁₀-алкилен-(C₃-C₈-гетероцикло)-, -(C₃-C₈-гетероцикло)-C₁-C₁₀-алкилен-, -(CH₂CH₂O)₁₋₁₀-(CH₂)₁₋₃- или -(CH₂CH₂NH)₁₋₁₀-(CH₂)₁₋₃-. В некоторых вариантах осуществления R¹³ представляет собой -C₁-C₁₀-алкилен- или -C₁-C₃₀-гетероалкилен-. В некоторых вариантах осуществления R¹³ представляет собой -C₁-C₁₀-алкилен-, -(CH₂CH₂O)₁₋₁₀-(CH₂)₁₋₃- или -(CH₂CH₂NH)₁₋₁₀-(CH₂)₁₋₃-. В некоторых вариантах осуществления R¹³ представляет собой -C₁-C₁₀-алкилен-полиэтилен гликоль или полиэтиленимин.

В более предпочтительных вариантах осуществления A₀, A или их подзвено соответствуют по структуре или представляют собой остаток альфа-амино кислотного-, бета-амино кислотного фрагмента или другую амин-содержащую кислоту. Другими вариантами осуществления для A в виде одного звена и подзвеньев A₁₋₄ для A описаны в вариантах осуществления для линкерных звеньев, обладающих формулой L_R-L_O.

В некоторых вариантах осуществления спейсерные звенья способны подвергаться реакции 1,4- или 1,6-элиминирования после ферментативной обработки W, ковалентно связанной с Y (то есть Y включает саморазрушающееся спейсерное звено). В некоторых вариантах осуществления Y-D⁺, расположенный линейно с W в L_O, имеет следующую структуру:

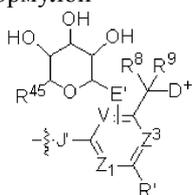


где V, Z¹, Z² и Z³, независимо, представляют собой -C(R²⁴)= или -N=; U представляет собой -O-, -S- или -N(R²⁵)-; R²⁴, независимо, представляют собой водород, галоген, -NO₂, -CN, OR²⁵, -SR²⁶, -N(R²⁷)(R²⁸), необязательно замещенный С₁-С₆-алкил или -C(R²⁹)=C(R³⁰)-R³¹, где R²⁵ представляет собой водород, необязательно замещенный С₁-С₆-алкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил, R²⁶ представляет собой необязательно замещенный С₁-С₆-алкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил, R²⁷ и R²⁸, независимо, представляют собой водород, необязательно замещенный С₁-С₆-алкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил, или оба, R²⁷ и R²⁸ вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют 5- или 6-членный гетероцикл, R²⁹ и R³⁰, независимо, представляют собой водород или необязательно замещенный С₁-С₆-алкил, и R³¹ представляет собой водород, необязательно замещенный С₁-С₆-алкил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный гетероарил, -C(=O)OR³² или -C(=O)NR³², где R³² представляет собой водород, необязательно замещенный С₁-С₆-алкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил, R⁸ и R⁹, независимо, представляют собой водород или необязательно замещенный С₁-С₆-алкил; и R¹ представляет собой водород или представляет собой галоген, -NO₂, -CN или другую электроноакцепторную группу или представляет собой электронодонорную группу, при условии, что не более двух R²⁴ являются иными, чем водород; где J представляет собой -O-, S-или

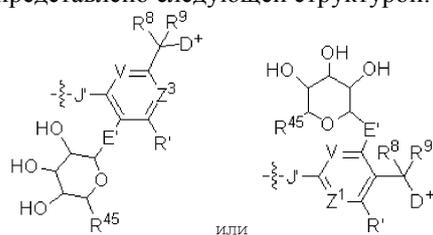
$-N(R^{33})-$, где R^{33} представляет собой водород или метил;

где волнистая линия к J представляет собой ковалентное связывание J, содержащего функциональную группу W, которая ингибирует электронодонорную способность J в достаточной степени для стабилизации (гетеро) ариленовой части SI перед 1,4- или 1,6-элиминированием, и где ферментативная обработка W приводит к ингибированию этой способности вызывать элиминирование, чтобы высвободить D^+ , связанный с Y, в качестве тубулизинового лекарственного соединения, содержащего третичный амин (например, когда J связан с карбонильной частью карбонилсодержащей функциональной группы W);

В других вариантах осуществления W' и Y расположены ортогонально в L_O (то есть представляют собой $-Y(W')$ в линкерном звене), где SI в Y связан со связанным гликозидной связью карбогидратным фрагментом имеющий сайт распознавания для гликозидазы, где ортогональное расположение с участием SI в Y обычно представлено структурной формулой



где E' присоединен к одному из V, Z^1 , Z^3 , при условии, что другой V, Z^1 , Z^2 (то есть не связанный с E') определяется как $=C(R^{24})-$ или $=N-$. В предпочтительных вариантах осуществления ортогональное расположение с участием SI в Y представлено следующей структурой:

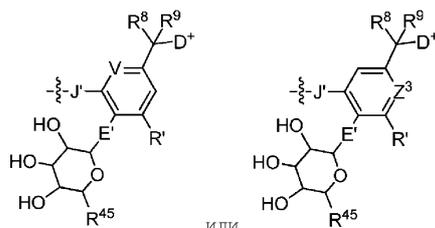


где V, Z^1 и Z^3 , независимо, представляют собой $-C(R^{24})=$ или $=N=$; R^{24} , независимо, представляют собой водород, галоген, $-NO_2$, $-CN$, $-OR^{25}$, $-SR^{26}$, $-N(R^{27})(R^{28})$, $-C(R^{29})=C(R^{30})-R^{31}$ или необязательно замещенный C_1-C_6 ;

где R^{25} представляет собой водород, необязательно замещенный C_1-C_6 -алкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил; R^{26} представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 -алкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил, и R^{27} и R^{28} , независимо, представляют собой водород, необязательно замещенный C_1-C_6 -алкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил, или оба R^{27} и R^{28} вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют или обозначают 5- или 6-членный гетероцикл, R^{29} и R^{30} , независимо, представляют собой водород или необязательно замещенный C_1-C_6 -алкил, и R^{31} представляет собой водород, необязательно замещенный C_1-C_6 -алкил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный гетероарил, $-CN$, $C(=O)OR^{32}$ или $-C(=O)NR^{32}$; где R^{32} представляет собой водород, необязательно замещенный C_1-C_6 -алкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил;

R^8 и R^9 , независимо, представляют собой водород или необязательно замещенный C_1-C_6 -алкил; R' представляет собой водород или представляет собой галоген, $-NO_2$, $-CN$ или другую электроноакцепторную группу или представляет собой электроноакцепторную группу; R^{45} представляет собой $-CH_2OH$, $-CO_2H$; E' представляет собой $-O-$ или $-NH-$; J' представляет собой $-NH-$; и D^+ имеет значения, определенные в вариантах осуществления, описанных для звеньев кватернизированных лекарственных веществ.

В более предпочтительных вариантах осуществления ортогональное расположение с участием SI в Y имеет следующую структуру:



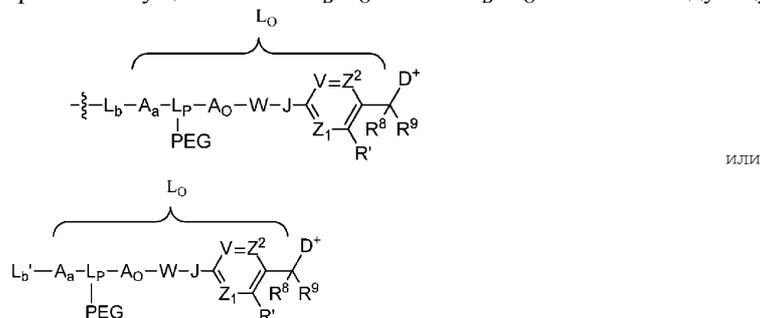
В предпочтительных вариантах осуществления $-E'$ представляет собой $-O-$ или $-NH-$ и V или Z^3 представляет собой $=C(R^{24})$, где R^{24} представляет собой водород или электроноакцепторную группу. В других предпочтительных вариантах осуществления R^8 и R^9 представляют собой водород и V, Z^1 или Z^2 представляет собой $=CH-V$ других предпочтительных вариантах осуществления $-J'$ представляет собой $-NH$, V, Z^1 или Z^2 представляет собой $=CH-$ и R' представляет собой водород или электроноакцепторную

группу, предпочтительно, -Cl, -F или -NO₂.

1.3. L_R-L_O в качестве линкерных звеньев.

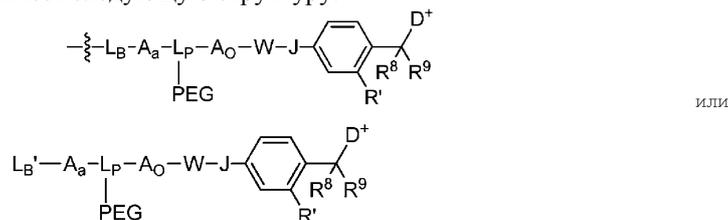
Звено кватернизированного лекарственного соединения (D⁺), присоединенные к любому из вышеуказанных саморазрушающихся фрагментов, описанных в настоящем документе, представляет собой кватернизированное тубулизиновое соединение, в котором третичный амин С-концевого компонента тубулизинового соединения является четвертичным (то есть D⁺ представляет собой тубулизиновое соединение, содержащее кватернизированный третичный амин), где четвертичный азот присоединен к бензильному положению фрагмента SI в саморазрушающемся спейсерном звене.

В некоторых вариантах осуществления -L_B-L_O-D⁺ или L_B'-L_O-D⁺ имеет следующую структуру:

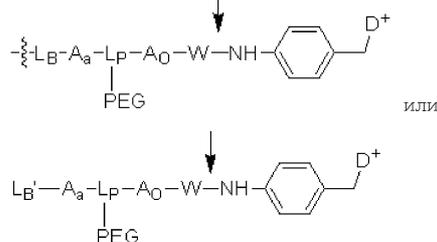


где V, Z¹ и Z² независимо представляют собой =N- или =C(R²⁴)-, где R²⁴, независимо выбранный, представляет собой водород, необязательно замещенный алкил или электронодонорную группу, и R⁸ и R⁹, независимо, представляют собой водород или необязательно замещенный алкил, и J представляет собой -O- или -N(R³³), где R³³ представляет собой водород или низший алкил.

В предпочтительных вариантах осуществления, где A, W и Y имеют линейную конфигурацию, -L_B-L_O-D⁺ или L_B'-L_O-D⁺ имеет следующую структуру:

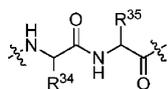


В более предпочтительных вариантах осуществления, где A, W и Y имеют линейную конфигурацию, конъюгат лекарственного соединения с лигандом или соединение лекарственного соединения с линкером формулы L_R-L_O-D⁺ имеет следующую структуру:

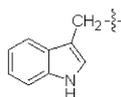


где W представляет собой остаток природной L-аминокислоты или представляет собой последовательные аминокислотные субзвенья, так что W включает или состоит из дипептида, где дипептид находится на дальнем конце W, где дипептид и указанная связь представляет собой амидную связь, специфически расщепляемую внутриклеточной протеазой по сравнению со свободно циркулирующими сывороточными протеазами. В предпочтительных вариантах осуществления аминокислотное субзвено, присоединенное к J/NH в Y, представляет собой природную L-аминокислоту или не природную аминокислоту, в которой атом углерода, несущий амин, имеет ту же стереохимическую конфигурацию.

В любом из вышеуказанных вариантов осуществления, где W состоит из дипептида, который распознается внутриклеточной протеазой, предпочтительно, катепсиновой протеазой, предпочтительные дипептиды имеют структуру



где R³⁴ представляет собой бензил, метил, изопропил, изобутил, втор-бутил, -CH(OH)CH₃ или имеет следующую структуру

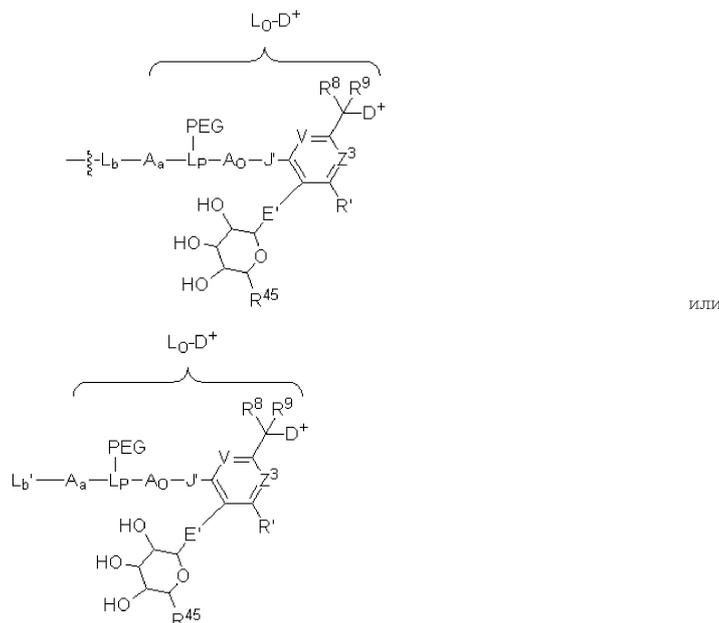


и R^{35} представляет собой метил, $-(CH_2)_4-NH_2$, $-(CH_2)_3NH(C=O)NH_2$, $(CH_2)_3NH(C=NH)NH_2$ или $-(CH_2)_2CO_2H$, где волнистая линия на дипептидном N-конце обозначает ковалентное присоединение к А или к L_B или L_B' , и волнистая линия на дипептидном С-конце обозначает ковалентное присоединение к J.

В предпочтительных вариантах осуществления $-L_B$ и L_B' представляют собой фрагменты сукцинимиды (M^2) или малеимида (M^1), соответственно. В таких вариантах осуществления $-L_B-A$ и $-L_B-A_1-A_2$ указываются как содержащие сукцинимид фрагменты, которые являются типичными фрагментами L_{SS} , когда А или A_1 включает в себя основное звено, и $L_B'-A$ и $L_B'-A_1$ указываются как содержащие малеимид фрагменты, которые являются предшественниками фрагментов L_{SS} , когда А или A_1 включает в себя основное звено.

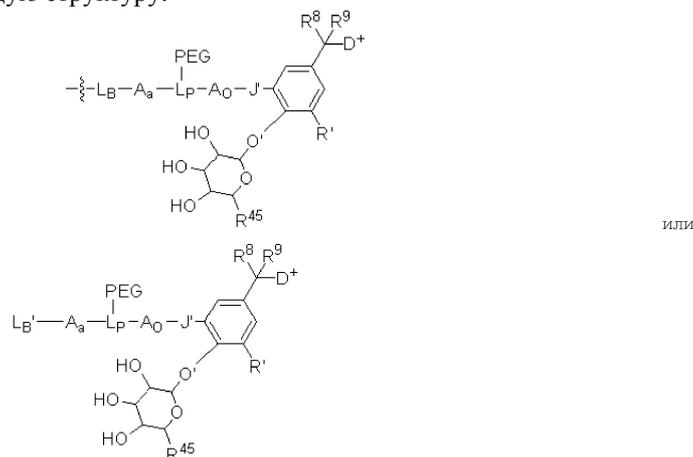
Предпочтительно, A_O , когда A_O присутствует, в любой из вышеуказанных структур L_R-L_O , в которых W, Y и D^+ имеют линейную конфигурацию, соответствует по структуре содержащей амин кислоты или представляет собой остаток содержащий амин кислоты, где карбоксильные концы кислот, содержащих амин, связаны с W в виде сложного эфира или амида, предпочтительно, в виде амида, и их N-концы связаны с L_P в $-L_P(PEG)$ - посредством содержащей карбонил функциональной группы.

В других предпочтительных вариантах осуществления, $-L_B-L_O-D^+$ или $L_B'-L_O-D^+$ имеет следующую структуру:



где V и Z^3 , независимо, представляют собой =N- или =C(R^{24})-, где R^{24} , независимо выбранный, представляет собой водород, необязательно замещенный алкил или электронодонорную группу, R^8 и R^9 , независимо, представляют собой водород или необязательно замещенный алкил, и J' представляет собой -O- или -N(R^{33}), где R^{33} представляет собой водород или низший алкил, и R' представляет собой водород или электроноакцепторную группу.

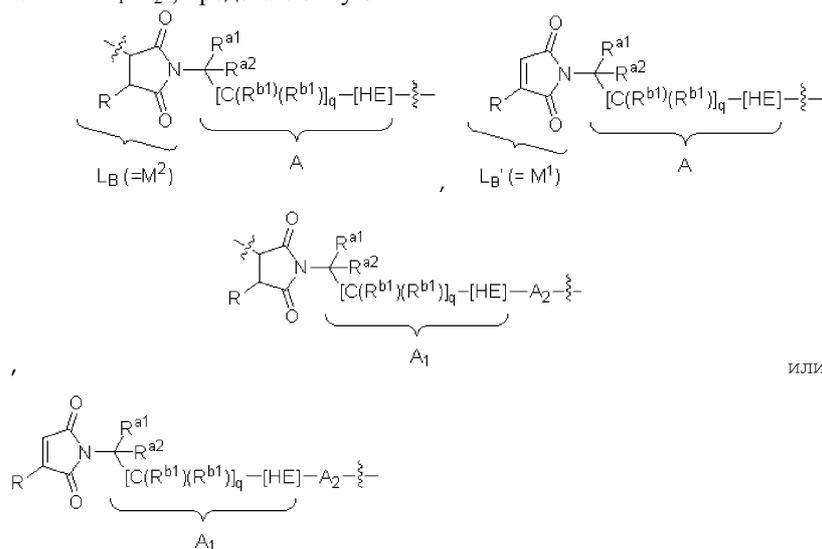
В других более предпочтительных вариантах осуществления $L_R-L_O-D^+$ (то есть $-L_B-L_O-D^+$ или $L_B'-L_O-D^+$) имеет следующую структуру:



где V, Z¹ или Z³ представляет собой =N- или =C(R²⁴)-, где R²⁴, независимо выбранный, представляет собой водород, необязательно замещенный алкил или электронодонорную группу, R⁸ и R⁹, независимо, представляют собой водород или необязательно замещенный алкил, и J' представляет собой -O- или -N(R³³), где R³³ представляет собой водород или низший алкил, R' представляет собой водород или электроноакцепторную группу, и O' представляет собой связанный гликозидной связью кислород, где связь может расщепляться гликозидазой. В предпочтительных вариантах осуществления J' представляет собой -NH-.

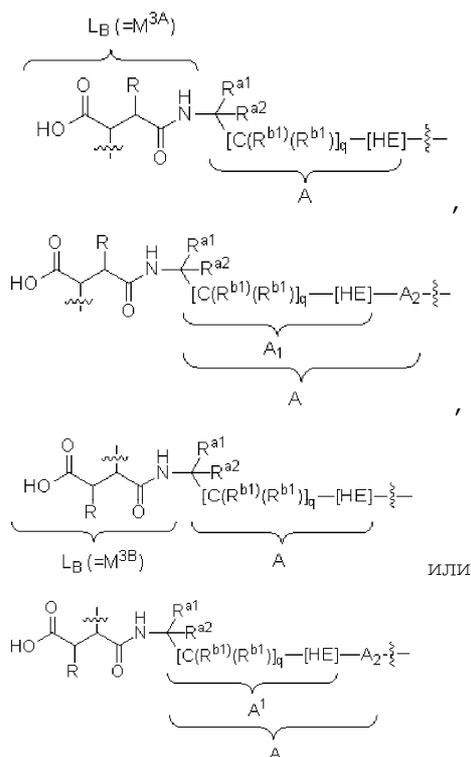
Предпочтительно, A_O, когда A_O присутствует, в любой из вышеуказанных структур L_R-L_O- соответствует по структуре содержащей амин кислоты, где карбоксильный конец содержащей амин кислоты связан с J/J' в виде сложного эфира или амида, предпочтительно, в виде амида, и его N-конец связан с L_P посредством содержащей карбонил функциональной группы.

В конкретных предпочтительных вариантах осуществления, -L_B-A- или L_B'-A в любом из вышеуказанных вариантов осуществления -L_B-L_O-D⁺, L_B'-L_O-D⁺ или L_R-L_O-D⁺ имеет следующую структуру M¹-A, M¹-A₁-A₂-, M²-A или M²-A₁-A₂-, представленную



где A₁ и A₂ представляют собой субзвенья A, L_B представляет собой сукцинимидный фрагмент (M²) и L_B' представляет собой малеимидный фрагмент (M¹), где -[C(R^{b1})(R^{b1})_q]-[HE]- представляет собой A или субзвено (A₁) в A; R и R^{a2}, независимо, представляют собой водород или необязательно замещенный алкил; R^{a1} представляет собой водород, низший алкил или BU; HE представляет собой необязательное звено усилителя гидролиза (HE); индекс q обозначает целое число в диапазоне от 0 до 6; каждый R^{b1} независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил, или два R^{b1} вместе с атомом(атомами) углерода, к которому они присоединены, образуют или обозначают C₃-C₆-циклоалкил, или один R^{b1} и HE вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют или обозначают 5- или 6-членный циклоалкил или 5- или 6-членный гетероциклоалкил, и другой R^{b1} представляет собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил; BU представляет собой основное звено, имеющее структуру -[C(R¹)(R¹)]-n-[C(R²)(R²)]-N(R²²)(R²³), где индекс n обозначает 0, 1, 2 или 3, R¹, независимо, представляет собой водород или низший алкил, или два R¹ вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют или обозначают C₃-C₆-циклоалкил, R², независимо, представляет собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил, или два R² вместе с атомом (атомами) углерода, к которому они присоединены, и промежуточными атомами углерода обозначают C₃-C₆-циклоалкил, или один R¹ и один R² вместе с атомами углерода, к которому они присоединены, и промежуточными атомами углерода образуют или обозначают 5- или 6-членный циклоалкил, и остальные R¹ и R² являются такими, как указано; R²² и R²³, независимо, представляют собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, или R²² и R²³ вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют или обозначают 5- или 6-членный гетероциклоалкил, или один из R²², R²³ представляет собой водород, и другой представляет собой кислотно-чувствительную защитную группу; и где сульфидрильный фрагмент нацеливающего агента связан с M³ в виде нацеливающего лигандного звена, как указано волнистой линией к сукцинимидному фрагменту, и где волнистая линия к HE (или к [C(R^{b1})(R^{b1})_q], когда HE не присутствует) обозначает ковалентное присоединение к иному субзвену A или к -L_P(PEG)-.

В других конкретных предпочтительных вариантах осуществления -L_B-A- или -L_B-A₁-A₂- в любых из вышеуказанных вариантов осуществления, содержащих L_B, имеет следующую структуру -M³-A- или -M³-A₁-A₂-, представленную



где A_1 и A_2 представляют собой субзвенья A , и M^{3A} и M^{3B} представляют собой региоизомеры M^3 , и где переменные группы и связывание с сульфгидрильной группой целевого фрагмента и HE (или $[C(R^{b1})(R^{b1})]_q$) являются такими, как указано для соответствующих содержащих сукцинимид фрагментов, показанных непосредственно выше. В представленных вариантах осуществления L_B относится к фрагменту янтарная кислота-амид (M^3), и $-L_B-A-$, $L_B'-A-$, $-L_B-A_1-$ или $L_B'-A_1-$ указываются как фрагменты, содержащие янтарную кислоту-амид, которые являются представительными фрагментами L_S .

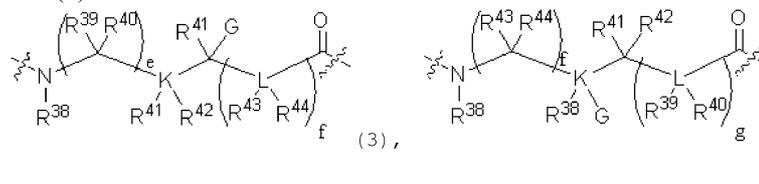
В этих и любых из вышеуказанных вариантов осуществления, включающих HE, HE представляет собой, предпочтительно, $-C(=O)-$.

В любом из таких вариантов осуществления $-L_B-A-$, $L_B'-A-$, $-L_B-A_1-$ и $L_B'-A_1-$ или M^1-A , $M^1-A_1-A_2-$, M^2-A- , $M^2-A_1-A_2-$, M^3-A- и $M^3-A_1-A_2-$ каждый R^b независимо представляет собой, предпочтительно, водород или низший алкил, и индекс m обозначает 0 или 1, R^{a1} , предпочтительно, представляет собой водород, низший алкил или BU, или R^{a2} , предпочтительно, представляет собой водород.

В любом из вышеуказанных вариантов осуществления, где W, Y и D^+ имеют линейную конфигурацию, и включают в себя A или A_1-A_2 , предпочтительными вариантами осуществления являются такие, где W связан с A или A_2 посредством амидной функциональной группы. В таких вариантах осуществления, предпочтительно, A, A_1 и A_2 имеют независимо выбранные структуры, соответствующие или включающие кислоты, содержащие амин, как описано в настоящем документе относительно вариантов осуществления расширяющего звена. В любых из вышеуказанных вариантов осуществления $-L_B-A-$, $L_B'-A-$, $-L_B-A_1-$ и $L_B'-A_1-$ включают A или A_1 , A и A_1 предпочтительно, имеющие структуры, соответствующие или включающие кислоты, содержащие амин, или представляют собой остатки кислот, содержащих амин, как описано в настоящем документе относительно вариантов осуществления расширяющего звена, где A связан с W, или A_1 связан с A_2 посредством амидной функциональной группы. В любом из вышеуказанных вариантов осуществления M^1-A- , $M^1-A_1-A_2-$, M^2-A- , $M^2-A_1-A_2-$, M^3-A- и $M^3-A_1-A_2-$, предпочтительно, A, A_1 и A_2 имеют независимо выбранные структуры, соответствующие или включающие кислоты, содержащие амин, или представляют собой независимо выбранные остатки аминокислот, как описано в настоящем документе относительно вариантов осуществления первого расширяющего звена A и второго расширяющего звена A_0 . В любых из вышеуказанных вариантов осуществления L_{SS} или L_S , которые входят в состав фрагментов $-A(BU)-$ или $-A_1(BU)-$, A и A_1 , предпочтительно, имеют структуры, соответствующие или включающие кислоты, содержащие амин, замещенный BU, и являющиеся поэтому диамино-содержащими кислотами, как описано в настоящем документе относительно вариантов осуществления расширяющего звена и базового звена. Во фрагментах, содержащих M^1 , M^2 и M^3 , имеющих фрагменты A или A_1 , соответствующие структуре кислоте, содержащей амин, или остатку кислоты, содержащей амин, азот амина кислоты, содержащей амин, включен в виде азота имина кольцевой системы M^1 или M^2 или азота амида фрагмента M^3 . Во фрагментах, содержащих L_{SS} или L_S , N-концевой азот амина диамино-содержащей кислоты включен в виде азота имина кольцевой системы M^1 или M^2 или азота амида фрагмента M^3 . Предпочтительно, для любых из вышеуказанных фрагментов, содержащих M^1- , M^2-

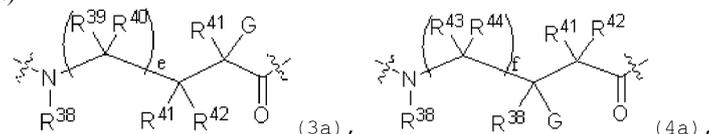
и M^3 -, или фрагментов, содержащих L_{SS} - или L_S -, группа карбоновой кислоты у кислоты, содержащей амин, или у диамино-содержащей кислоты включена в амидную функциональную группу, присоединенную к A_2 , для тех фрагментов, которые содержат A_1 - A_2 -, или присоединенную к W , для тех фрагментов, которые содержат A , когда A представляет собой единичное звено.

В более предпочтительных вариантах осуществления A или A_1 и A_2 в $-A_1$ - A_2 - независимо представлены структурами (3) или (4)



где L отсутствует (то есть индекс e обозначает 0), и G представляет собой водород, BU , $-CO_2H$ или $-NH_2$, или боковую цепь природной аминокислоты, такой как аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота или лизин, и другая переменная группа имеет значения, определенные выше. В других предпочтительных вариантах осуществления L и K представляют собой углерод, и R^{41} , R^{42} , R^{43} и R^{44} в каждом случае представляют собой водород, и R^{38} - R^{40} и индексы e , f и g имеют значения, определенные выше. В других предпочтительных вариантах осуществления R^{38} - R^{44} в каждом случае представляют собой водород, и K , L и индексы e , f и g имеют значения, определенные выше. Другие предпочтительные варианты осуществления имеют структуру (3), где K представляет собой азот, и один из R^{41} , R^{42} отсутствует, а другой представляет собой водород, и L , индексы e , f и g и остальные переменные группы R^{39} - R^{42} имеют значения, определенные выше. Другие предпочтительные варианты осуществления имеют структуру (4), где индекс g обозначает 1, K представляет собой азот, и один из R^{41} , R^{42} отсутствует, а другой представляет собой водород, L , индексы e и f и остальные переменные группы R^{39} - R^{42} имеют значения, определенные выше. В других предпочтительных вариантах осуществления индексы e и f в структуре (3), каждый, представляют собой 0, или индексы f и g в структуре (4), каждый, представляют собой 0, где K , L и остальные переменные группы R^{38} - R^{44} имеют значения, определенные выше. Другие предпочтительные варианты осуществления имеют структуру (3), где индексы e и f , оба обозначают 0, и K вместе с R^{41} и R^{42} представляет собой $-C(=O)-$, а остальные переменные группы R^{38} - R^{40} имеют значения, определенные выше. Другие предпочтительные варианты осуществления имеют структуру (4), где индекс f обозначает 1, и L вместе с R^{43} и R^{44} представляет собой $-C(=O)-$, и K , L , индекс g и R^{38} - R^{42} имеют значения, определенные выше.

В более предпочтительных вариантах осуществления A или A_1 и A_2 в $-A_1$ - A_2 -, независимо, имеют структуру (3a) или (4a)



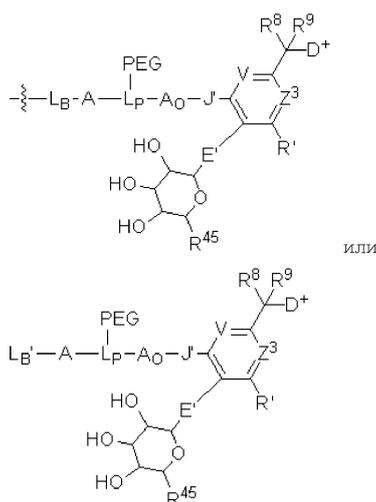
где индекс e или f обозначает 0 или 1, и G и R^{39} - R^{44} имеют значения, определенные выше.

Когда фрагмент L_{SS} или L_S включает в себя A или A_1 , предпочтительные структуры A или A_1 соответствуют тем, которые показаны для (3), (3a), (4) и (4a), где R^{38} отсутствует, G представляет собой основное звено (BU), и N -концевой азот включен во фрагмент M^1 или M^2 в виде иминного азота этой фрагментной кольцевой системы или включен во фрагмент M^3 в виде амидного азота амида янтарной кислоты.

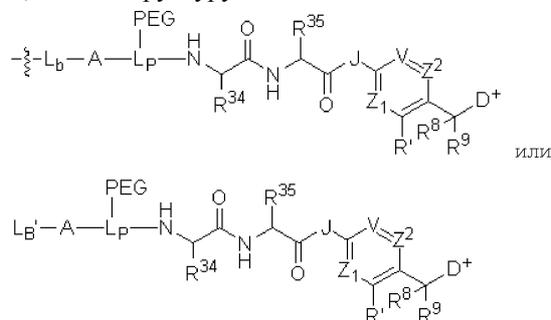
В других более предпочтительных вариантах осуществления A или A_1 и A_0 в A соответствуют независимо по структуре или независимо представляют собой выбранные остатки альфа-амино, бета-амино или другой содержащей амин кислоты. Когда фрагмент L_{SS} или L_S состоит из A или A_1 , предпочтительные фрагменты A или A_1 соответствуют по структуре или представляют собой остатки альфа-амино, бета-амино или другой содержащей амин кислоты, замещенной BU (то есть является диамино-содержащей кислотой), где N -концевой азот BU -замещенной альфа-амино, бета-амино или другой содержащей амин кислоты, которая представлена $A(BU)$ или $A_1(BU)$, включен во фрагмент M^1 или M^2 в виде иминного азота этой фрагментной кольцевой системы или включен в M^3 в виде амидного азота фрагмента амида янтарной кислоты.

В таких вариантах осуществления особенно предпочтительные $A(BU)$ или $A_1(BU)$ имеют структуру (3) или (3a), где индекс e обозначает 0 и G представляет собой BU , или имеют структуру (4) или (4a), где индекс f обозначает 1 и G представляет собой BU . В вариантах осуществления, где W , Y и D^+ находятся в линейном расположении, где A_0 присутствует, особенно предпочтительные содержащие амин кислоты, включенные в виде A_0 , имеют структуру $NH_2-X^1-CO_2H$, где X^1 представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкилен, в том числе s -амино-капроновая кислота и β -амино-пропионовая кислота.

Предпочтительные варианты осуществления, где A , W и Y , находящиеся в ортогональной конфигурации в $-L_B-L_O-D^+$ или $L_B^1-L_O-D^+$, имеют структуру



и другие предпочтительные варианты осуществления, где А, W и Y имеют линейную конфигурацию в $-L_B-L_O-D^+$ или $L_B'-L_O-D^+$, имеют структуру



где А представляет собой единичное звено, и A_O присутствует.

В более предпочтительных вариантах осуществления E' представляет собой O' , J/J' представляет собой $-NH-$, R^{34} представляет собой метил, изопропил или $-CH(OH)CH_3$, и R^{35} представляет собой метил, $-(CH_2)_3NH(C=O)NH_2$ или $-(CH_2)_2CO_2H$, R^{45} представляет собой $-CO_2H$, и R^1 , R^8 , R^9 , J , V , Z^1 , Z^2 и Z^3 имеют значения, определенные выше, либо в формулах 1А, 1В, 1D, либо в формулах 1А, 1В или 1D. В более предпочтительных вариантах осуществления R^8 и R^9 , каждый, представляют собой водород. В еще других более предпочтительных вариантах осуществления E представляет собой O' , J/J' представляет собой $-NH-$, V , Z^1 , Z^2 и Z^3 , каждый, представляют собой $-CH=$. Также более предпочтительными являются такие варианты осуществления, где L_B' имеет следующую структуру малеимидного фрагмента (M^1), или где L_B имеет следующую структуру сукцинимидного фрагмента (M^2) или фрагмента янтарная кислота-амид (M^3).

Более предпочтительными являются такие варианты осуществления в которых $L_B'-A$ имеет структуру, приведенную выше для любого из M^1-A , и более предпочтительные, фрагменты $-L_B-A$ имеют структуру, приведенную выше для любого из фрагментов M^2-A или M^3-A . В любых таких вариантах осуществления J/J' представляет собой, предпочтительно, $-NH-$.

В предпочтительных вариантах осуществления, в которых W' , Y и D^+ имеют ортогональную связь, A_O присутствует и имеет структуру, определенную ранее для (3), (3а), (4) или (4а), где волнистая линия к карбонильному фрагменту любой из структур представляет собой точку присоединения A_O к J' , предпочтительно, посредством амидной функциональной группы, и где волнистая линия к аминному фрагменту любой структуры представляет собой точку присоединения к карбонил-содержащей функциональной группе в L_P или $-L_P(PEG)-$, предпочтительно, образуя амидную функциональную группу; где переменные группы имеют значения, определенные выше для структур, представляющих A или A_1 и A_2 в $-A_1-A_2-$. В предпочтительных вариантах осуществления L отсутствует (то есть индекс q обозначает 0) и G представляет собой водород, $-CO_2H$ или $-NH_2$ или боковую цепь природной аминокислоты, такой как аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота или лизин. В других предпочтительных вариантах осуществления L и K представляют собой углерод, и R^{41} , R^{42} , R^{43} и R^{44} в каждом случае представляют собой водород. В других предпочтительных вариантах осуществления $R^{38}-R^{44}$ в каждом случае представляет собой водород. Другие предпочтительные варианты осуществления имеют структуру (3), где K представляет собой азот и один из R^{41} , R^{42} отсутствует, а другой представляет собой водород. Другие предпочтительные варианты осуществления имеют структуру (4), где r обозначает 1, K представляет собой азот и один из R^{41} , R^{42} отсутствует, а другой представляет собой водород. В других предпочтительных вариантах осуществления индексы p и q в структуре (3) обозначают 0, или индексы q и r в структуре (4)

обозначают 0. Другие предпочтительные варианты осуществления имеют структуру (3), где индексы p и q оба обозначают 0, и K вместе с R^{41} и R^{42} представляет собой $-C(=O)-$. Другие предпочтительные варианты осуществления имеют структуру (4), где индекс q обозначает 1 и L вместе с R^{43} и R^{44} представляет собой $-C(=O)-$.

В более предпочтительных вариантах осуществления A или A_1 и A_0 в A в структуре независимо соответствуют или представляют собой остаток альфа-амино, бета-амино или другой содержащей амин кислоты. В других более предпочтительных вариантах осуществления, имеющих фрагмент L_{SS} или L_S , этот фрагмент состоит из A или A_1 с предпочтительными структурами, соответствующими тем, которые показаны для (3), (3a), (4) и (4a), где R^{38} отсутствует, G представляет собой основное звено (BU) и N-концевой азот включен во фрагмент M^1 или M^2 в виде иминного азота этих фрагментов кольцевой системы или включен во фрагмент M^3 в виде амидного азота амида янтарной кислоты. Другие предпочтительные фрагменты A или A_1 для L_{SS} или L_S соответствуют по структуре или включают альфа-амино, бета-амино или другую содержащую амин кислоту, замещенную BU (то есть представляют собой диамино-содержащую кислоту), где N-концевой азот BU-замещенной альфа-амино, бета-амино или другой содержащей амин кислоты, которая представлена $A(BU)$ или $A_1(BU)$, включен во фрагмент M^1 или M^2 в виде иминного азота этих фрагментов кольцевой системы или включен в M^3 в виде амидного азота фрагмента амида янтарной кислоты.

В вариантах осуществления, где A , W' и Y имеют ортогональную конфигурацию в $-L_B-L_O-D^+$ или $L_B'-L_O-D^+$, где A_0 присутствует, особенно предпочтительны содержащие амин кислоты, которые соответствуют A_0 , включают структуру $NH_2-X^1-CO_2H$, где X^1 представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 -алкилен, в том числе s -аминокапроновую кислоту и β -амино-пропионовую кислоту.

Особенно предпочтительными являются любые из вышеописанных вариантов осуществления, содержащих L_B , где целевой фрагмент, связанный с L_B , представляет собой антитело.

1.3.1. Лигандное звено.

В некоторых вариантах осуществления изобретения присутствует лигандное звено. Лигандное звено (L -) представляет собой нацеливающий фрагмент, который специфически связывается с целевым фрагментом. Лигандное звено может специфически связываться с компонентом клетки (связывающийся с клеткой агент) или с другими представляющими интерес молекулами-мишенями. Лигандное звено действует для нацеливания и подачи звеньев кватернизованного тубулизинового лекарственного соединения на конкретные популяции клеток-мишеней, с которыми лигандное звено взаимодействует для селективного высвобождения D^+ в виде свободного тубулизинового соединения. Нацеливающие агенты включают, но этим не ограничиваются, белки, полипептиды и пептиды. Подходящие лигандные звенья включают звенья нацеливающего агента, такие как антитела, например, полноразмерные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, интерфероны, лимфокины, гормоны, факторы роста и колониестимулирующие факторы, витамины, молекулы переноса питательных веществ (такие как, но этим не ограничиваясь, трансферрин) или любые другие связывающиеся с клеткой молекулу или вещество. Лигандное звено может быть, например, не из нацеливающего агента, нацеленного на белок антитела. Альтернативно, нацеливающий агент может представлять собой, например, антитело. Предпочтительные нацеливающие агенты представляют собой белки более высокой молекулярной массы, например, связывающиеся с клеткой агентами, имеющими молекулярную массу по меньшей мере около 80 кДа.

Нацеливающий агент взаимодействует с ковалентно связывающим звеном предшественника лиганда L_B' с образованием $L-L_B-$, где L представляет собой лигандное звено и L_B представляет собой ковалентно связывающее лигандное звено. Нацеливающий агент должен иметь необходимое количество участков присоединения для размещения фрагментов лекарственного соединения с линкером, каждый из которых содержит L_B , независимо от того, является ли он природным или не природным (например, сконструированный). Например, чтобы значение нижнего индекса p составляло от 6 до 14, нацеливающий агент должен быть способен образовывать связь с 6-14 фрагментами лекарственного соединения с линкером. Нацеливающий агент может образовывать связь с L_B' в линкерном звене соединения лекарственного соединения с линкером через реакционноспособные или активируемые гетероатом или содержащую гетероатом функциональную группу нацеливающего агента. Реакционноспособные или активируемые гетероатом или содержащие гетероатом функциональные группы, которые могут присутствовать на нацеливающемся агенте, включают серу (в одном варианте осуществления из сульфгидрильной группы нацеливающего агента), $C=O$ или (в одном варианте осуществления из карбонильной, карбоксильной или гидроксильной группы нацеливающего агента) и азот (в одном варианте осуществления из первичной или вторичной аминогруппы нацеливающего агента). Эти гетероатомы могут присутствовать в нацеливающем агенте в естественном состоянии нацеливающего агента, например, в природном антителе, или могут быть введены в нацеливающий агент посредством химической модификации или биологической инженерии.

В одном варианте осуществления нацеливающий агент имеет сульфгидрильную группу, и его лигандное звено присоединено к линкерному звену через атом серы сульфгидрильной группы.

В другом варианте осуществления изобретения нацеливающий агент имеет лизиновые остатки, которые могут взаимодействовать с активированными сложными эфирами (такие сложными эфирами

включают, но этим не ограничиваются, N-гидроксисукцинимидный, пентафторфениловый и п-нитрофениловый сложные эфиры) L_B' линкерного звена соединения лекарственного соединения с линкером и образуют таким образом амидную связь между атомом азота лигандного звена и C=O группой линкерного звена.

В еще одном другом аспекте нацеливающий агент имеет один или несколько лизиновых остатков, которые могут быть химически модифицированы для введения одной или нескольких сульфгидрильных групп. Лигандное звено из такого нацеливающего агента присоединено к линкерному звену через атом серы включенной сульфгидрильной группы. Реагенты, которые могут быть использованы для модификации лизинов таким образом, включают, но этим не ограничиваются, N-сукцинимидил S-ацетилтиоацетат (SATA) и 2-иминотиолан гидрохлорид (реагент Трота).

В другом варианте осуществления изобретения нацеливающий агент может иметь одну или несколько карбогидратных групп, которые могут быть химически модифицированы, чтобы иметь одну или несколько сульфгидрильных групп. Лигандное звено из такого нацеливающего агента присоединено к линкерному звену через атом серы включенной сульфгидрильной группы.

В еще другом варианте осуществления изобретения нацеливающий агент может иметь одну или несколько карбогидратных групп, которые могут быть окислены с получением альдегидной (-CHO) группы (см., например, Laguzza, et al., 1989, J. Med. Chem. 32(3):548-55). Соответствующий альдегид затем может взаимодействовать с L_B', имеющим нуклеофильный азот. Реакционные участки на L_B', которые могут взаимодействовать с карбонильной группой на нацеливающем агенте, включают, но этим не ограничиваются, гидразин и гидроксилламин. Другие протоколы для модификации белков с целью присоединения фрагментов лекарственного соединения-линкер описаны Coligan et al., Current Protocols in Protein Science, vol. 2, John Wiley & Sons (2002)(включено в настоящий документ посредством ссылки).

Нацеливающий агент образует связь с реакционноспособной группой на L_B' в соединении лекарственного соединения с линкером с образованием LDC, в котором фрагмент лекарственного соединения с линкером входит в состав L_B-содержащего фрагмента. Могут быть использованы различные реакционноспособные группы, и они будут зависеть от природы желаемого лигандного звена. Реакционноспособная группа может представлять собой малеимид, который присутствует на L_B' (до присоединения к L), и ковалентное присоединение L к L_B достигается через сульфгидрильную группу нацеливающего агента с образованием тиозамещенного сукцинимида. Сульфгидрильная группа может присутствовать на нацеливающем агенте в естественном состоянии нацеливающего агента, например, в природном остатке, или может быть введена в нацеливающий агент посредством химической модификации.

В еще другом варианте осуществления изобретения нацеливающий агент представляет собой анти-тело, и сульфгидрильная группа образуется восстановлением межцепочечного дисульфида. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления линкерное звено конъюгировано с цистеиновым остатком восстановленных межцепочечных дисульфидов лигандного звена.

В еще другом варианте осуществления изобретения нацеливающий агент представляет собой анти-тело и сульфгидрильная группа является химически встроенной в анти-тело, например, путем введения цистеинового остатка. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления линкерное звено конъюгировано с введенным цистеиновым остатком.

Для биоконъюгатов наблюдалось, что участок конъюгирования лекарственного соединения может влиять на ряд параметров, включая простоту конъюгирования, стабильность лекарственного соединения с линкером, влияние на биофизические свойства получаемых биоконъюгатов и цитотоксичность *in vitro*. Что касается стабильности лекарственного соединения с линкером, участок конъюгирования лекарственного соединения с линкером с лигандным звеном может повлиять на способность конъюгированного фрагмента лекарственного соединения с линкером подвергаться реакции элиминирования и переносить фрагмент лекарственного соединения с линкером из лигандного звена биоконъюгата к альтернативному реакционноспособному тиолу, присутствующему в среде биоконъюгата, такому как, например, реакционноспособный тиол в альбумине, свободный цистеин или глутатион в плазме. Такие участки включают, например, межцепочечные дисульфиды, а также отдельные участки, сконструированные цистеином. Конъюгаты лекарственного соединения с лигандом, описанные в настоящем документе, могут быть конъюгированы с тиоловыми остатками на участках, которые менее восприимчивы к реакции элиминирования (например, в положениях 239 в соответствии с индексом EU, как указано в Kabat) помимо других участков.

Когда конъюгаты вместо анти-тела содержат лиганды, из неиммунореактивного белка, полипептида или пептида используемые лиганды из неиммунореактивного белка, полипептида или пептида включают, но не ограничиваются ими, трансферрин, эпидермальные факторы роста ("EGF"), бомбезин, гастрин, гастрин высвобождающий пептид, тромбоцитарный фактор роста, IL-2, IL-6, трансформирующие факторы роста ("TGF"), такие как TGF- α и TGF- β , фактор роста вируса коровьей оспы ("VGF"), инсулин и инсулиноподобные факторы роста I и II, соматостатин, лектины и апопротеины из липопротеинов низкой плотности.

Особенно предпочтительными нацеливающими агентами являются анти-тела, включая интактные анти-тела. Фактически, в любом из вариантов осуществления, описанных в настоящем документе, ли-

гандное звено может представлять собой антитело. Используемые поликлональные антитела представляют собой однородные популяции молекул антител, полученных из сывороток иммунизированных животных. Используемыми моноклональными антителами являются однородные популяции антител к определенной антигенной детерминанте (например, антиген раковой клетки, вирусный антиген, микробный антиген, белок, пептид, углевод, химическое вещество, нуклеиновая кислота или их фрагменты). Моноклональное антитело (mAb) к интересующему антигену может быть получено с использованием какого-либо любого способа, известного в данной области техники, который обеспечивает получение молекул антител непрерывными клеточными линиями в культуре.

Подходящие моноклональные антитела включают, но не ограничиваются ими, человеческие моноклональные антитела, гуманизированные моноклональные антитела или химерные моноклональные антитела человека-мыши (или других видов). Антитела включают полноразмерные антитела и их антиген-связывающие фрагменты. Человеческие моноклональные антитела могут быть получены любым из многочисленных способов, известных в данной области (например, Teng et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 80:7308-7312; Kozbor et al., 1983, Immunology Today 4:72-79; и Olsson et al., 1982, Meth. Enzymol. 92:3-16).

Антитело может быть функционально активным фрагментом, производным или аналогом антитела, которое иммуноспецифически связывается с клетками-мишенями (например, антигенами раковых клеток, вирусными антигенами или микробными антигенами) или другими антителами, связанными с опухолевыми клетками или матрицей. В связи с этим "функционально активный" означает, что фрагмент, производное или аналог способен иммуноспецифически связываться с клетками-мишенями. Чтобы определить, какие последовательности CDR связывают антиген, синтетические пептиды, содержащие последовательности CDR, можно использовать в анализах связывания с антигеном любым методом анализа связывания, известным в данной области (например, анализ анализ BIAcore) (см., например, Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md; Kabat E et al., 1980, J. Immunology 125(3):961-969).

Другие используемые антитела включают фрагменты антител, такие как, но не ограничиваясь ими, фрагменты F(ab')₂, фрагменты Fab, Fvs, одноцепочечные антитела, диатела, тритела, тетратела, scFv, scFv-FV или любую другую молекулу с такой же специфичностью как антитело.

Кроме того, используемыми антителами являются рекомбинантные антитела, такие как химерные и гуманизированные моноклональные антитела, содержащие как человеческие, так и нечеловеческие части, которые могут быть получены с использованием стандартных методов рекомбинантной ДНК. Химерное антитело представляет собой молекулу, в которой разные части получены из разных видов животных, например, таких, которые имеют переменную область, полученную из константных областей мышинового моноклонального и человеческого иммуноглобулина (см., например, патент США № 4816567; и патент США № 4816397, который включены в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Гуманизированные антитела представляют собой молекулы антител нечеловеческого вида, имеющие один или несколько определяющих комплементарность участков (CDR) от нечеловеческого вида и каркасный участок молекулы человеческого иммуноглобулина (см., например, патент США № 5585089, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте). Такие химерные и гуманизированные моноклональные антитела могут быть получены методами рекомбинантной ДНК, известными в данной области, например, с использованием методов, описанных в международной публикации № WO 87/02671; Европейской патентной публикации № 0184187; Европейской патентной публикации № 0171496; Европейской патентной публикации № 0173494; Международной публикации № WO 86/01533; патенте США № 4816567; Европейской патентной публикации № 0012023; Berter et al., 1988, Science 240:1041-1043; Liu et al., 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:3439-3443; Liu et al., 1987, J. Immunol. 139:3521-3526; Sun et al., 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:214-218; Nishimura et al., 1987, Cancer. Res. 47:999-1005; Wood et al., 1985, Nature 314:446-449; и Shaw et al., 1988, J. Natl. Cancer Inst. 80:1553-1559; Morrison, 1985, Science 229:1202-1207; Oi et al., 1986, BioTechniques 4:214; патенте США № 5225539; Jones et al., 1986, Nature 321:552-525; Verhoeyan et al., 1988, Science 239:1534; и Beidler et al., 1988, J. Immunol. 141:4053-4060; каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Полностью человеческие антитела особенно желательны и могут быть получены с использованием трансгенных мышей, которые не способны экспрессировать эндогенные гены тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина, но которые могут экспрессировать гены тяжелой и легкой цепи человека.

Антитела включают аналоги и производные, которые либо модифицированы, то есть ковалентным присоединением молекулы любого типа, при условии, что такое ковалентное присоединение позволяет антителу по существу сохранять свою антиген-связывающую иммуноспецифичность. Например, но не в качестве ограничения, производные и аналоги антител включают такие, которые были дополнительно модифицированы, например, путем гликозилирования, ацетилирования, ПЭГиления, фосфорилирования, амидирования, дериватизации известными защитными/блокирующими группами, протеолитическим расщеплением, связью со звеном клеточного антитела или другого белка и т.д. Любая из многочисленных химических модификаций может быть осуществлена известными методами, включая, но не ог-

раничиваясь этим, специфическое химическое расщепление, ацетилирование, формилирование, метаболический синтез в присутствии туникамицина и т.д. Аналог или производное могут содержать одну или несколько природных аминокислот.

Антитела могут иметь модификации (например, замены, делеции или модификации) в аминокислотных остатках, которые взаимодействуют с Fc-рецепторами. В частности, антитела могут иметь модификации аминокислотных остатков, идентифицированных как вовлеченные во взаимодействие между доменом анти-Fc и рецептором FcRn (см., например, международную публикацию № WO 97/34631, которая включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте).

Антитела, иммуноспецифичные в отношении антигена раковой клетки, можно получить коммерческим путем или получить любым способом, известным специалисту в данной области, таким как, например, методы химического синтеза или рекомбинантной экспрессии. Нуклеотидную последовательность, кодирующую антитела, иммуноспецифичные в отношении антигена раковой клетки, можно получить, например, из базы данных GenBank или базы данных, подобной этой, литературных публикаций или путем обычного клонирования и секвенирования.

В конкретном варианте осуществления могут быть использованы известные антитела для лечения рака. Антитела, иммуноспецифичные в отношении антигена раковой клетки, можно получить коммерческим путем или получить любым способом, известным специалисту в данной области, например, методами рекомбинантной экспрессии. Нуклеотидную последовательность, кодирующую антитела, иммуноспецифичные в отношении антигена раковой клетки, можно получить, например, из базы данных GenBank или базы данных, подобной этой, литературных публикаций или путем обычного клонирования и секвенирования.

В другом конкретном варианте осуществления антитела для лечения аутоиммунного заболевания используют в соответствии с композициями и способами по изобретению. Антитела, иммуноспецифичные в отношении антигена клетки, ответственного за выработку аутоиммунных антител, могут быть получены от любой организации (например, университетский ученый или компания) или получены любым методом, известным специалисту в данной области, таким как, например, методы химического синтеза или рекомбинантной экспрессии.

В некоторых вариантах осуществления используемые антитела могут связываться с рецептором или комплексом рецепторов, экспрессируемым на активированном лимфоците. Рецепторный или комплекс рецепторов может содержать член суперсемейства иммуноглобулиновых генов, член суперсемейства рецепторов TNF, интегрин, рецептор цитокинов, рецептор хемокинов, основной белок гистосовместимости, лектин или контрольный белок комплемента.

В некоторых аспектах антитело будет конкретно связываться с CD19, CD20, CD30, CD33, CD70, альфа- ν -бета-6 или антигеном Льюиса Y.

Антитело может представлять собой гуманизованное антитело против CD33 (US 2013/0309223, полностью включенное в настоящий документ в качестве ссылки и для всех целей), гуманизованное антитело против Beta6 (см., например, WO 2013/123152, полностью включенное в настоящий документ посредством ссылки и для всех целей), гуманизованное антитело против Liv-1 (см., например, US 2013/0259860, полностью включенное в настоящий документ в качестве ссылки и для всех целей) или гуманизованное антитело AC10 (см., например, US 8257706, включенное в настоящий документ посредством ссылки и для всех целей).

Примером присоединения к лиганду является посредством тиоэфирных связей. Тиоэфирные связи могут быть через межцепочечные дисульфидные связи, введенные цистеиновые остатки и их комбинации.

1.3.2. Параллельное соединительное звено.

Конъюгат лекарственного соединения с лигандом и его предшественник соединение лекарственного соединения с линкером по настоящему изобретению включают PEG звено, которое находится в параллельной ориентации со звеном кватернизованного тубулизинового лекарственного соединения, чтобы влиять на фармакокинетику образуемого LDC. Параллельная ориентация PEG звена осуществляется с помощью параллельного соединительного звена (L_p). Для этой цели параллельное соединительное звено располагает лигандное, PEG и лекарственное звенья в разветвленной конфигурации. Соответственно, параллельное соединительное звено можно рассматривать как компонент каркаса, имеющего участки присоединения для других компонентов конъюгата лекарственного соединения с лигандом и соединения лекарственного соединения с линкером.

Для действия в качестве параллельного соединителя, звено L_p присоединяется через три участка присоединения в линкерном звене. Один из участков присоединения соединяет звено L_p с PEG звеном. В одном варианте осуществления второй сайт присоединения соединяет звено L_p с восприимчивым к протеазе расщепляемым звеном (W), которое соединено с саморазрушающимся спейсерным звеном (Y). В другом варианте осуществления второй сайт присоединения L_p соединяется непосредственно с саморазрушающимся спейсерным звеном (Y), к которому также присоединено восприимчивое к гликозидазе расщепляемое звено (W'), или в таких случаях не напрямую соединяется с Y через промежуточное расширяющее звено (A_0). Третий сайт присоединения присоединяет звено L_p к остатку линкерного звена,

который в LDC обычно соединяется с лигандным звеном через другое расширяющее звено (A). Параллельное соединительное звено представляет собой звено, которое отличается от PEG звена и присоединяется к нему через компонент PEG присоединяющего звена в PEG звене. Другими словами, параллельное соединительное звено не является субзвеном PEG звена.

Для конъюгатов лекарственных соединений с лигандами и их промежуточных соединений, имеющих более одного лекарственного соединения на PEG звено, присоединение параллельного соединительного звена к W или Y может быть через разветвляющее звено (B) вместо A₀. Во всех этих вариантах осуществления звено L_p может рассматриваться как трехфункциональный химический фрагмент, который способен ковалентно связывать вместе три расположенных на расстоянии друг от друга химических фрагмента. Понятно, что для выбранных промежуточных соединений предшественник к L_p представлен как L_p' и еще не полностью включен в линкерное звено (например, еще не присоединен к A, A₀, B, W или Y, но имеет необязательно защищенную функциональную группу для этого присоединения). Понятно также, что термин "трехфункциональный" используется для обозначения трех сайтов присоединения, а не количества функциональных групп, присутствующих в любом L_p, L_p' или их субъединице.

Параллельное соединительное звено может быть образовано из одной или нескольких (обычно от 1 до 5, или от 1 до 4, или от 1 до 3, или 1 или 2) природных или неприродных аминокислот, аминоспиртов, аминоальдегидов или полиаминов или некоторых их комбинаций.

Понятно, что когда речь идет о природной или неприродной аминокислоте, аминоспирте, аминоальдегиде или полиамине, присутствующих в соединении LDC или лекарственного соединения с линкером по настоящему изобретению (независимо от того, являются ли они частью звена L_p или другим компонентом соединения LDC или лекарственного соединения с линкером, описанными в настоящем документе), аминокислота, аминоспирт, аминоальдегид или полиамины будут существовать в остаточной форме. Например, в вариантах осуществления, где параллельное соединительное звено представляет собой две аминокислоты, две аминокислоты будут существовать в виде остатков с пептидной связью между ними. В вариантах осуществления, где параллельное соединительное звено состоит из аминоспирта, аминоспирт будет существовать в виде остатка, где, например, его аминогруппа связана с другим остатком параллельного соединительного звена или другим компонентом соединения LDC или лекарственного соединения с линкером через карбонилсодержащую функциональную группу этого другого остатка/компонента, в то время как его гидроксильная группа связана в виде простого эфира или через карбонилсодержащую функциональную группу с еще одним остатком параллельного соединительного звена или другого компонента соединения LDC или лекарственного соединения с линкером. В вариантах осуществления, где параллельное соединительное звено состоит из аминоальдегида, аминоальдегид будет существовать в виде остатка, где, например, его аминогруппа связана с другим остатком блока параллельного соединительного звена или другим компонентом соединения LDC или лекарственного соединения с линкером через карбонилсодержащую функциональную группу этого другого остатка/компонента, при этом его альдегидная функциональная группа преобразуется в имино функциональную группу или путем последующего восстановления образует азот-углеродную связь, когда она связана с аминогруппой еще одного остатка параллельного соединительного звена или другим компонентом соединения LDC или лекарственного соединения с линкером. Аминоспирт или аминоальдегид могут быть получены из природной или неприродной аминокислоты путем восстановления функциональной группы карбоновой кислоты до альдегидной или гидроксильной функциональной группы.

В некоторых вариантах осуществления параллельное соединительное звено или его субзвено, имеющие требуемую трехфункциональность, обеспечиваются остатком аминокислоты или другой кислоты, содержащей амин, который имеет или может быть замещен функционализированной боковой цепью для обеспечения необходимых трех точек присоединения. Например, серин имеет три функциональные группы, то есть кислотную, амина и гидроксильную функциональные группы, и его можно рассматривать как объединенный аминокислотный и амина-спиртовой остаток для его включения в параллельное соединительное звено. Тирозин также содержит гидроксильную группу, в данном случае в своей фенольной боковой цепи, и может также рассматриваться аналогично серину для его включения в качестве трехфункционального компонента параллельного соединительного звена.

В другом примере, когда три сайта присоединения параллельного соединительного звена или его субъединицы обеспечиваются цистеином, его амина и карбоксильная группы будут существовать в остаточной форме таким образом, как обсуждалось ранее для аминокислот или аминокислотных кислот, чтобы обеспечить две из трех необходимых точек присоединения, в то время как его тиоловая группа будет существовать в остаточной форме, чтобы обеспечить другую необходимую точку присоединения. В некоторых случаях остаточная тиоловая группа находится в своей окисленной форме (то есть -S(=O)- или -S(=O)₂-), когда она связана с другим субзвеном параллельного соединительного звена или с другим компонентом линкерного звена. В еще одном примере альфа-амино- и карбоксильная группы лизина будут существовать в остаточной форме, чтобы обеспечить две из трех необходимых точек присоединения для параллельного соединительного звена, тогда как его эpsilon-аминогруппа в своей остаточной форме обеспечивает оставшуюся точку присоединения. Гистидин также можно рассматривать как аминокислоту с двумя аминогруппами, где вторая аминогруппа представляет собой NH в содержа-

шей имидазол боковой цепи.

В другом примере, когда три сайта присоединения параллельного соединительного звена обеспечиваются аспарагиновой или глутаминовой кислотой, альфа-амино и С-концевая карбоксильная функциональные группы аминокислоты в их остаточных формах обеспечивают две из трех необходимых точек присоединения, в то время как его бета- или гамма-карбоксильная функциональная группа в своей остаточной форме обеспечивает оставшееся присоединение. В тех случаях, когда природная аминокислота указана в виде параллельного соединительного звена или его субъединицы, но не содержит естественно функционализированную боковую цепь аминокислоты, хотя требуется, чтобы она была трехфункциональным компонентом L_p , следует понимать, что структура аминокислоты модифицирована, чтобы иметь дополнительную функциональную группу помимо ее амино и карбоксильных функциональных групп в остаточной форме, чтобы обеспечить необходимую третью точку присоединения. Например, аминокислота, имеющая алифатическую боковую цепь, может быть замещена на атоме углерода этой боковой цепи группой гидроксила, амино, альдегида, тиола, карбоновой кислоты или другой функциональной группой или другим фрагментом (например, арилом или арилалкилом, замещенным любой из этих функциональных групп), чтобы обеспечить неприродную аминокислоту, имеющую необходимые три точки присоединения. Такие неприродные аминокислоты включены в параллельное соединительное звено, как описано выше для аминокислот и остаточных форм введенных функциональных групп.

Точно так же, когда аминокальдегид или аминоспирт включены в параллельное соединительное звено, этот аминокальдегид или аминоспирт будет иметь третью функциональную группу для обеспечения, наряду со своими амино- и альдегидными функциональными группами, необходимых трех точек присоединения. В этих случаях аминокальдегид или аминоспирт могут соответствовать по структуре природной аминокислоте, которая имеет функционализированную боковую цепь, или неприродной аминокислоте, имеющей функциональную группу, которая была введена в боковую цепь природной аминокислоты, как описано выше, где группа карбоновой кислоты природной или неприродной аминокислоты восстановлена до гидроксильной или альдегидной функциональной группы.

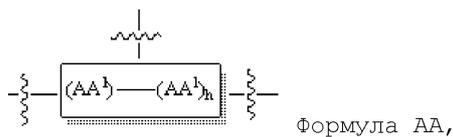
Аминокислотный остаток L_p может быть остатком альфа-, бета-или гамма-аминокислоты или другого кислотного соединения, содержащего амин, и может находиться в виде своего D- или L-изомера, если он содержит хиральный углерод, с которым связана боковая цепь природной или неприродной аминокислоты, обеспечивающая оставшуюся необходимую точку присоединения. Когда параллельное соединительное звено состоит из более чем одной природной или неприродной аминокислоты, аминоспирта, аминокальдегида или полиамина, аминокислоты, аминоспирты, аминокальдегиды, полиамины или их комбинации связаны друг с другом через ковалентные связи с образованием параллельного соединительного звена.

Аминокислота, аминоспирт или аминокальдегид могут быть неприродными и могут быть модифицированы, чтобы иметь функционализированную боковую цепь для присоединения к компонентам конъюгата лекарственного соединения с лигандом или соединения лекарственного соединения с линкером (как описано выше для остатка параллельного соединительного звена), в зависимости от обстоятельств. Примеры функционализированных аминокислот, аминоспиртов или аминокальдегидов включают, например, азидо или алкин функционализированные аминокислоты, аминоспирты или аминокальдегиды (например, аминокислота, аминоспирт или аминокальдегид, модифицированные таким образом, чтобы они имели азидную группу или алкиновую группу для прикрепления, используя клик-химию).

Присоединение внутри параллельного соединительного звена или с другими компонентами конъюгата (или линкера) может быть, например, через амино, карбокси или другие функциональные группы. Способы независимых активирования и взаимодействия функциональных групп, присутствующих на аминокислоте - например, амино участок, участок карбоновой кислоты и участок боковой цепи (например, аминовый фрагмент, гидроксильная группа, другая группа карбоновой кислоты, тиол, азид или алкин) включают в себя подходящий вид химии пептидов.

Параллельное соединительное звено может содержать 1 или несколько (обычно 1-5, или 1-4, или 1-3, или 1, или 2) аминокислот, необязательно замещенные C_{1-20} -гетероалкилены (предпочтительно, необязательно замещенный C_{1-12} -гетероалкилен), необязательно замещенные C_{3-8} -гетероциклы, необязательно замещенные C_{6-14} -арилены, необязательно замещенные C_3-C_8 -карбоциклы или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления параллельное соединительное звено содержит не более чем 2 или не более чем один необязательно замещенный C_{1-20} -гетероалкилен, необязательно замещенный C_{3-8} -гетероцикл, необязательно замещенный C_{6-14} -арилен или необязательно замещенный C_3-C_8 -карбоцикл. Необязательные заместители включают (=O), -X, -R, -OR, -SR, -NR₂, -NR³, =NR, -CX₃, -CN, -OCN, -SCN, -N=C=O, -NCS, -NO, -NO₂, =N₂, -N₃, -NRC(=O)R, -C(=O)R, -C(=O)NR₂, -SO₃⁻, -SO₃H, -S(=O)₂R, -OS(=O)₂OR, -S(=O)₂NR, -S(=O)R, -OP(=O)(OR)₂, -P(=O)(OR)₂, -PO₃⁻, -PO₃H₂, -AsO₂H₂, -C(=O)R, -C(=O)X, -C(=S)R, -CO₂R, -CO₂⁻, -C(=S)OR, -C(=O)SR, -C(=S)SR, -C(=O)NR₂, -C(=S)NR₂ или -C(=NR)NR₂, где каждый X независимо представляет собой галоген: -F, -Cl, -Br или -I; и каждый R независимо представляет собой -H, -C₁-C₂₀-алкил, -C₆-C₂₀-арил, -C₃-C₁₄-гетероцикл, защитную группу или фрагмент пролекарства. Предпочтительные необязательные заместители представляют собой (=O), -X, -R, -OR, -SR, и -NR₂.

Параллельное соединительное звено может быть представлено формулой AA



где AA¹ представляет собой субъединицу L_p, независимо выбранную из аминокислоты, необязательно замещенного C₁₋₂₀-гетероалкилена (предпочтительно, необязательно замещенного C₁₋₁₂ гетероалкилена), необязательно замещенного C₃₋₈-гетероцикла, необязательно замещенного C₆₋₁₄-арилена или необязательно замещенного C₃-C₈-карбоцикла;

и индекс h независимо выбран из от 0 до 4; и волнистая линия указывает участки ковалентного присоединения в конъюгате лиганд-лекарственное вещество или его промежуточном соединении. Необязательно замещенный гетероалкилен, гетероцикл, арилен или карбоцикло должны иметь функциональные группы для образования соединения между субъединицами и в конъюгате лиганд-лекарственное вещество или его промежуточных соединений.

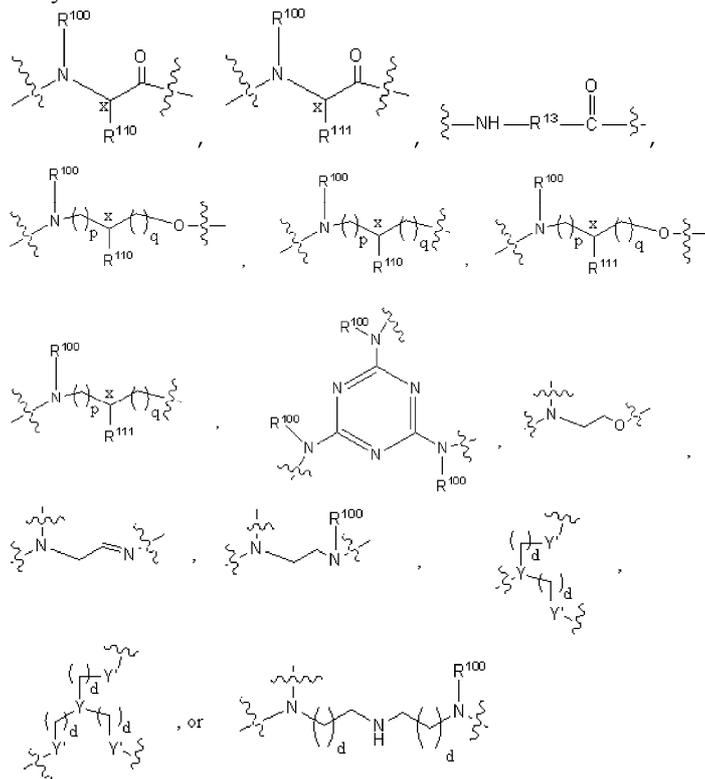
В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере в одном случае AA¹ представляет собой аминокислоту. Индекс h может обозначать 0, 1, 2, 3 или 4. В некоторых вариантах осуществления AA¹ представляет собой аминокислоту, и h обозначает 0. В некоторых вариантах осуществления параллельное соединительное звено состоит из не более чем 2 необязательно замещенных C₁₋₂₀гетероалкиленов, необязательно замещенных C₃₋₈-гетероциклов, необязательно замещенных C₆₋₁₄ариленов или необязательно замещенных C₃-C₈-карбоциклов. В некоторых вариантах осуществления формулы AA параллельное соединительное звено состоит из не более чем 1 необязательно замещенного C₁₋₂₀гетероалкилена, необязательно замещенный C₃₋₈-гетероцикло, необязательно замещенного C₆₋₁₄арилена или необязательно замещенного C₃-C₈-карбоцикла.

Параллельное соединительное звено или его аминокислотное субъединица может быть независимо выбранным из содержащей тиол аминокислоты. Содержащая тиол аминокислота может представлять собой, например, цистеин, гомоцистеин или пеницилламин в D- или L-стереохимической конфигурации.

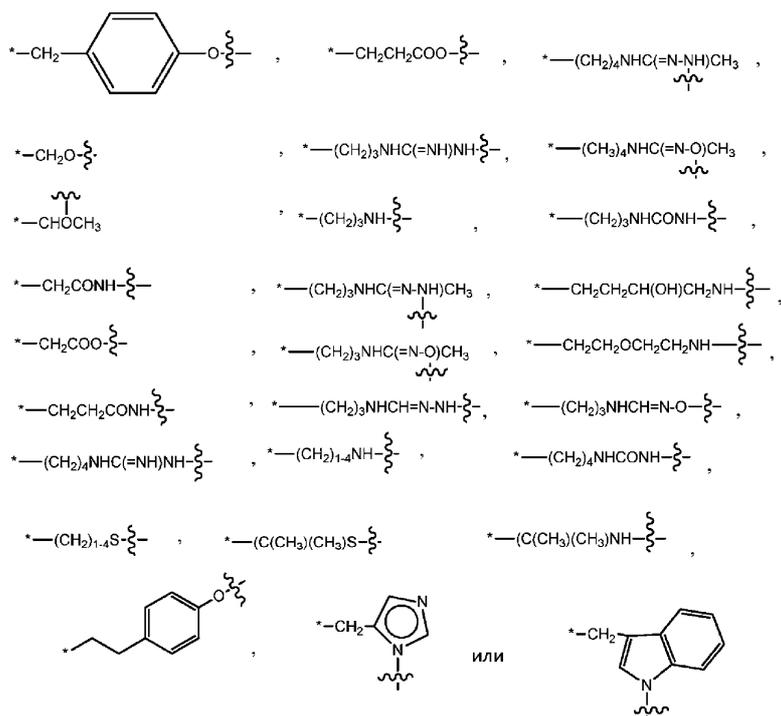
Параллельное соединительное звено или его аминокислотное субъединица может быть независимо выбранным из группы, включающей L- или D-изомеры следующих аминокислот: аланин (в том числе β-аланин), аргинин, аспарагиновая кислота, аспарагин, цистеин, гистидин, глицин, глутаминовая кислота, глутамин, фенилаланин, лизин, лейцин, метионин, серин, тирозин, треонин, триптофан, пролин, орнитин, пеницилламин, β-аланин, аминоалкиновая кислота, аминоалкандиовая кислота, гетероцикло-карбоновая кислота, цитруллин, статин, диаминоалкановая кислота, и их производные.

Предпочтительные аминокислоты включают цистеин, гомоцистеин, пеницилламин, орнитин, лизин, серин, треонин, глутамин, аланин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, селеноцистеин, пролин, глицин, изолейцин, лейцин, метионин, валин и аланин.

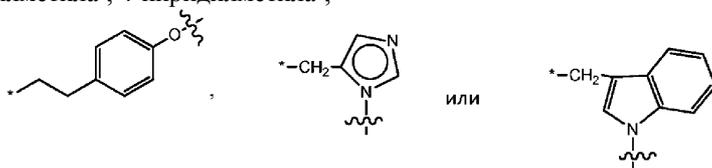
Примеры L_p или их субъединиц AA¹ включают



где R^{110} представляет собой



R^{111} выбран независимо из водорода, п-гидроксibenзила, метила, изопропила, изобутила, втор-бутила, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{COOH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCH}_3$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCHO}$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCOCH}_3$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCHO}$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NH}_2$, 2-пиридилметила-, 3-пиридилметила-, 4-пиридилметила-,

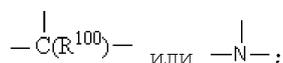


где звездочкой указано присоединение к атому углерода, отмеченному x;

R^{100} выбран независимо из водорода или $-\text{C}_1\text{-C}_3$ -алкила (предпочтительно, водорода или CH_3),

R^{13} независимо выбран из группы, включающей $-\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкилен-, $-\text{C}_3\text{-C}_8$ -карбоцикло-, -арилен-, $-\text{C}_1\text{-C}_{10}$ -гетероалкилен-, $-\text{C}_3\text{-C}_8$ -гетероцикло-, $-\text{C}_1\text{-C}_{10}$ -алкилен-арилен-, -арилен- $-\text{C}_1\text{-C}_{10}$ -алкилен-, $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ -алкилен- $-(\text{C}_3\text{-C}_8\text{-карбоцикло})$ -, $-(\text{C}_3\text{-C}_8\text{-карбоцикло})\text{-C}_1\text{-C}_{10}$ -алкилен-, $-\text{C}_1\text{-C}_{10}$ -алкилен- $-(\text{C}_3\text{-C}_8\text{-гетероцикло})$ - и $-(\text{C}_3\text{-C}_8\text{-гетероцикло})\text{-C}_1\text{-C}_{10}$ -алкилен- (предпочтительно, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$);

Y представляет собой

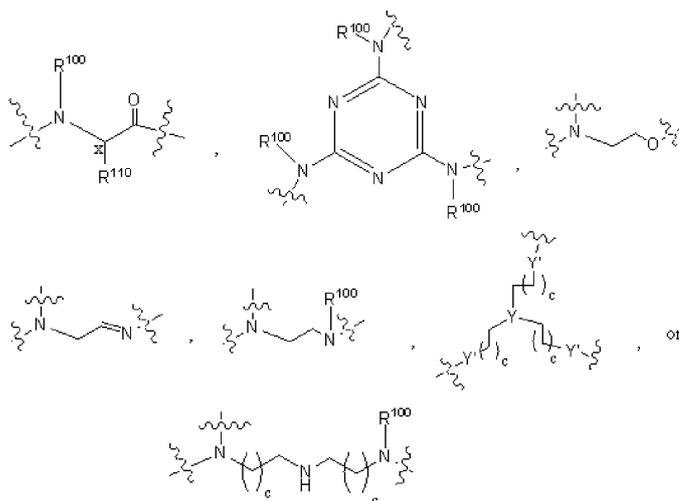


Y' представляет собой $-\text{C}(=\text{O})$ -, $-\text{O}$ -, $-\text{S}$ -, $-\text{NH}$ - или $-\text{N}(\text{CH}_3)$ -, и

индексы p, q, и d представляют собой целые числа, независимо выбранные из от 0 до 5; и волнистая линия указывает ковалентное присоединение в соединении водорода OH или C_{1-3} незамещенной алкильной группы, при условии, что по меньшей мере одна из волнистых линии указывают ковалентное присоединение в соединении. В некоторых аспектах все волнистые линии указывают ковалентное присоединение в соединении (например, когда L_p не содержит никаких субзвеньев).

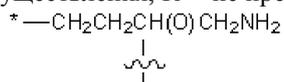
В одной группе вариантов осуществления изобретения L_p представляет собой гетероциклическое кольцо, имеющее функциональные группы, которые независимо могут образовывать ковалентные связи с указанными компонентами to the noted компоненты (например, триазольное гетероциклическое кольцо образованное из хлорангидрида циануровой кислоты). В другой группе вариантов осуществления изобретения L_p представляет собой алкан, имеющий присоединенные функциональные группы, как указано выше. В еще других вариантах осуществления, L_p может представлять собой атом азота.

В некоторых вариантах осуществления L_p в $-\text{L}_p(\text{PEG})$ -, после компоновки, имеет формула, указанную ниже:



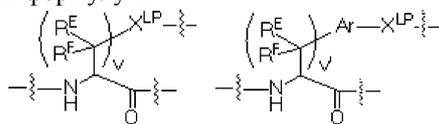
где волнистая линия указывает участки присоединения в конъюгате лиганд-лекарственное вещество или его промежуточном соединении, R^{100} имеет значения, определенные выше, звездочкой указано присоединение к атому углерода, отмеченному x , и волнистая линия указывает один из трех участков присоединения; Y выбран независимо из N или CH, Y' выбран независимо из NH, O или S, и каждый индекс c обозначает целое число, независимо выбранное из от 1 до 10, и предпочтительно, 1, 2 или 3.

В предпочтительных вариантах осуществления, R^{110} не представляет собой



В некоторых вариантах осуществления L_p или его субзвено представляет собой аминокандиовую кислоту, диаминоалкановую кислоту, замещенную серусодержащим заместителем алкандиовую кислоту, замещенную серусодержащим заместителем аминокандиовую кислоту, диаминоалканол, аминокандиол, гидроксилзамещенную алкандиовую кислоту, гидроксилзамещенную аминокандиовую кислоту или замещенный серусодержащим заместителем остаток аминоканола, необязательно замещенные, где серусодержащий заместитель находится в восстановленном или окисленном виде.

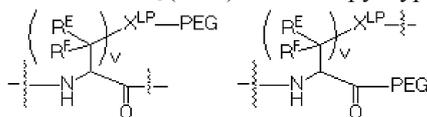
В некоторых вариантах осуществления параллельное соединительное звено или его аминокислотное субзвено имеет формулу A или формулу B



(Формула A) (Формула B)

где индекс v обозначает целое число в диапазоне от 1 до 4; индекс v' обозначает целое число в диапазоне от 0 до 4; X^{LP} представлен боковой цепью природной или не природной аминокислоты или выбран из группы, включающей $-O-$, $-NR^{LP}-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $S(=O)_2-$, $-C(=O)-$, $-C(=O)N(R^{LP})-$, $-N(R^{LP})C(=O)N(R^{LP})-$ и $-N(R^{LP})C(=NR^{LP})N(R^{LP})-$, где каждый R^{LP} независимо выбран из группы, включающей водород и необязательно замещенный алкил, или два R^{LP} вместе со своими промежуточными атомами определяют гетероциклоалкил, и оставшиеся R^{LP} имеют значения, определенные выше; Ar представляет собой арилен или гетероарил, необязательно замещенные; каждый R^E и R^F независимо выбраны из группы, включающей $-H$, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный арил и необязательно замещенный гетероарил, или R^E и R^F вместе с тем же атомом углерода, к которому они присоединены, или R^E и R^F соседних атомов углерода вместе этими атомами углерода обозначают необязательно замещенный циклоалкил, при этом остальные заместители R^E и R^F определены выше; и где волнистые линии указывают на ковалентное присоединение в структуре формулы A или формулы B в структуре LDC.

В некоторых вариантах осуществления $-L_p(PEG)-$ имеет структуру формулы A1 или A2



(Формула A1) (Формула A2)

где переменные группы являются такими, как указано в формуле A.

В некоторых вариантах осуществления L_p имеет структуру формулы, где X^P представлен боковой цепью природной или не природной аминокислоты.

В предпочтительных вариантах осуществления формулы A, формулы A1, формулы A2 или форму-

лы В, R^E и R^F независимо выбраны из группы, включающей -H и -C₁-C₄-алкил. В предпочтительных вариантах осуществления формулы А, формулы А1 или формулы А2, X^{LP} выбран из группы, включающей -O-, -NH-, -S- и -C(=O)-.

В некоторых вариантах осуществления L_p или его подзвено выбраны из группы, включающей лизин, глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту, цистеин, пеницилламин, серин или треонин в D- или L-стереохимической конфигурации.

В других вариантах осуществления, L_p или его подзвено выбраны из группы, включающей лизин, глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту, цистеин или пеницилламин в D- или L-стереохимической конфигурации.

В других вариантах осуществления, L_p или его подзвено представляет собой содержащую тиол аминокислоту в D- или L-стереохимической конфигурации. Содержащая тиол аминокислота представляет собой, предпочтительно, цистеин, гомоцистеин или пеницилламин.

В других вариантах осуществления L_p или его подзвено выбрано из группы, включающей следующие аминокислоты или содержащие амин кислоты: аргинин, аспарагиновая кислота, аспарагин, цистеин, гистидин, глутаминовая кислота, глутамин, фенилаланин, серии, тирозин, треонин, триптофан, орнитин, пеницилламин, аминоалкандионовая кислота, гетероцикло-карбоновая кислота, цитруллин, диаминоалкановая кислота и их производные в D- или L-стереохимической конфигурации.

В других вариантах осуществления L_p или его подзвено выбрано из группы, включающей цистеин, гомоцистеин, пеницилламин, орнитин, лизин, серин, треонин, глутамин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота и селеноцистеин.

В других вариантах осуществления L_p или L_p' или их подзвено выбраны из группы, включающей аргинин и производные аргинина. Характерные примеры аргинина и их производные включают, но этим не ограничиваются: аргинин (Arg), N-алкил-аргинин, H-Arg(Me)-OH, H-Arg(NH₂)-OH, H-Arg(NO₂)-OH, H-Arg(Ac)₂-OH, H-Arg(Me)₂-OH (асимметричный), H-Arg(Me)₂-OH (симметричный), 2-амино-4-(2'-гидроксигуанидино)бутановую кислоту (N-ω-гидрокси-нор-аргинин) и гомоаргинин.

В других вариантах осуществления L_p или L_p' или их подзвено выбраны из группы, включающей аспарагиновую кислоту и ее производные. Характерные примеры аспарагиновой кислоты и ее производных включают, но этим не ограничиваются: аспарагиновую кислоту (Asp), N-алкил-аспарагиновую кислоту и H-Asp(O-tBu)-OH.

В других вариантах осуществления L_p или его подзвено выбраны из группы, включающей аспарагин и его производные. Характерные примеры аспарагина и его производных включают, но этим не ограничиваются: аспарагин (Asn), N-алкил-аспарагин и изо-аспарагин (H-Asp-NH₂).

В других вариантах осуществления L_p или L_p' или их подзвено выбрано из группы, включающей глутаминовую кислоту и ее производные. Характерные примеры глутаминовой кислоты и ее производных включают, но этим не ограничиваются: глутаминовую кислоту (Glu), N-алкил-глутаминовую кислоту, H-Glu(OtBu)-OH, H-γ-гидрокси-Glu-OH, H-γ-метилен-Glu-OH, H-γ-карбоксо-[Glu(O-tBu)]₂-OH и пироглутаминовую кислоту.

В других вариантах осуществления L_p или L_p' или их подзвено выбраны из группы, включающей глутамин и его производные. Характерные примеры глутамин и его производные включают, но этим не ограничиваются: глутамин (Gln), N-алкил-глутамин, изоглутамин (H-Glu-NH₂), H-Gln(Trt)-OH и H-Gln(изопропил)-OH.

В других вариантах осуществления L_p или L_p' или их подзвено выбрано из группы, включающей лизин и его производные. Характерные примеры лизина и его производных включают, но этим не ограничиваются: лизин (Lys), N-алкил-лизин, H-Lys(Boc)-OH, H-Lys(Ac)-OH, H-Lys(Формил)-OH, H-Lys(Me)₂-OH, H-Lys(никотиноил)-OH, H-Lys(Me)₃-OH, H-транс-4,5-дегидро-Lys-OH, H-Lys(Alloc)-OH, H-Н-δ-гидрокси-Lys-OH, H-δ-гидрокси-Lys(Boc)-OH, H-Lys(ацетиамидоил)-OH и H-Lys(изопропил)-OH.

В других вариантах осуществления L_p или L_p' или их подзвено выбраны из группы, включающей серин и его производные. Характерные примеры серина и его производных включают, но этим не ограничиваются: серин (Ser), N-алкилсерин, H-Ser(O-Ac)-OH, H-Ser(O-t-Bu)-OH, H-Ser(O-Bzl)-OH, H-Ser(p-хлор-O-Bzl)-OH, H-p-(3,4-дигидроксифенил)-Ser-OH, H-β-(2-тиенил)-Ser-OH, изосерин N-алкил-изосерин, и 3-фенилизосерин.

В других вариантах осуществления L_p или L_p' или их подзвено выбраны из группы, включающей тирозин и его производные. Характерные примеры тирозина и его производных включают, но этим не ограничиваются: тирозин (Tyr), N-алкилтирозин, H-3,5-динитро-Tyr-OH, H-3-амино-Tyr-OH, H-3,5-дибром-Tyr-OH, H-3,5-дийод-Tyr-OH, H-Tyr(OMe)-OH, H-Tyr(O-t-Bu)-OH, H-Tyr(O-Boc)-OH, H-Tyr(O-Bzl)-OH, H-Tyr(O-Et)-OH, H-3-йод-Tyr-OH и H-3-нитро-Tyr-OH.

В других вариантах осуществления L_p, L_p' или их подзвено выбраны из группы, включающей треонин и его производные. Характерные примеры треонина и его производных включают, но этим не ограничиваются: треонин (Thr), N-алкил-треонин, allo-треонин, H-Thr(OAc)-OH, H-Thr(O-t-Bu)-OH и H-Thr(OBzl)-OH.

В других вариантах осуществления L_p, L_p' или их подзвено выбраны из группы, включающей трип-

тофан и его производные. Характерные примеры триптофана и его производных включают, но этим не ограничиваются: триптофан (Trp), N-алкил-триптофан, H-5-Me-Trp-OH, H-5-гидрокси-Trp-OH, H-4-Me-Trp-OH, H- α -Me-Trp-OH, H-Trp(Boc)-OH, H-Trp(формил)-OH и H-Trp(Мезитилен-2-сульфонил)-OH.

В других вариантах осуществления L_P , L_P' или их подзвено выбраны из группы, включающей орнитин и его производные. Характерные примеры орнитина и его производных включают, но этим не ограничиваются: орнитин (Orn), N-алкилорнитин, H-Orn(Boc)-OH, H-Orn(Z)-OH, H- α -дифтор-Ме-Orn-OH (эфлорнитин) и H-Orn(Alloc)-OH.

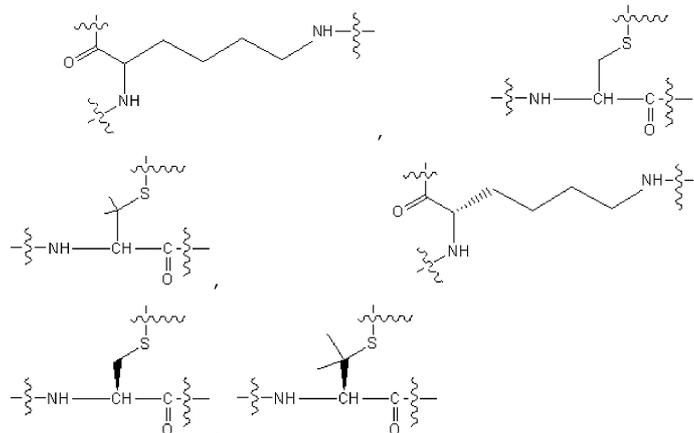
В других вариантах осуществления L_P , L_P' или их подзвено выбраны из группы, включающей пеницилламин и его производные. Характерные примеры пеницилламина и его производных включают, но этим не ограничиваются: пеницилламин, H-пеницилламин(Асm)-OH (H- β,β -диметил суc(Асm)-OH) и N-алкилпеницилламин.

В других вариантах осуществления L_P или его подзвено выбраны из группы, включающей аминокандиовую кислоту и ее производные. Характерные примеры аминокандиовой кислоты и ее производных включают, но этим не ограничиваются: N-алкиламиноалкандиовую кислоту, 2-аминогександиовую кислоту, 2-аминогептандиовую кислоту, 2-аминооктандиовую кислоту (H-Asu-OH).

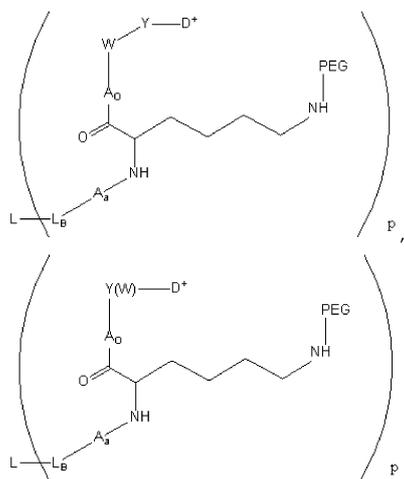
В других вариантах осуществления L_P или его подзвено выбраны из группы, включающей цитруллин и его производные. Характерные примеры цитруллина и его производных включают, но этим не ограничиваются: цитруллин (cit), N-алкилцитруллин, тиоцитруллин, S-метилтиоцитруллин и гомоцитруллин.

В других вариантах осуществления L_P , L_P' или их подзвено выбраны из группы, включающей диаминоалкановую кислоту и ее производные. Характерные примеры диаминоалкановой кислоты (Dab) и ее производных включают, но этим не ограничиваются: N-алкилдиаминоалкановые кислоты, N,N-диалкиламиноалкановые кислоты, α,γ -диаминобутановую кислоту (H-Dab-OH), H-Dab(Alloc)-OH, H-Dab(Boc)-OH, H-Dab(Z)-OH, α,β -диаминопропионовую кислоту и ее варианты с защищенной боковой цепью.

Пример звена L_P или его субзвена, лизина или цистеина или пеницилламина показан ниже. Волнистая линия указывает участки присоединения к PEG и L_P в L_P (PEG)- в линкерном звене. L- и D-изомеры аминокислот являются подходящими для использования в настоящем документе

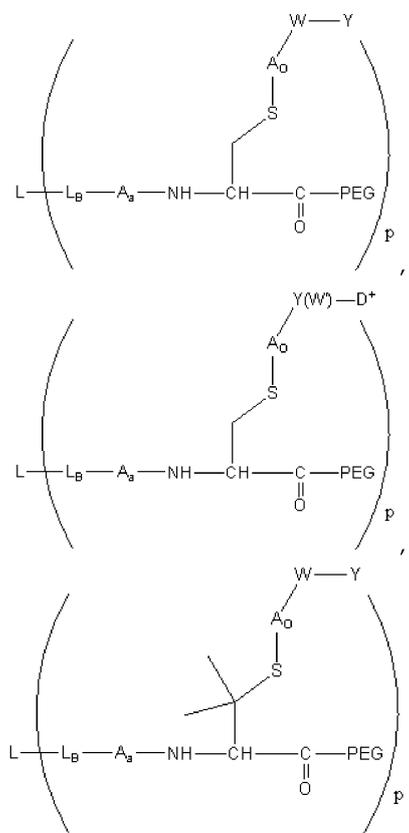


Пример конъюгата лиганд-лекарственное вещество, имеющее лизин в качестве звена L_P , показан ниже, где L_B , A, A_0 , L, W, W', Y, D^+ , PEG, индексы a и p, и PEG имеют значения, описанные в настоящем документе. L- и D-изомеры аминокислот являются подходящими для использования в настоящем документе



Пример конъюгата лиганд-лекарственное вещество, имеющего цистеин или пеницилламин в качестве звена L_p, показан ниже, где

L_B, A, A_O, L, W, W', Y, D⁺, PEG, индексы a и p и PEG имеют значения, описанные в настоящем документе. L- и D-изомеры изомеры аминокислот являются подходящими для использования в настоящем документе



1.3.3. PEG звено.

PEG звенья, рассмотренные в настоящем документе, предназначены для придания соответствующего уровня маскировки гидрофобности гидрофобных звеньев кватернизованного тубулизинового лекарственного соединения и других гидрофобных компонентов фрагмента кватернизованного лекарственного соединения с линкером конъюгата лекарственного соединения с лигандом. По этой причине включение PEG звена, как описано в настоящем документе, особенно подходит для соединений кватернизованного тубулизина с линкером, что в противном случае могло бы придать достаточную гидрофобность для отрицательного воздействия на фармакокинетику получаемого конъюгата по сравнению с неконъюгированным нацеливающим агентом лигандного звена. Эти ухудшенные фармакокинетические параметры включают больший клиренс в плазме, что может быть связано с гидрофобностью тубулизинового соединения, которое кватернизовано в конъюгате лекарственного соединения с лигандом. Таким образом, конъюгаты лекарственных соединений с лигандом, имеющие звено кватернизованного тубулизинового лекарственного соединения, которые демонстрирует значительно больший клиренс в плазме и, соответственно, более низкое воздействие на плазму по сравнению с неконъюгированным нацеливающим агентом лигандного звена, будут иметь преимущества в соответствии с настоящим изобретением. Конъюгаты лекарственных соединения с лигандом по настоящему изобретению имеют такие более благоприятные фармакокинетические свойства благодаря параллельной ориентации внутри гидрофобного фрагмента лекарственного соединения с линкером звена кватернизованного тубулизинового лекарственного соединения и PEG звена, в результате чего отрицательное влияние гидрофобности звена кватернизованного лекарственного соединения может быть дополнительно усугублено другими гидрофобными компонентами фрагмента кватернизованного тубулизинового лекарственного соединения с линкером, при достаточном снижении или устранении плазменного клиренса (то есть гидрофобность фрагмента лекарственного соединения с линкером маскируется).

Для получения соединений по настоящему изобретению могут быть использованы полидисперсные PEG, монодисперсные PEG и дискретные PEG. Полидисперсные PEG представляют собой неоднородную по размерам и молекулярным массам смесь, тогда как монодисперсные PEG обычно очищены от неоднородных смесей и поэтому обеспечивают одну длину цепи и молекулярную массу. Предпочтительными PEG звеньями являются дискретные PEG, соединения, которые синтезируются поэтапно, а не посредством процесса полимеризации. Дискретные PEG обеспечивают одну молекулу с определенной и

конкретной длины цепи.

PEG звено, предложенное в настоящем документе, содержит одну или несколько полиэтиленгликолевых цепей. Полиэтиленгликолевые цепи могут быть связаны вместе, например, в линейной, разветвленной или звездообразной конфигурации. Обычно по меньшей мере одна из цепей PEG дериватизируется на одном конце для ковалентного присоединения к параллельному соединительному звену. Примерами присоединения к параллельному соединительному звену являются посредством нерасщепляемых при определенных условиях связей или через расщепляемые при определенных условиях связи. Примерами присоединения являются амидная связь, эфирные связи, сложноэфирные связи, гидразоновые связи, оксимные связи, дисульфидные связи, пептидные связи или триазольные связи. В некоторых аспектах присоединение к L_p осуществляется посредством нерасщепляемой при определенных условиях связи. В некоторых аспектах присоединение к L_p происходит посредством не сложноэфирной связи, гидразоновой связи, оксимной связи или дисульфидной связи. В некоторых аспектах прикрепление к L_p происходит не через гидразоновую связь.

Расщепляемая при определенных условиях связь относится к связи, которая по существу не чувствительна к расщеплению при циркуляции в плазме, но чувствительна к расщеплению во внутриклеточной или внутриопухолевой среде. Нерасщепляемая при определенных условиях связь представляет собой связь, которая по существу не чувствительна к расщеплению в любой биологической среде. Химический гидролиз гидразона, восстановление дисульфида и ферментативное расщепление пептидной связи или гликозидной связи являются примерами расщепляемых при определенных условиях связей.

PEG звено будет непосредственно присоединено к конъюгату лекарственного соединения с лигандом (или его промежуточному соединению) в параллельном соединительном звене. Другой конец (или концы) PEG звена будет свободным и не связанным, и может принимать вид метокси, карбоновой кислоты, спирта или другой подходящей функциональной группы. Метокси, карбоновая кислота, спирт или другая подходящая функциональная группа действует в качестве заглушки для концевого PEG субзвена в PEG звене. Под не связанным подразумевается, что на этом несвязанном участке PEG звено не будет присоединено к лекарственному звену, лигандному блоку или связывающему компоненту, связывающему лекарственное звено и/или лигандное звено. Для тех вариантов осуществления, в которых элемент PEG содержит более одной цепи PEG, множество цепей PEG могут быть одинаковыми или разными химическими фрагментами (например, PEG с разной молекулярной массой или числом субъединиц). Несколько цепей PEG присоединены к параллельному соединительному звену в одном сайте присоединения. Специалисту в данной области понятно, что PEG звено в дополнение к повторяющимся полиэтиленгликолевым субзвеньям может также содержать вещество, не являющееся PEG (например, для облегчения соединения нескольких цепей PEG друг с другом или для облегчения соединения с параллельным соединительным звеном). Вещество, не являющееся PEG, относится к атомам в PEG звене, которые не являются частью повторяющихся субъединиц $-CH_2CH_2O-$. В вариантах осуществления, представленных в настоящем документе, PEG звено может содержать две мономерные цепи PEG, связанные друг с другом посредством элементов, не являющихся PEG. В других вариантах осуществления, представленных в настоящем документе, PEG звено может содержать две линейные цепи PEG, присоединенные к центральному ядру, которое присоединено к параллельному соединительному звену (то есть само PEG звено разветвлено).

Существует ряд способов присоединения PEG, доступных специалистам в данной области [см., например, Goodson, et al. (1990) *Bio/Technology* 8:343 (PEGylation of interleukin-2 at its glycosylation site after site-directed mutagenesis); EP 0401384 (связывание PEG с G-CSF); Malik, et al., (1992) *Exp. Hematol.* 20:1028-1035 (PEGylation of GM-CSF using tresyl chloride); ACT Pub. № WO 90/12874 (ПЭГилирование эритропоэтина, содержащего рекомбинантно введенный остаток цистеина, с использованием цистеин-специфического производного mPEG); Патент США № 5757078 (ПЭГилирование пептидов EPO); Патент США № 5672662 (Поли (этиленгликоль) и родственные полимеры, монозамещенные пропионовой или бутановой кислотой и их функциональные производные для биотехнических применений); Патент США № 6077939 (ПЭГилирование N-концевого альфа-углерода пептида); Veronese et al., (1985) *Appl. Biochem. Bioelectron* 11:141-142 (ПЭГилирование N-концевого α -углерода пептида с PEG-нитрофенилкарбонатом ("PEG-NPC") или PEG-трихлорфенилкарбонатом); и Veronese (2001) *Biomaterials* 22: 405-417 (обзорная статья о ПЭГилировании пептидов и белков)].

Например, PEG может быть ковалентно связан с аминокислотными остатками через реакционно-способную группу. Реакционноспособными группами являются такие, с которыми может быть связана активированная молекула PEG (например, свободная амино или карбоксильная группа). Например, N-концевые аминокислотные остатки и остатки лизина (K) имеют свободную аминогруппу; и C-концевые аминокислотные остатки имеют свободную карбоксильную группу. Сульфгидрильные группы (например, как обнаружено на остатках цистеина) также могут быть использованы в качестве реакционно-способной группы для присоединения PEG. Кроме того, были описаны ферментативные способы введения активированных групп (например, гидразидной, альдегидной групп и группы ароматического амина) специфически на C-конце полипептида (см., Schwarz, et al. (1990) *Methods Enzymol.* 184:160; Rose, et al. (1991) *Bioconjugate Chem.* 2:154; и Gaertner, et al. (1994) *J. Biol. Chem.* 269:7224].

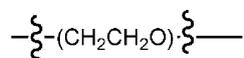
В некоторых вариантах осуществления молекулы PEG могут быть присоединены к аминокетильным группам с использованием метоксилированного PEG ("mPEG"), имеющего различные реакционноспособные фрагменты. Неограничивающие примеры таких реакционноспособных групп включают сукцинимидилсукцинат (SS), сукцинимидилкарбонат (SC), mPEG-имидат, пара-нитрофенилкарбонат (NPC), сукцинимидилпропионат (SPA) и хлоридангидрид циануровой кислоты. Неограничивающие примеры таких mPEG включают mPEG-сукцинимидилсукцинат (mPEG-SS), mPEG₂-сукцинимидилсукцинат (mPEG₂-SS); mPEG-сукцинимидилкарбонат (mPEG-SC), mPEG₂-сукцинимидилкарбонат (mPEG₂-SC); mPEG-имидат, mPEG-пара-нитрофенилкарбонат (mPEG-NPC), mPEG-имидат; mPEG₂-нитрофенилкарбонат (mPEG₂-NPC); mPEG-сукцинимидилпропионат (mPEG-SPA); mPEG₂-сукцинимидилпропионат (mPEG₂-SPA); mPEG-N-гидроксисукцинимид (mPEG-NHS); mPEG₂-N-гидроксисукцинимид (mPEG₂-NHS); mPEG-цианурхлорид; mPEG₂-цианурхлорид; mPEG₂-Lysinol-NPC и mPEG₂-Lys-NHS.

Как правило, по крайней мере одна из цепей PEG, составляющих PEG звено, функционализована так, что она может подключаться к параллельному соединительному звену. Функционализация может осуществляться, например, через амин, тиол, сложный эфир NHS, малеимид, алкин, азид, карбонил или другую функциональную группу. PEG звено может дополнительно содержать вещество, не являющееся PEG (то есть вещество, не содержащее -CH₂CH₂O-), для облегчения соединения с параллельным соединительным звеном или для облегчения соединения двух или более цепей PEG.

Может быть использован широкий спектр видов полиэтиленгликоля (PEG) и, по существу, можно использовать любой подходящий реакционноспособный реагент PEG. В некоторых вариантах осуществления реакционноспособный реагент PEG будет приводить к образованию карбаматной или амидной связи при присоединении к L_p. Следующие реагенты PEG используются в различных вариантах осуществления: mPEG₂-NHS, mPEG₂-ALD, multi-Arm PEG, mPEG(MAL)₂, mPEG₂(MAL), mPEG-NH₂, mPEG-SPA, mPEG-SBA, mPEG-тиоэфиры, mPEG-двойные сложные эфиры, mPEG-BTC, mPEG-ButyrALD, mPEG-ACET, гетерофункциональные PEG (NH₂-PEG-COOH, Вос-PEG-NHS, Fmoc-PEG-NHS, NHS-PEG-VS, NHS-PEG-MAL), PEG-акрилаты (ACRL-PEG-NHS), PEG-фосфолипиды (например, mPEG-DSPE), многорукие PEG серии SUNBRITE™, включая серию GL на основе глицерина, активированные химически, выбранные специалистами в данной области, любой PEG, активированных SUNBRITE (включая, но не ограничиваясь ими, карбоксил-PEG, p-NP-PEG, трезил-PEG, альдегидные PEG, ацеталь-PEG, аминокетильный PEG, тиол-PEG, малеимидо-PEG, гидроксил-PEG-амин, аминокетильный-PEG-COOK-гидрокси-PEG-альдегид, PEG-карбоксильный ангидрид, функционализированный PEG-фосфолипид и другие подобные и/или подходящие реакционноспособные PEG, выбранные специалистами в данной области для их конкретного применения и использования.

Добавление PEG звена может иметь два потенциальных воздействия на фармакокинетику получаемого конъюгата лекарственного соединения с линкером. Желательным воздействием является уменьшение клиренса (и, как следствие, увеличение воздействия), которое возникает из-за снижения неспецифических взаимодействий, вызванных действующими гидрофобными элементами лекарственного соединения с линкером. Второе воздействие представляет собой нежелательное воздействие, и представляет собой уменьшение объема и скорости распределения, которые могут возникнуть в результате увеличения молекулярной массы конъюгата лекарственного соединения с лигандом. Увеличение количества субзвеньев PEG увеличивает гидродинамический радиус конъюгата, что приводит к снижению диффузионной способности. В свою очередь, пониженная диффузионная способность может уменьшить способность конъюгата лекарственного соединения с лигандом проникать в опухоль (Schmidt and Wittrup, Mol. Cancer Ther. 2009;8:2861-2871). Из-за этих двух конкурирующих фармакокинетических эффектов желательнее использовать PEG, который является достаточно большим, чтобы уменьшить клиренс LDC, таким образом увеличивая воздействие на плазму, но не настолько большим, чтобы значительно уменьшить его диффузионную способность, что может снизить способность конъюгата лекарственного соединения с лигандом достигать популяции клеток-мишеней.

В одной группе вариантов осуществления изобретения звено PEG содержит по меньшей мере 6 субзвеньев, по меньшей мере 7 субзвеньев, по меньшей мере 8 субзвеньев, по меньшей мере 9 субзвеньев, по меньшей мере 10 субзвеньев, по меньшей мере 11 субзвеньев, по меньшей мере 12 субзвеньев, по меньшей мере 13 субзвеньев, по меньшей мере 14 субзвеньев, по меньшей мере 15 субзвеньев, по меньшей мере 16 субзвеньев, по меньшей мере 17 субзвеньев, по меньшей мере 18 субзвеньев, по меньшей мере 19 субзвеньев, по меньшей мере 20 субзвеньев, по меньшей мере 21 субзвено, по меньшей мере 22 субзвена, по меньшей мере 23 субзвена или по меньшей мере 24 субзвена. Как используется в настоящем документе субзвено, когда оно указано в отношении звена PEG, относится к полиэтиленгликолевому субзвену, имеющему формулу

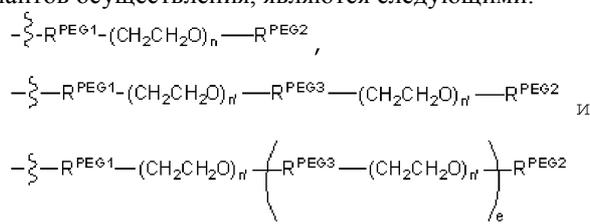


В другой группе вариантов осуществления изобретения звено PEG содержит один или несколько прямых цепей PEG, каждая имеющая по меньшей мере 2 субзвена, по меньшей мере 3 субзвена, по меньшей мере 4 субзвена, по меньшей мере 5 субзвеньев, по меньшей мере 6 субзвеньев, по меньшей

мере 7 субзвеньев, по меньшей мере 8 субзвеньев, по меньшей мере 9 субзвеньев, по меньшей мере 10 субзвеньев, по меньшей мере 11 субзвеньев, по меньшей мере 12 субзвеньев, по меньшей мере 13 субзвеньев, по меньшей мере 14 субзвеньев, по меньшей мере 15 субзвеньев, по меньшей мере 16 субзвеньев, по меньшей мере 17 субзвеньев, по меньшей мере 18 субзвеньев, по меньшей мере 19 субзвеньев, по меньшей мере 20 субзвеньев, по меньшей мере 21 субзвено, по меньшей мере 22 субзвена, по меньшей мере 23 субзвена или по меньшей мере 24 субзвена. В предпочтительных вариантах осуществления, звено PEG содержит в общей сумме по меньшей мере 6 субзвеньев, по меньшей мере 8, по меньшей мере 10 субзвеньев или по меньшей мере 12 субзвеньев. В некоторых таких вариантах осуществления изобретения звено PEG содержит в общей сумме не более чем около 72 субзвена, предпочтительно, в общей сумме не более чем около 36 субзвеньев.

В другой группе вариантов осуществления изобретения звено PEG является производным линейной цепи PEG, имеющей от 2 до 72, от 2 до 60, от 2 до 48, от 2 до 36 или от 2 до 24 субзвеньев, от 2 до 72, от 2 до 60, от 2 до 48, от 2 до 36 или от 2 до 24 субзвеньев, от 3 до 72, от 3 до 60, от 3 до 48, от 3 до 36 или от 3 до 24 субзвеньев, от 3 до 72, от 3 до 60, от 3 до 48, от 3 до 36 или от 3 до 24 субзвеньев, от 4 до 72, от 4 до 60, от 4 до 48, от 4 до 36 или от 4 до 24 субзвеньев, от 5 до 72, от 5 до 60, от 5 до 48, от 5 до 36 или от 5 до 24 субзвеньев.

Примеры линейных звеньев PEG, которые могут быть использованы в любом из представленных в настоящем документе вариантов осуществления, являются следующими:



где волнистая линия показывает место присоединения к параллельному соединительному звену, R^{PEG1} представляет собой PEG связывающее звено, R^{PEG2} представляет собой PEG ограничивающее звено; R^{PEG3} представляет собой PEG связывающее звено (то есть для связывания вместе нескольких цепей субъединиц PEG), индекс n независимо выбран из от 2 до 72 (предпочтительно, от 4 до 72, более предпочтительно, от 6 до 72, от 8 до 72, от 10 до 72, от 12 до 72 или от 6 до 24); индекс e обозначает от 2 до 5, каждый индекс n' независимо выбран из от 1 до 72.

В предпочтительных вариантах осуществления имеется по меньшей мере 6, предпочтительно, по меньшей мере 8, по меньшей мере 10 или по меньшей мере 12 PEG субзвеньев в звене PEG. В некоторых вариантах осуществления имеется не более чем 72 или 36 PEG субзвеньев в звене PEG.

В других предпочтительных вариантах осуществления, индекс n обозначает 8 или около 8, 12 или около 12, 24 или около 24.

Звено присоединения PEG является частью PEG звена и служит для соединения PEG звена с параллельным соединительным звеном. В этом отношении параллельное соединительное звено имеет функциональную группу, которая образует связь со PEG звеном. Функциональные группы для присоединения PEG звена к параллельному соединительному звену включают сульфгидрильные группы с образованием дисульфидных связей или тиоэфирных связей, альдегидные, кетоновые или гидразиновые группы с образованием гидразоновых связей, гидроксилы с образованием оксимных связей, карбоксильные или амино группы с образованием пептидных связей, карбоновые или гидроксигруппы с образованием сложнэфирных связей, сульфоновые кислоты с образованием сульфонамидных связей, спирты с образованием карбаматных связей и амины с образованием сульфонамидных связей или карбаматных связей или амидных связей. Соответственно, PEG звено может быть присоединено к параллельному соединительному звену, например, через дисульфидную, тиоэфирную, гидразоновую, оксимную, пептидную, сложнэфирную, сульфонамидную, карбаматную или амидную связи. Обычно звено присоединения PEG является продуктом реакции циклоприсоединения, присоединения, присоединения/элиминирования или замещения, которая происходит при присоединении PEG звена к параллельному соединительному звену.

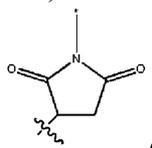
PEG связывающее звено является частью звена PEG и представляет собой не-PEG вещество, которое действует для соединения двух или более цепей повторяющихся субзвеньев CH_2CH_2O -. В примерах вариантов осуществления PEG связывающее звено R^{22} представляет собой $-C_{1-10}$ алкил- $C(O)$ -NH-, $-C_{1-10}$ алкил-NH- $C(O)$ -, $-C_{2-10}$ алкил-NH-, $-C_{2-10}$ алкил-O-, $-C_{1-10}$ алкил-S- или $-C_{2-10}$ алкил-NH-.

В примерах вариантов осуществления PEG связывающее звено R^{20} представляет собой $-C(O)$ -, $-O$ -, $-S$ -, $-S(O)$ -, $-NH$ -, $-C(O)O$ -, $-C(O)C_{1-10}$ алкил-, $-C(O)C_{1-10}$ алкил-O-, $-C(O)C_{1-10}$ алкил- CO_2 -, $-C(O)C_{1-10}$ алкил-NH-, $-C(O)C_{1-10}$ алкил-S-, $-C(O)C_{1-10}$ алкил- $C(O)$ -NH-, $-C(O)C_{1-10}$ алкил-NH- $C(O)$ -, $-C_{1-10}$ алкил-, $-C_{1-10}$ алкил-O-, $-C_{1-10}$ алкил- CO_2 -, $-C_{1-10}$ алкил-NH-, $-C_{1-10}$ алкил-S-, $-C_{1-10}$ алкил- $C(O)$ -NH-, $-C_{1-10}$ алкил-NH- $C(O)$ -, $-CH_2CH_2SO_2-C_{1-10}$ алкил-, $-CH_2C(O)-C_{1-10}$ алкил-, $=N(O)$ или $N)-C_{1-10}$ алкил-O-, $=N(O)$ или $N)-C_{1-10}$ алкил-NH-, $=N(O)$ или $N)-C_{1-10}$ алкил- CO_2 -, $=N(O)$ или $N)-C_{1-10}$ алкил-S-



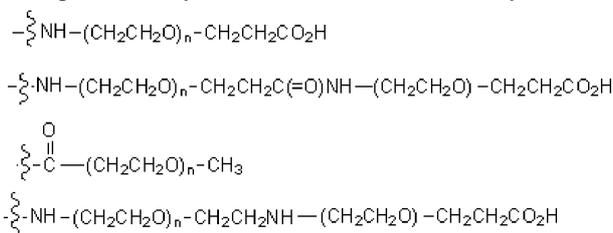
где каждый R^{21} независимо представляет собой $-C_{1-10}$ алкил, $-C_{2-10}$ алкил- CO_2H , $-C_{2-10}$ алкил- OH , $-C_{2-10}$ алкил- NH_2 , C_{2-10} алкил- $NH(C_{1-3}$ алкил) или C_{2-10} алкил- $N(C_{1-3}$ алкил) $_2$; и каждый R^{22} независимо представляет собой $-C_{1-10}$ алкил- $C(O)-NH-$, $-C_{1-10}$ алкил- $NH-C(O)-$, $-C_{2-10}$ алкил- $NH-$, $-C_{2-10}$ алкил- $O-$, $-C_{1-10}$ алкил- $S-$ или $-C_{2-10}$ алкил- $NH-$

В некоторых вариантах осуществления R^{20} представляет собой $-NH-$, $-C(=O)-$, триазол-связанные группы или $-S-$ или малеимида-связанные группы, такие как



где волнистая линия указывает участок присоединения к параллельному соединительному звену, и звездочка указывает участок присоединения в звене PEG. В некоторых из таких аспектов R^{21} представляет собой C_{1-10} алкил, $-C_{2-10}$ алкил- CO_2H , $-C_{2-10}$ алкил- OH или $-C_{2-10}$ алкил- NH_2 .

Показательные линейные звенья PEG, которые могут быть использованы в любом из представленных в настоящем документе вариантов осуществления, являются следующими:



где волнистая линия показывает место присоединения к параллельному соединительному звену, и каждое подзвено n независимо выбрано из от 4 до 72, от 6 до 72, от 8 до 72, от 10 до 72, от 12 до 72, от 6 до 24 или от 8 до 24. В некоторых аспектах n обозначает около 8, около 12 или около 24.

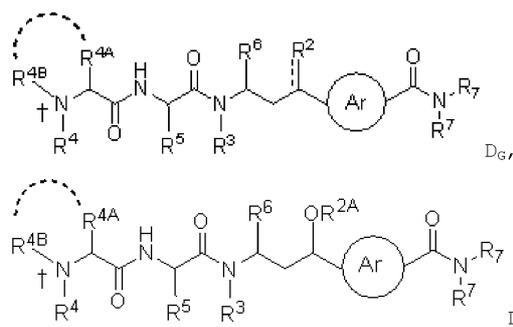
Как описано в настоящем документе, звено PEG выбрано так, что оно улучшает клиренс полученного конъюгата лекарственного соединения с лигандом, но не оказывает существенного влияния на способность конъюгата проникать в опухоль. В вариантах осуществления, где звено кватернизованного лекарственного соединения и $-W-Y-$ или $-Y(W')$ в линкерном звене конъюгата лекарственного соединения с лигандом имеет гидрофобность, сравнимую с таковой у малеимида глюкуронидного ММАЕ лекарственного соединения с линкером (как показано в примерах), PEG звено, которое будет выбрано для использования, будет состоять из от 8 субъединиц до приблизительно 24 субъединиц, более предпочтительно, около 12 субъединиц. В вариантах осуществления, где звено кватернизованного лекарственного соединения и $-W-Y-$ или $-Y(W')$ в линкерном звене конъюгата лекарственного соединения с лигандом имеет гидрофобность выше чем у малеимида глюкуронидного ММАЕ лекарственного соединения с линкером, может быть выбрано PEG звено с большим количеством субъединиц. Методика, показанная в разделе примеров, может быть использована для определения идеального количества субъединиц для конкретного соединения лекарственного соединения с линкером.

Понятно, что когда ссылаются на субъединицы PEG, и в зависимости от контекста, число субъединиц может представлять собой среднее число, например, когда ссылаются на совокупность конъюгатов лекарственных соединений с лигандом или на промежуточные соединения (например, соединения лекарственного соединения с линкером), и используя полидисперсные PEG.

1.3.4. Кватернизованные тубулизины.

В одной группе вариантов осуществления изобретения звено кватернизованного тубулизинового лекарственного соединения включает или соответствуют по структуре тубулизину, имеющему третичный амин на N-конце, где атом азота этого третичного амина находится в кватернизованном виде.

В некоторых вариантах осуществления звено кватернизованного лекарственного вещества представляет собой такой тубулизин, который представлен структурой формулы D_G , D_H или D_H' , где указанный азот (\dagger) представляет собой участок кватернизации, когда такие соединения включены в LDC или в соединение лекарственного соединения с линкером в виде кватернизованного звена лекарственного вещества (D^+)



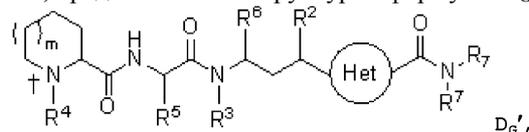
где указанный азот (\dagger) представляет собой участок кватернизации, когда такое тубулизиновое соединение включено в LDC или соединение лекарственного соединения с линкером в виде звена кватернизированного тубулизинового лекарственного вещества (D^+); кольцо представляет собой 5-членный или 6-членный азотсодержащий гетероарил, где указанные обязательные заместители этого гетероарила находятся в 1,3- или мета-связи друг к другу при обязательном замещении по остальным положениям; изогнутая пунктирная линия обозначает необязательную циклизацию; the прямая пунктирная линия к R^2 обозначает необязательную двойную связь или необязательно два случая R^2 , независимо выбранных, или дивалентный O-связанный фрагмент; R^2 представляет собой X^A-R^{2A} , где R^{2A} представляет собой водород, необязательно замещенный алкил, насыщенный или ненасыщенный, или $-C(=O)R^B$, где R^B представляет собой водород, необязательно замещенный алкил, насыщенный или ненасыщенный, необязательно замещенный алкенил или необязательно замещенный арил; X^A представляет собой $-O-$, $-S-$, $-N(R^{2C})-$, $-CH_2-$, $-C(=O)-$, $(C=O)N(R^{2C})-$ или $-O(C=O)N(R^{2C})-$, где R^{2C} представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, или R^2 представляет собой моновалентный O-связанный заместитель, и двойная связь к R^2 отсутствует, или R^2 представляет собой O, и двойная связь к R^2 присутствует; R^3 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил; R^4 , R^{4A} , R^{4B} , R^5 и R^6 представляют собой необязательно замещенный алкил, независимо выбранный, или R^{4A} и R^{4B} , вместе с атомами, к которому они присоединены, определяют необязательно замещенный гетероциклоалкил, как показано изогнутой пунктирной линией между R^{4A} и R^{4B} и R^4 , R^5 и R^6 имеют значения, определенные выше; один R^7 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, и другой R^7 представляет собой необязательно замещенный арилалкил или необязательно замещенный гетероарилалкил.

В других вариантах осуществления кватернизированное лекарственное вещество представляет собой тубулизин, представленный структурой формулы D_G , где один R^7 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, предпочтительно, водород или C_1-C_4 , и другой R^7 представляет собой независимо выбранный необязательно замещенный алкил, предпочтительно, C_1-C_6 -алкил, замещенный необязательно замещенный фенилом или $-CO_2H$ или его сложноэфирное пролекарственное вещество; R^{4A} и R^{4B} , вместе с атомами, к которым они присоединены, определяют необязательно замещенный C_5-C_6 -гетероциклоалкил; и другие переменные группы имеют значения, определенные выше.

В некоторых вариантах осуществления формулы D_G R^2 представляет собой X^A-R^{2A} , где X^A представляет собой $-O-$ и R^{2A} представляет собой $-C(=O)R^C$, где R^C представляет собой водород, необязательно замещенный алкил, предпочтительно, метил, этил, винил или разветвленный алкил, или R^2 представляет собой моновалентный O-связанный заместитель, выбранный из группы, включающей сложный эфир.

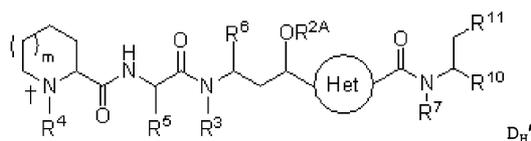
В другом варианте осуществления формулы D_G R^2 представляет собой X^A-R^{2A} , где X^A представляет собой $-O-$; и R^{2A} представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, насыщенный или ненасыщенный, или R^2 представляет собой моновалентный O-связанный заместитель, выбранный из группы, включающей эфиры.

В предпочтительных вариантах осуществления звено кватернизированного лекарственного вещества представляет собой тубулизин, представленный структурой формулы D_G'



где индекс m обозначает 0 или 1, один R^7 представляет собой водород, и другой R^7 представляет собой необязательно замещенный арилалкил, где алкильный фрагмент замещен $-CO_2H$ или его сложный эфир и остальные переменные группы являются такими, как указано для формулы D_G .

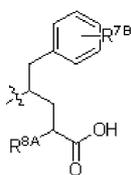
В других предпочтительных вариантах осуществления в формуле D_G $-N(R^7)(R^7)$ заменен на $-N(R^7)-CH(R^{10})(CH_2R^{11})$ для определения кватернизированных тубулизиновых лекарственных веществ формулы D_H'



где R^{10} представляет собой C_1 - C_6 -алкил, замещенный $-CO_2H$ или его сложным эфиром, и R^7 представляет собой водород или C_1 - C_6 , алкил независимо выбранный из R^{10} , или R^7 и R^{10} вместе с атомами, к которому они присоединены, обозначают 5 или 6-членный гетероцикл; и R^{11} представляет собой арил или 5- или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный одним или несколькими, предпочтительно, 1 или 2, более предпочтительно, 1, заместителями, независимо выбранными из группы, включающей галоген, низший алкил, $-OH$ и $-O-C_1-C_6$ -алкил, предпочтительно, $-F$, $-CH_3$, и $-OCH_3$; и остальные переменные группы являются такими, как указано для формулы D_H .

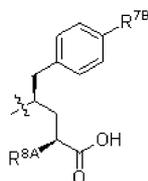
В еще других аспектах один R^7 в $-N(R^7)(R^7)$ в формуле D_G , формуле D_G' или формуле D_H представляет собой водород или C_1 - C_6 -алкил, и другой R^7 независимо выбран из C_1 - C_6 -алкила, необязательно замещенного группой $-CO_2H$ или ее сложным эфиром, или необязательно замещенным фенилом.

В некоторых вариантах осуществления формулы D_G , формулы D_G' или формулы D_H один R^7 представляет собой водород, и другой R^7 представляет собой необязательно замещенный арилалкил, имеющий структуру



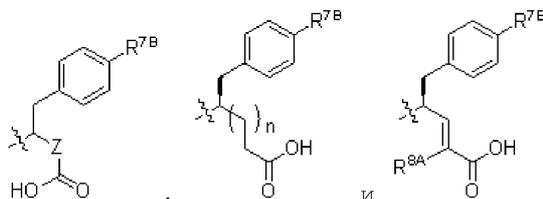
где R^{7B} представляет собой водород или O -связанный заместитель, предпочтительно водород или $-OH$ в пара положении, и R^{8A} представляет собой водород или низший алкил, предпочтительно, метил; и где волнистая линия указывает точку присоединения к остатку D_G , D_G' или D_H .

В предпочтительных вариантах осуществления формулы D_G , формулы D_G' или формулы D_H , один R^7 представляет собой водород, и другой R^7 представляет собой необязательно замещенный арилалкил, имеющий структуру



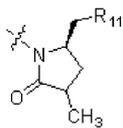
где R^{7B} представляет собой $-H$ или $-OH$; и где волнистая линия указывает точку присоединения к остатку D_G или D_G' .

В других вариантах осуществления структуры формулы D_G , формулы D_G' или формулы D_H один R^7 представляет собой водород или C_1 - C_4 -алкил, предпочтительно, водород или метил, более предпочтительно, водород, и другой R^7 представляет собой необязательно замещенный арилалкил, имеющий одну из структур



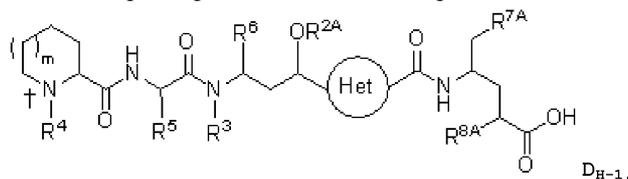
где Z представляет собой необязательно замещенный алкилен или необязательно замещенный алкенилен, R^{7B} представляет собой водород или O -связанный заместитель, предпочтительно, водород или $-OH$ в пара положении, R^{8A} представляет собой водород или низший алкил, предпочтительно, метил, и индекс n обозначает 0, 1 или 2, предпочтительно, 0 или 1; и где волнистая линия указывает точку присоединения к остатку D_G или D_H .

В некоторых вариантах осуществления структуры D_H' R^7 и R^{10} вместе с атомами, к которому они присоединены, определяют необязательно замещенный 5 или 6-членный гетероцикл, где $-N(R^7)-CH(R^{10})(CH_2R^{11})$ имеет следующую структуру



где волнистая линия указывает точку присоединения к остатку D_H' .

Некоторые предпочтительные кватернизированные звенья лекарственного вещества представляют собой тубулизин, представленный формулой D_{H-1} , где указанный азот (\dagger) представляет собой участок кватернизации, когда такое тубулизиновое соединение включено в LDC или соединение лекарственного соединения с линкером в виде кватернизированного звена лекарственного вещества (D^+)

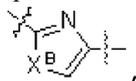


где кольцо представляет собой 5-членный или 6-членный азотсодержащий гетероарил, где указанные обязательные заместители этого гетероарила находятся в 1,3- или мета-положении друг к другу при обязательном замещении по остальным положениям, R^{2A} представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, или R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, обозначает O-связанный заместитель, иной чем -OH; R^3 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил; R^4 , R^{4A} , R^{4B} , R^5 и R^6 представляют собой необязательно замещенный алкил, независимо выбранный; R^{7A} представляет собой необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил, R^{8A} представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, и индекс m обозначает 0 или 1.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления формулы D_G , D_G' , D_H , D_H' или D_{H-1} R^4 представляет собой метил или этил, R^3 представляет собой необязательно замещенный алкил, и R^5 и R^6 представляют собой независимо выбранные остатки боковых цепей природных гидрофобных аминокислот и остальные переменные группы являются такими, как указано.

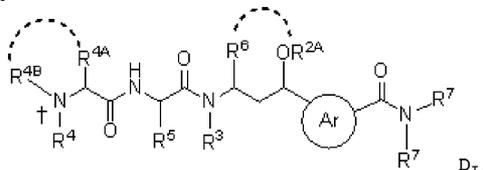
В других предпочтительных вариантах осуществления формулы D_{H-1} R^{7A} представляет собой необязательно замещенный фенил. В другом предпочтительном варианте R^{8A} представляет собой метил в (S)-конфигурации. В других предпочтительных вариантах осуществления D_H , D_H' или D_{H-1} R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, обозначает O-связанный заместитель, иной чем -OH, более предпочтительно, сложный эфир, простой эфир или O-связанный карбамат. В более предпочтительных вариантах осуществления кольцо представляет собой 5-членный азотсодержащий гетероарил с особенно предпочтительным фрагментом дивалентного оксазола или тиазола. В других предпочтительных вариантах осуществления R^4 представляет собой метил, или R^{4A} и R^{4B} представляют собой метил. В других предпочтительных вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенный арилалкил, где арил представляет собой фенил, и R^{7A} представляет собой необязательно замещенный фенил.

В других вариантах осуществления формулы кольцо D_G , D_G' , D_H , D_H' или D_{H-1} представляет собой 5-членный азот гетероарил, предпочтительно, представленных структурой



где X^B представляет собой O, S или $N-R^B$, где R^B представляет собой водород или низший алкил. Предпочтительно, кватернизированное лекарственное вещество представляет собой такой тубулизин, представленный структурой формулы D_G' , D_H , D_H' или D_{H-1} , где индекс m обозначает 1. Более предпочтительными являются тубулизины, представленные структурой формулы D_G' , D_H , D_H' или D_{H-1} , где индекс m обозначает 1 и кольцо представляет собой необязательно замещенный фрагмент дивалентного тиазола.

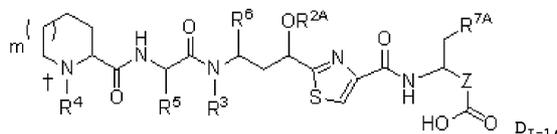
Другими кватернизированными звеньями лекарственного вещества являются тубулизин, представленный структурой формулы D_I



где указанный азот (\dagger) представляет собой участок кватернизации, когда такое тубулизиновое соединение соответствует или включено в LDC или соединение лекарственного соединения с линкером в виде кватернизированного звена лекарственного вещества (D^+); изогнутые пунктирные линии указывают на необязательную циклизацию; R^{2A} представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, или R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, обозначает O-связанный заместитель, иной чем -OH, или R^{2A} отсутствует, когда R^6 связан с этим атомом кислорода, как показано изогнутой пунктирной линией между R^6 и атомом кислорода, обозначая кислородсодержащий гетероциклоалкил; обведенный кружком Ar представляет собой 5-членный азотсодержащий гетероарил, где указанные обязательные заместители на этом гетероариле находятся в 1,3-положении по отношению друг к другу при обязательном замещении по остальным положениям, R^3 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил; R^4 , R^5 и R^6 представляют собой необязательно замещенный алкил, независимо выбранный, или R^6 присоединен к атому кислорода фрагмента $-OR^{2A}$, в котором R^{2A} отсутствует, и R^4

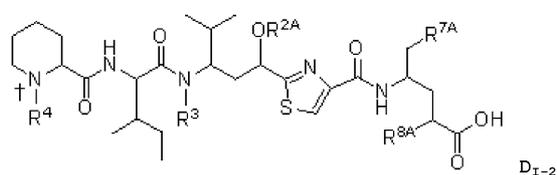
и R^5 имеют значения, определенные выше; R^{4a} представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, и R^{4b} представляет собой необязательно замещенный алкил, или оба вместе с атомом азота, к которому они присоединены, как показано изогнутой пунктирной линией между R^{4a} и R^{4b} , обозначают гетероциклоалкил с кватернизированным атомом азота, необязательно замещенным; один R^7 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, и другой R^7 представляет собой необязательно замещенный аралкил или гетероаралкил; где волнистая линия указывает на ковалентное связывание структуры D^+ с остатком структуры LDC.

В этих вариантах осуществления тубулизиновое соединение, предпочтительно, имеет структуру формулы D_{I-1}



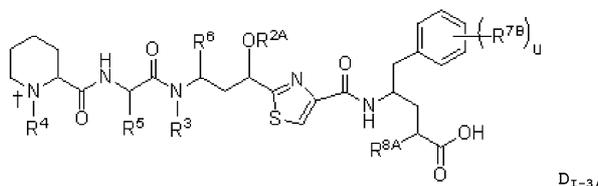
где индекс m обозначает 0 или 1; Z представляет собой необязательно замещенный алкилен или необязательно замещенный алкенилен; R^{7A} представляет собой необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил; и другие переменные группы имеют значения, определенные выше для формулы D_1 .

В предпочтительных вариантах осуществления формулы D_1 тубулизиновое соединение имеет структуру формулы D_{I-2}



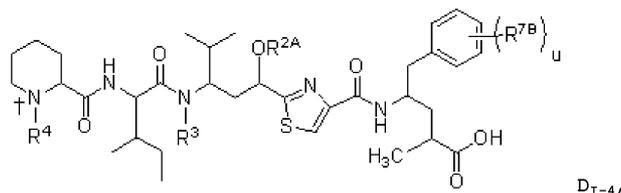
где R^{7A} представляет собой необязательно замещенный фенил; R^{8A} представляет собой водород или метил; и другие переменные группы имеют значения, определенные выше для формулы D_1 .

В других предпочтительных вариантах осуществления формулы D_1 тубулизиновое соединение имеет структуру формулы D_{I-3}



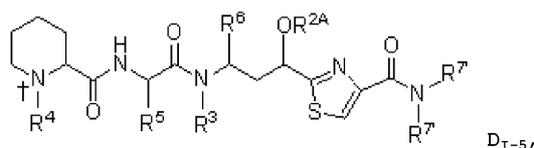
где R^5 и R^6 представляют собой остатки боковых алкильных цепей природных или не природных гидрофобных аминокислот, независимо выбранных; индекс u , указывающий число заместителей R^{7B} , обозначает 0, 1, 2 или 3; каждый R^{7B} , когда присутствует, представляет собой независимо выбранный O-связанный заместитель; R^{8A} представляет собой водород или необязательно замещенный алкил; и другие переменные группы имеют значения, определенные выше для формулы D_1 .

В более предпочтительных вариантах осуществления формулы D_1 тубулизиновое соединение имеет структуру формулы D_{I-4}



где указанный азот (\dagger) представляет собой участок кватернизации, когда такое тубулизиновое соединение соответствует или включено в LDC или соединении лекарственного соединения с линкером в виде кватернизированного звена лекарственного вещества (D^+); R^4 представляет собой метил; индекс u обозначает 0, 1 или 2; R^3 представляет собой H, метил, этил, пропил, $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{R}^{3A}$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{R}^{3B})\text{C}(\text{O})\text{R}^{3A}$ или $-\text{CH}(\text{R}^{3B})\text{C}(\text{O})\text{NHR}^{3A}$, где R^{3A} представляет собой C_1 - C_6 -алкил, и R^{3B} представляет собой H или C_1 - C_6 -алкил, независимо выбранный из R^{3A} ; R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, представляет собой O-связанный заместитель, выбранный из группы, включающей $\text{OCH}_2\text{OCH}_2\text{R}^{2B}$, $-\text{OCH}_2\text{R}^{2B}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^{2B}$, $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{R}^{2B}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{2B})(\text{R}^{2C})$ и $-\text{OCH}_2\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{2B})(\text{R}^{2C})$, где R^{2B} и R^{2C} независимо выбраны из группы, включающей H, C_1 - C_6 -алкил и C_2 - C_6 -алкенил; и каждый R^{7B} , когда присутствует, независимо представляет собой $-\text{OH}$ или $-\text{OCH}_3$.

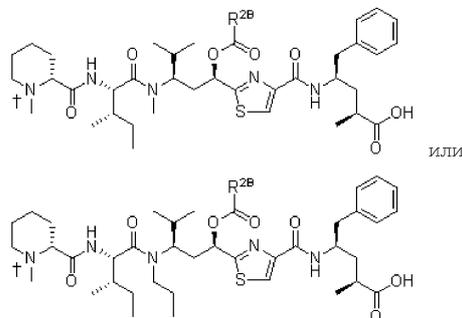
В других более предпочтительных вариантах осуществления формулы D_1 тубулизиновое соединение имеет структуру формулы D_{I-5}



где указанный азот (†) представляет собой участок кватернизации, когда такое тубулизиновое соединение соответствует или включено в LDC или соединение лекарственного соединения с линкером в виде кватернизированного звена лекарственного вещества (D^+); R^{2A} представляет собой водород, необязательно замещенный алкил, насыщенный или ненасыщенный, или R^2 вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, обозначает O-связанный заместитель, иной чем -OH; R^3 представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил; R^4 представляет собой метил; R^5 и R^6 представляют собой остатки боковых алкильных цепей природных гидрофобных аминокислот; и фрагмент $-N(R^7)(R^7)$ представляет собой $-NH(C_1$ - C_6 -алкил) или $-NH-N(C_1$ - C_6 -алкил) $_2$, где один и только один C_1 - C_6 -алкил необязательно замещен $-CO_2H$ группой или ее сложным эфиром или необязательно замещенным фенилом с фрагментом $-N(R^7)(R^7)$ предпочтительно выбранным из группы, включающей $-NH(CH_3)$, $-NHCH_2CH_2Ph$, и $-NHCH_2CO_2H$, $NHCH_2CH_2CO_2H$ и $-NHCH_2CH_2CH_2CO_2H$.

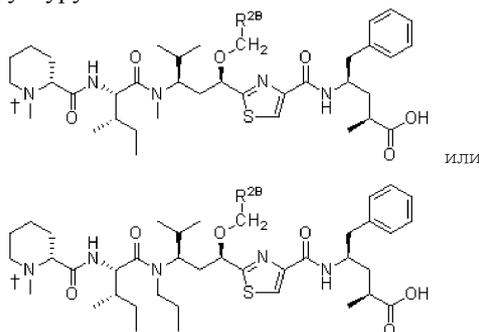
В любой одной формуле D_H , $D_{H'}$, D_{H-1} , D_I , D_{I-1} , D_{I-2} , D_{I-3} , D_{I-4} и D_{I-5} , предпочтительно, R^{2A} представляет собой $-CH_2CH_3$, $-CH_2-CH=CH_2$ или $-CH_2-C(CH_3)=CH_2$.

В конкретных предпочтительных вариантах осуществления формулы D_I тубулизиновое соединение имеет следующую структуру:



где R^{2B} представляет собой $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CH_2CH_2CH_3$, $-CH(CH_3)_2$, $-CH_2CH(CH_3)_2$, $-CH_2C(CH_3)_3$; и указанный азот (†) представляет собой участок кватернизации, когда такое тубулизиновое соединение соответствует или включено в LDC или соединение лекарственного соединения с линкером в виде кватернизированного звена лекарственного вещества (D^+).

В других конкретных предпочтительных вариантах осуществления формулы D_I тубулизиновое соединение имеет следующую структуру:



где R^{2B} представляет собой водород, метил или $-OCH_3$ (то есть $-OCH_2R^{2B}$ представляет собой заместитель метил, этил или метоксиметилэфир), или $-OCH_2R^{2B}$ представляет собой $OCH_2CH=CH_2$ или $-OCH_2C(CH_3)=CH_2$; и указанный азот (†) представляет собой участок кватернизации, когда такое тубулизиновое соединение соответствует или включено в LDC или соединение лекарственного соединения с линкером в виде кватернизированного звена лекарственного вещества (D^+).

В других предпочтительных вариантах осуществления любой из формул D_{I-1} , D_{I-2} , D_{I-3} , D_{I-4} или D_{I-5} :

гетероциклическое ядро тиазола заменено на ИЛИ .

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления любой из формул D_H , $D_{H'}$, D_{H-1} , D_I , D_{I-1} , D_{I-2} , D_{I-3} , D_{I-4} и D_{I-5} R^3 представляет собой метил или представляет собой $-CH_2OC(=O)R^{3A}$, где R^{3A} представляет собой необязательно замещенный алкил. В других предпочтительных вариантах осуществления любая из этих структур R^3 представляет собой $-C(R^{3A})(R^{3A})C(=O)-X^C$, где X^C представляет собой $-OR^{3B}$ или $-N(R^{3C})(R^{3C})$, где каждый R^{3A} , R^{3B} и R^{3C} независимо представляет собой водород, необязательно за-

мещенный алкил или необязательно замещенный циклоалкил. Предпочтительно, R^3 представляет собой $-C(R^{3A})(R^{3A})C(=O)-N(R^{3C})(R^{3C})$, где каждый R^{3A} представляет собой водород, один R^{3C} представляет собой водород, а другой R^{3C} представляет собой н-бутил или, более предпочтительно, изопропил.

В других предпочтительных вариантах осуществления тубулизин, соответствующий или включенный как D^+ в LDC, представляет собой природный тубулизин, в том числе тубулизин А, тубулизин В, тубулизин С, тубулизин D, тубулизин Е, тубулизин F, тубулизин G, тубулизин H, тубулизин I, тубулизин U, тубулизин V, тубулизин W, тубулизин X или тубулизин Z, структуры которых представлены описаниями следующих структур и переменных групп, где указанный азот (\oplus) представляет собой участок кватернизации, когда такое соединения включено в LDC в виде звена кватернизированного лекарственного вещества (D^+)

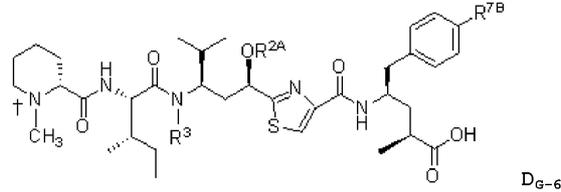


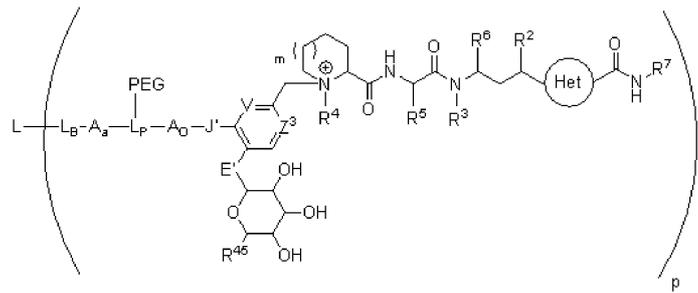
Таблица 1. Некоторые природные тубулизины

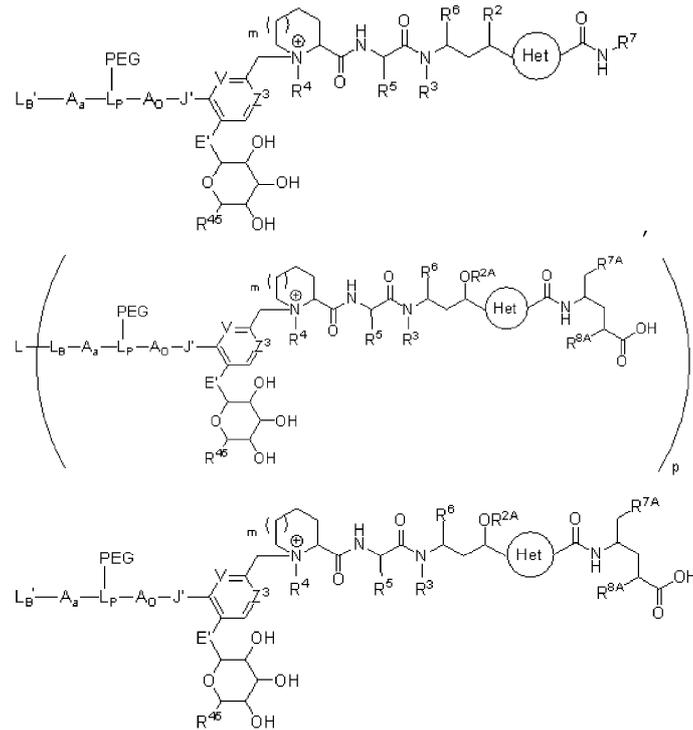
Тубулизин	R^{7B}	R^{2A}	R^3
A	OH	$C(=O)CH_3$	$CH_2O(C=O) i-Bu$
B	OH	$C(=O)CH_3$	$CH_2O(C=O) n-Pr$
C	OH	$C(=O)CH_3$	$CH_2O(C=O) Et$
D	H	$C(=O)CH_3$	$CH_2O(C=O) i-Bu$
E	H	$C(=O)CH_3$	$CH_2O(C=O) n-Pr$
F	H	$C(=O)CH_3$	$CH_2O(C=O) Et$
G	OH	$C(=O)CH_3$	$CH_2O(C=O) CH=CH_2$
H	H	$C(=O)CH_3$	$CH_2O(C=O) Me$
I	OH	$C(=O)CH_3$	$CH_2O(C=O) Me$
U	H	$C(=O)CH_3$	H
V	H	OH	H
Z	OH	OH	H

В конкретных предпочтительных вариантах осуществления кватернизированный тубулизин представляет собой такой тубулизин M.

1.4.1. Соединения лекарственного соединения с линкером $L_B'-L_O-D^+$.

В других предпочтительных вариантах осуществления $L_B'-L_O-D^+$ или $L_B-L_O-D^+$ имеет следующую структуру:

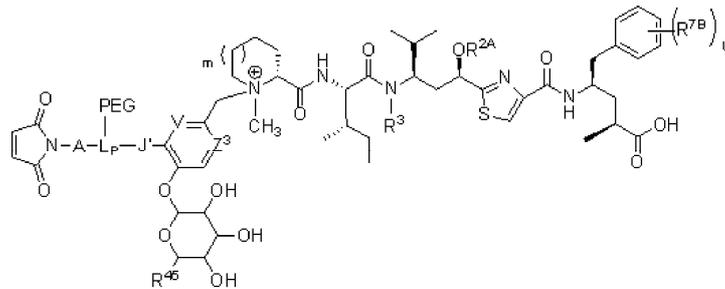




где R^2 , R^{2A} , R^3 , R^4 , R^{4A} , R^{4B} , R^5 , R^6 , R^7 , R^{7A} и R^{8A} являются такими, как описано тубулизиновых лекарственных веществ в свободной виде в структуре D_G' , D_H , $D_{H'}$, D_{H-1} , D_I , D_{I-1} , D_{I-2} , D_{I-3} , D_{I-4} и D_{I-5} , и L_B , L_A' , L_P , PEG, A, A_O , V и Z^3 , и индексы m и p являются такими, как описано выше для L_B - и L_B' -содержащих фрагментов, описанных в настоящем документе; E' и J' независимо представляют собой -O-, -S- или -N(R^{33}), где R^{33} представляет собой водород или необязательно замещенный алкил; и R^{45} представляет собой CO_2H или CH_2OH . В более предпочтительных вариантах осуществления J' представляет собой -NH-. В других предпочтительных вариантах осуществления E' представляет собой -O-.

Более предпочтительными являются такие варианты осуществления где L_B' представляет собой малеимидный (M^1) фрагмент или L_B представляет собой сукцинимидный (M^2) или амиднокислотный (M^3) фрагмент.

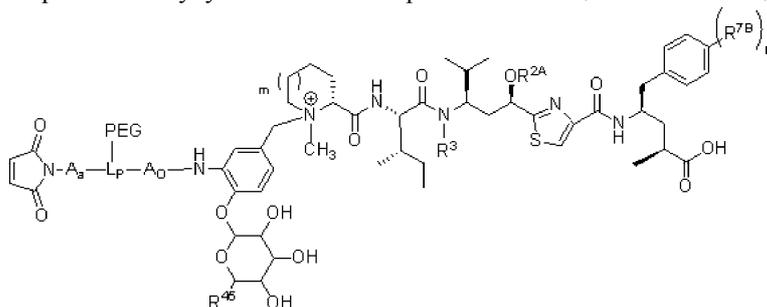
В других более предпочтительных вариантах осуществления $L_B'-L_O-D^+$ имеет следующую структуру:

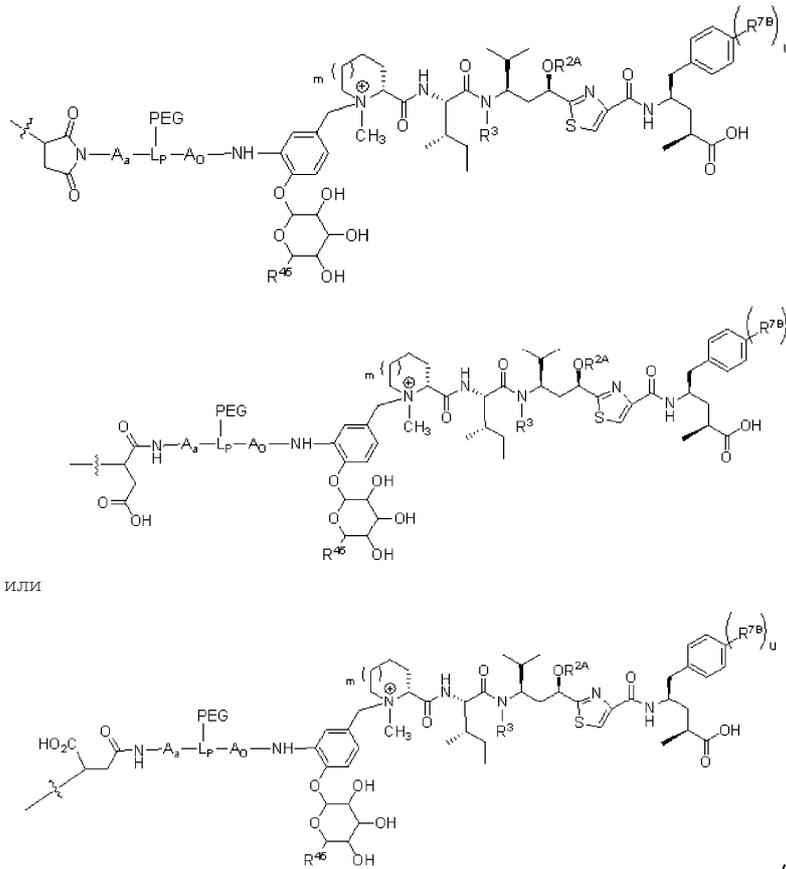


или

где A, R^{2A} , R^3 , R^{45} , R^{7B} , R^{45} , и индекс u имеют значения, определенные выше. В более предпочтительных вариантах осуществления один или оба из V, Z^3 представляют собой =CH-.

В более предпочтительных вариантах осуществления фрагмент $L_B'-L_O-D^+$ или $-L_B-L_O-D^+$, включающий звено кватернизованного тубулизинового лекарственного вещества имеет следующую структуру:





где волнистая линия указывает ковалентное связывание с сульфгидрильной группой лигандного звена. В более предпочтительных вариантах осуществления карбогидратный фрагмент, ковалентно присоединенный к саморазрушающемуся фрагменту Y посредством гликозидной связи, имеет свой аномерный углерод в β -конфигурации. В других более предпочтительных вариантах осуществления R^{45} представляет собой $-\text{CH}_2\text{OH}$ или $-\text{CO}_2\text{H}$.

В любом из вышеуказанных вариантов осуществления для L_B -, L_B' -, M^1 -, M^2 - или M^3 -содержащих фрагментов, включающих кватернизированное тубулизиновое лекарственное соединение, R^3 представляет собой, предпочтительно, метил, или R^2 , предпочтительно, представляет собой ацетат, или индекс m обозначает, предпочтительно, 1. Также, предпочтительными для таких как L_B -, L_B' -, M^1 -, M^2 - или M^3 -содержащих фрагментов являются такие, где R^3 представляет собой метил, этил или пропил и $-\text{OR}^{2A}$ представляет собой $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ или $-\text{OCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$. В любых таких вариантах осуществления индекс u обозначает 0 или обозначает 1 и R^{7B} представляет собой $-\text{OH}$.

1.5.1. Лечение гиперпролиферативных состояний.

Конъюгаты лекарственных соединений с лигандом могут быть использованы для ингибирования размножения опухолевой или раковой клетки, вызывая апоптоз в опухолевой или раковой клетке, или для лечения злокачественного новообразования у пациента. Конъюгаты лекарственных соединений с лигандом могут быть соответственно использованы в различных клинических базах для лечения рака. Конъюгаты лекарственных соединений с лигандом могут быть использованы для доставки лекарственного соединения в опухолевую клетку или раковую клетку. Не ограничиваясь какой-либо теорией, в одном варианте осуществления лигандное звено конъюгата лекарственного соединения с лигандом связывается или ассоциируется с клеточной поверхностью раковой клетки или антигеном или рецептором, ассоциированным с опухолевой клеткой, и после связывания конъюгата лекарственного соединения с лигандом может быть поглощен (интернализован) внутри опухолевой или раковой клетки посредством эндоцитоза, опосредованного антигеном или рецептором, или другим механизмом интернализации. Антиген может быть присоединен к опухолевой клетке или раковой клетке, или может представлять собой белок внеклеточного матрикса, связанный с опухолевой клеткой или раковой клеткой. Попадая внутрь клетки посредством ферментативного или неферментативного механизма расщепления, в зависимости от компонентов линкерной системы, лекарственное соединение высвобождается внутри клетки. В альтернативном варианте осуществления лекарственное соединение или звено лекарственного соединения отщепляется от конъюгата лекарственного соединения с лигандом в непосредственной близости от опухолевой клетки или раковой клетки, и лекарственное соединение или звено лекарственного соединения впоследствии проникает в клетку.

Конъюгаты лекарственных соединений с лигандом могут обеспечивать специфическое конъюгационное нацеливание на опухоль или рак лекарственного соединения, таким образом уменьшая общую токсичность лекарственного соединения.

В некоторых вариантах осуществления линкерные звенья стабилизируют конъюгаты лекарственных соединений с лигандом в крови, но способны высвободить лекарственное соединение, попав внутрь клетки.

В одном варианте осуществления лигандное звено связывается с опухолевой клеткой или раковой клеткой.

В другом варианте осуществления изобретения лигандное звено связывается с антигеном опухолевой клетки или раковой клетки, который находится на поверхности опухолевой клетки или раковой клетки.

В другом варианте осуществления изобретения лигандное звено связывается с антигеном опухолевой клетки или раковой клетки, который представляет собой белок внеклеточного матрикса, связанный с опухолевой клеткой или раковой клеткой.

Специфичность лигандной единицы для конкретной опухолевой клетки или раковой клетки может быть важна для определения тех опухолей или раковых заболеваний, которые можно лечить наиболее эффективно. Например, конъюгат лекарственного соединения с лигандом, имеющий лигандное звено BR96, может быть использован для лечения антиген-положительных карцином, в том числе рака легких, молочной железы, толстой кишки, яичников и поджелудочной железы. Конъюгаты лекарственных соединений с лигандом, имеющие анти-CD30 или анти-CD70-связывающую лигандное звено, могут быть использованы для лечения гематологических злокачественных новообразований.

Другие конкретные виды злокачественных новообразований, которые можно лечить с помощью конъюгатов лекарственных соединений с лигандом, включают, но не ограничиваются ими, следующие солидные опухоли, раковые заболевания крови, острые и хронические лейкозы и лимфомы.

Солидные опухоли включают, но не ограничиваются ими, фибросаркому, злокачественная миксома, липосаркому, хондросаркому, остеогенную саркому, хордому, ангиосаркому, эндотелиосаркому, лимфангиосаркому, лимфангиоэндотелиосаркому, синовиому, мезотелиому, опухоль Юинга, лейомиосаркому, рабдомиосаркому, рак толстой кишки, колоректальный рак, рак почки, рак поджелудочной рак, рак кости, рак молочной железы, рак яичников, рак предстательной железы, рак пищевода, рак желудка, рак ротовой полости, рак носа, рак горла, плоскоклеточный рак, базальноклеточный рак, аденокарциному, рак потовых желез, рак сальных желез, папиллярную карциному, папиллярную аденокарциному, цистаденокарциному, медуллярную карциному, бронхогенную карциному, почечно-клеточный рак, гепатому, рак желчных протоков, хориокарциному, семиному, эмбриональную карциному, опухоль Вильмса, рак матки, рак яичка, мелкоклеточный рак легкого, рак мочевого пузыря, рак легкого, эпителиальную карциному, глиому, мультиформную глиобластому, астроцитому, медуллобластому, краниофарингиому, эпендимому, пинеалому, гемангиобластому, акустическую неврому, олигодендроглиому, менингиому, рак кожи, меланому, нейробластому и ретинобластому.

Злокачественные новообразования, передающиеся через кровь, включают, но не ограничиваются ими, острый лимфобластный лейкоз "ALL", острый лимфобластный В-клеточный лейкоз, острый лимфобластный Т-клеточный лейкоз, острый миелобластный лейкоз "AML", острый промиелоцитарный лейкоз "APL", острый монобластный лейкоз, острый эритролейкемический лейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, острый миеломоноцитарный лейкоз, острый нелимфоцитарный лейкоз, острый недифференцированный лейкоз, хронический лимфолейкоз "CLL", волосатоклеточный лейкоз и множественная миелома.

Острые и хронические лейкозы включают, но не ограничиваются ими, лимфобластные, миелогенные, лимфоцитарные и миелоцитарные лейкозы.

Лимфомы включают, но не ограничиваются ими, болезнь Ходжкина, неходжкинскую лимфому, множественную миелому, макроглобулинемию Вальденстрема, болезнь тяжелых цепей и полицитемию вера.

Злокачественные новообразования, включая, но не ограничиваясь этим, опухоль, метастазы или другие заболевания или расстройства, характеризующиеся гиперпролиферирующими клетками, можно лечить или ингибировать их прогрессирование путем введения композиции ADC.

В других вариантах осуществления предложены способы лечения злокачественного новообразования, включающие введение пациенту, нуждающемуся в этом, эффективного количества композиции с LDC и химиотерапевтического агента. В одном варианте осуществления не было обнаружено, что злокачественное новообразование, подлежащее лечению химиотерапевтическим средством в сочетании с LDC, является невосприимчивым к химиотерапевтическому агенту. В другом варианте осуществления злокачественное новообразование, подлежащее лечению химиотерапевтическим средством в сочетании с ADC, является невосприимчивым к химиотерапевтическому агенту. Композиции с LDC могут быть введены пациенту, который, кроме того, перенес хирургическое вмешательство в виде лечения злокачественного новообразования.

В некоторых вариантах осуществления пациент, кроме того, получает дополнительное лечение, та-

кое как лучевая терапия. В конкретном варианте осуществления конъюгат лекарственного соединения с лигандом вводят одновременно с химиотерапевтическим агентом или с лучевой терапией. В другом конкретном варианте осуществления химиотерапевтический агент или лучевую терапию проводят до или после введения конъюгата лекарственного соединения с лигандом.

Химиотерапевтический агент может быть введен в течение серии сеансов. Можно вводить любое одно или комбинацию химиотерапевтических агентов, таких как стандартное лечебное химиотерапевтическое средство (средства).

Кроме того, способы лечения злокачественного новообразования с помощью конъюгата лекарственного соединения с лигандом предоставляются в качестве альтернативы химиотерапии или лучевой терапии, когда химиотерапия или лучевая терапия зарекомендовали себя или могут оказаться слишком токсичными, например, приводят к неприемлемым или невыносимым побочным эффектам для субъекта, которого лечат. Пациент, которого лечат, может, необязательно, проходить лечение другим методом лечения рака, таким как хирургическое вмешательство, лучевая терапия или химиотерапия, в зависимости от того, какое лечение считается приемлемым или переносимым.

1.6.1. Фармацевтические композиции.

Настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим композицию LDC, описанного в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли, и один или несколько фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ или от одного до четырех фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, которые в некоторых вариантах осуществления включают фармацевтически приемлемый носитель. Фармацевтические композиции могут быть в любой форме, которая позволяет вводить конъюгат лекарственного соединения с антителом в виде LDC пациенту для лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией антигена, с которым связывается антитело из ADC. Например, фармацевтические композиции могут быть в форме жидкости или лиофилизованного твердого вещества. Предпочтительным путем введения является парентеральный. Парентеральное введение включает подкожные инъекции, внутривенные, внутримышечные и интратеральные инъекции или инфузии. В предпочтительных вариантах осуществления фармацевтическую композицию, содержащую ADC, вводят внутривенно в виде жидкого раствора. Предпочтительно, жидкий раствор готовят путем восстановления твердого предварительного состава, полученного лиофилизацией жидкого предварительного состава, содержащего ADC, с использованием подходящего фармацевтически приемлемого носителя.

Фармацевтические композиции могут быть составлены таким образом, чтобы обеспечить биодоступность соединения при введении композиции пациенту. Такие композиции могут принимать форму одной или нескольких дозированных единиц, где, например, лиофилизованное твердое вещество может обеспечивать единичную дозированную единицу при восстановлении в виде раствора или суспензии при добавлении подходящего жидкого носителя.

Вещества, используемые при приготовлении фармацевтических композиций, предпочтительно являются нетоксичными в используемых количествах. Специалистам в данной области техники будет очевидно, что оптимальная дозировка активного ингредиента(ов) в фармацевтической композиции будет зависеть от множества факторов. Соответствующие факторы включают, без ограничения, тип животного (например, человек), конкретную форму фармацевтической композиции, способ введения и используемую композицию LDC.

Фармацевтическая композиция может быть, например, в форме жидкости. Жидкость может быть использована для доставки путем инъекции. В композицию для введения путем инъекции также могут быть включены одно или несколько из следующих: поверхностно-активного вещества, консерванта, смазывающего агента, диспергирующего агента, суспендирующего агента, буфера, стабилизатора и изотонического агента.

Жидкие композиции, будь то растворы, суспензии или другие подобные формы, также могут включать один или несколько из следующих компонентов: стерильные разбавители, такие как вода для инъекций, физиологический раствор, предпочтительно физиологический раствор, раствор Рингера, изотонический хлорид натрия, жирные масла, такие как синтетические моно- или диглицериды, которые могут служить растворителем или суспендирующей средой, полиэтиленгликоли, глицерин, циклодекстрин, пропиленгликоль или другие растворители; антибактериальные агенты, такие как бензиловый спирт или метилпарабен; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или бисульфит натрия; хелатообразующие агенты, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота; буферы, такие как аминокислоты, ацетаты, цитраты или фосфаты; детергенты, такие как неионогенные поверхностно-активные вещества, полиолы; и агенты для достижения тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. Парентеральная композиция может быть заключена в ампулу, одноразовый шприц или флакон с множественными дозами, изготовленный из стекла, пластика или другого материала. Физиологический солевой раствор является примером адьюванта. Инъецируемая фармацевтическая композиция, предпочтительно, является стерильной.

Количество конъюгата, которое является эффективным при лечении конкретного расстройства или состояния, будет зависеть от природы расстройства или состояния и может быть определено стандартными клиническими методами. Кроме того, *in vitro* или *in vivo* анализы необязательно могут быть использованы

для определения оптимальных диапазонов доз. Точная доза, которую следует применять в композициях, также будет зависеть от пути введения и серьезности заболевания или расстройства, и ее следует выбирать в соответствии с мнением практикующего врача и обстоятельствами каждого пациента.

Фармацевтическая композиция содержит эффективное количество композиции с LDC, так что получается подходящая дозировка для введения субъекту, нуждающемуся в этом. Обычно это количество составляет, по меньшей мере, около 0,01% от массы фармацевтической композиции.

Для внутривенного введения фармацевтическая композиция может содержать от около от 0,01 до около 100 мг композиции с LDC на кг массы тела животного. В одном аспекте фармацевтическая композиция может включать от около 1 до около 100 мг композиции ADC на кг массы тела животного. В другом аспекте вводимое количество будет в диапазоне от около 0,1 до около 25 мг/кг массы тела композиции ADC.

Как правило, доза композиции с LDC, вводимой пациенту, обычно составляет от около 0,01 мг/кг до около 100 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет от около 0,01 мг/кг до около 15 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет от около 0,1 мг/кг до около 15 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет от около 0,1 мг/кг до около 20 мг/кг массы тела субъекта. В других вариантах осуществления вводимая доза составляет от около 0,1 мг/кг до около 5 мг/кг или от около 0,1 мг/кг до около 10 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления вводимая доза составляет от около 1 мг/кг до около 15 мг/кг массы тела субъекта. В других вариантах осуществления вводимая доза составляет от около 1 мг/кг до около 10 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления вводимая доза составляет в диапазоне от около 0,1 до 4 мг/кг, предпочтительно, от 0,1 до 3,2 мг/кг или более, предпочтительно, от 0,1 до 2,7 мг/кг массы тела субъекта в течение цикла лечения.

LDC можно вводить любым удобным путем, например, путем инфузии или болюсной инъекции, путем абсорбции через эпителиальные или слизисто-кожные покровы (например, слизистую оболочку полости рта, слизистую оболочку прямой кишки и кишечника). Введение может быть системным или местным. Известны различные системы доставки, например, инкапсулирование в липосомы, микрочастицы, микрокапсулы, капсулы и могут быть использованы для введения соединения. В определенных вариантах осуществления пациенту вводят более одного соединения или композиции.

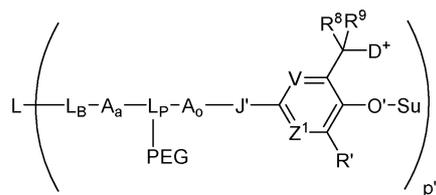
В одном варианте осуществления конъюгаты составляют в соответствии с обычными процедурами в виде фармацевтической композиции, адаптированной для внутривенного введения животным, особенно людям. Обычно носители или несущие среды для внутривенного введения представляют собой стерильные изотонические водные буферные растворы. При необходимости композиции также могут включать солибилизирующий агент. Композиции для внутривенного введения могут необязательно содержать местный анестетик, такой как лигнокаин, для ослабления боли в месте инъекции. Обычно ингредиенты поставляются либо по отдельности, либо в смешанном виде в форме стандартной лекарственной формы, например, в виде сухого лиофилизованного порошка или безводного концентрата в герметически закрытом контейнере, таком как ампула или саше, с указанием количества активного агента. Если конъюгат должен вводиться инфузией, его можно распределить, например, в инфузионную бутылку, содержащую стерильную воду или физиологический раствор фармацевтической степени чистоты. Когда конъюгат вводят инъекцией, может быть предоставлена ампула со стерильной водой для инъекций или с физиологическим раствором, так что ингредиенты могут быть смешаны перед введением.

Фармацевтические композиции, как правило, сформулированы как стерильные, практически изотонические и полностью соответствующие всем нормам надлежащей производственной практики (GMP) Управления по контролю пищевых продуктов и лекарственных средств США.

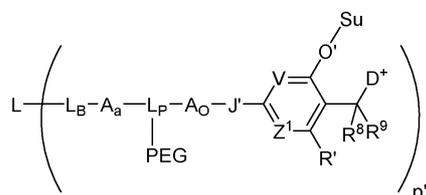
1.7.1. Пронумерованные варианты.

Следующие пронумерованные варианты дополнительно описывают изобретение, не ограничивая его.

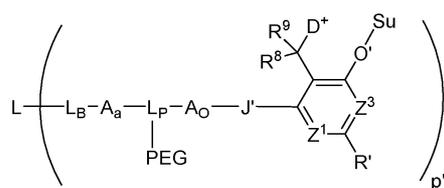
1. Конъюгат лекарственного средства с лигандом, представленный структурой одной из формул 2A-2F



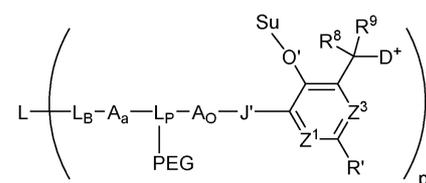
(Формула 2A)



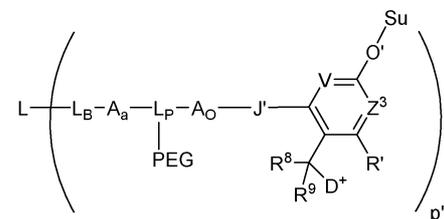
(Формула 2B)



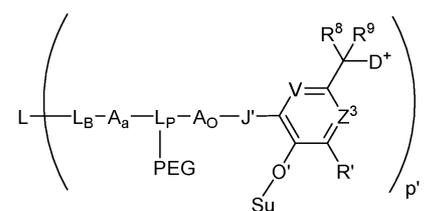
(Формула 2C)



(Формула 2D)



(Формула 2E)



(Формула 2F)

или его соль,

L представляет собой лигандное звено из антителя;

L_B представляет собой звено, ковалентно связывающее лиганд;

L_P представляет собой параллельное соединительное звено, где L_P представляет собой аминокан-дионовую кислоту, диаминоалкановую кислоту, серозамещенную алкандионовую кислоту, серозамещенную аминокан-дионовую кислоту, диаминоалканол, аминокан-диол, гидроксилзамещенную алкандионовую кислоту, гидроксилзамещенную аминокан-дионовую кислоту или серозамещенный остаток аминокан-диола, необязательно замещенные, где заместитель, содержащий серу, находится в восстановленном или окисленном виде или L_P представляет собой аминокислотный остаток лизина, аргинина, аспарагина, глутамина, орнитина, цитруллина, цистеина, гомоцистеина, пеницилламина, треонина, серина, глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, тирозина, гистидина или триптофана, где аминокислота имеет D- или L-конфигурацию;

PEG представляет собой полиэтиленгликолевое звено;

индекс a обозначает 0 или 1;

A представляет собой первое необязательное расширяющее звено, таким образом, когда индекс a

обозначает 0, А отсутствует, или, когда индекс а обозначает 1, А присутствует и необязательно включает два, три или четыре независимо выбранных субъединиц (А₁, А₂, А₃, А₄);

А₀ представляет собой второе необязательное расширяющее звено и необязательно включает два, три или четыре субъединицы независимо от А;

Su представляет собой углеводный фрагмент;

-O'- представляет собой атом кислорода O-гликозидной связи, расщепляемой гликозидазой;

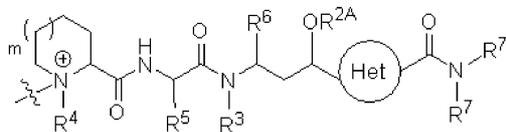
-J'- представляет собой -O-, -N(R³³)- или -S-, связанные непосредственно с А₀ или его субзвеном, или с L-L_B-L_P(PEG)- или L_B'-L_P(PEG)-, когда нет ни одного из А и А₀, через функциональную группу, содержащую J', где R³³ представляет собой -H, необязательно замещенный C₁-C₈-алкил или необязательно замещенный аралкил;

V, Z¹ и Z³ представляют собой =N- или =C(R²⁴)-, где R²⁴ представляет собой водород или C₁-C₆-алкил, C₂-C₆-алкенил или C₂-C₈-алкинил, необязательно замещенные, или галоген, -NO₂, -CN или другую электроноакцепторную группу, или -OCH₃ или другую электронодонорную группу;

R⁸ и R⁹, независимо, представляют собой водород, C₁-C₆-алкил, C₂-C₆-алкенил или C₂-C₆-алкинил, необязательно замещенные, или C₆-C₁₄-арил или C₅-C₁₄-гетероарил, необязательно замещенные;

R' представляет собой водород или представляет собой галоген, -NO₂, -CN или другую электроноакцепторную группу;

D⁺ представляет собой звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства, имеющего структуру



где кольцо Het представляет собой 5-членный азотсодержащий гетероарил, содержащий по меньшей мере один гетероатом, выбранный из группы, состоящей из N, O и S, и где указанные обязательные заместители на этом гетероариле находятся в 1,3-положении по отношению друг к другу при обязательном замещении по остальным положениям;

индекс m обозначает 0 или 1;

R^{2A} представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₈-алкил, или R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, обозначает O-связанный заместитель;

R³ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

R⁴, R⁵ и R⁶ представляют собой необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

один R⁷ представляет собой необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, необязательно замещенный C₆-C₁₈-арилалкил, необязательно замещенный C₆-C₁₈-гетероарилалкил, и другой R⁷ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

индекс p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 24;

где волнистая линия указывает на ковалентное связывание D⁺ к остатку соединения структуры конъюгата лекарственного средства с лигандом, и где каждый необязательно замещенный алкил выбран независимо;

где расщепление указанной O-гликозидной связи гликозидазой приводит к высвобождению тубулизинового соединения (D) из соединения конъюгата лекарственного средства с лигандом,

где термин "необязательно замещенный" относится к частице, которая может быть незамещена или замещена группой, выбранной из одного или нескольких атомов, выбранных из группы, состоящей из галогена, -CN, -OH, -NH₂, -NH(CH₃), -N(CH₃)₂, C₁-C₆-алкила, C₁-C₆-фторалкила, C₁-C₆-фторалкокси, C₁-C₆-гетероалкила, C₃-C₈-циклоалкила, C₃-C₈-гетероциклоалкила, C₅-C₁₄-арила, C₅-C₁₄-гетероарила, C₁-C₆-алкокси, C₅-C₁₄-арилокси, C₁-C₆-алкилтио, C₅-C₁₄-арилтио, C₁-C₆-алкилсульфоксида, C₅-C₁₄-арилсульфоксида, C₁-C₆-алкилсульфона, -C(=O)OH, -C(=O)O-C₁-C₆-алкила, -C(=O)NH₂, -C(=O)NH(C₁-C₆-алкила) и -C(=O)N(C₁-C₆-алкил)₂;

где термин "электроноакцепторная группа" относится к частице, выбранной из группы, состоящей из необязательно замещенного C₂-C₆-алкенила, необязательно замещенного C₂-C₆-алкинила, -C(=O), -CN, -NO₂, -CX₃, -X, -C(=O)OR', -C(=O)NH₂, -C(=O)N(R')R^{op}, -C(=O)R', -C(=O)X, -S(=O)₂R^{op}, -S(=O)₂OR', -SO₃H₂, -S(=O)₂NH₂, -S(=O)₂N(R')R^{op}, -PO₃H₂, -P(=O)(OR')(OR^{op})₂, -NO, -NH₂, -NH(R^{op}), N(R')(R^{op}) и -N(R^{op})₃⁺, где X представляет собой -F, -Cl, -Br или -I, и каждый из R и R^{op} независимо выбран из группы необязательных заместителей;

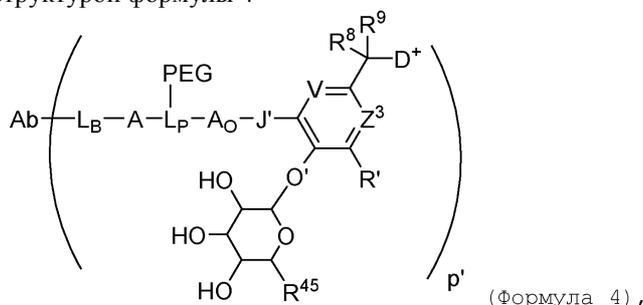
где термин "электронодонорная группа" относится к частице, выбранной из группы, состоящей из -OH, -OR', -NH₂, -NHR', N(R')₂, необязательно замещенного C₅-C₁₄-арила, необязательно замещенного C₅-C₁₄-гетероарила, необязательно замещенного C₂-C₆-алкенила и необязательно замещенного C₂-C₆-алкинила, где каждый R' независимо представляет собой C₁-C₆-алкил; и

где термин "O-связанный заместитель" относится к заместителю, выбранному из группы, состоящей из -OH, -OCH₂OCH₂R^{2B}, -OCH₂R^{2B}, -OC(O)R^{2B}, -CH₂OC(O)R^{2B}, -OC(O)N(R^{2B})(R^{2C}) и OCH₂C(O)N(R^{2B})(R^{2C}), где R^{2B} и R^{2C} независимо выбраны из группы, состоящей из H, C₁-C₆-алкила и

C₂-C₈-алкенила.

2. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 1, где лигандное звено из антитела способно селективно связываться с доступным антигеном клеточной поверхности аномальных клеток, где антиген способен к клеточной интернализации связанного ADC и преимущественно присутствует на аномальных или других нежелательных клетках по сравнению с нормальными клетками.

3. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно любому из вариантов осуществления 1 или 2, представленный структурой формулы 4



в виде фармацевтически приемлемой соли, где

Ab представляет собой лигандное звено из антитела;

J' представляет собой -N(R³³)-, где R³³ представляет собой водород или метил;

V и Z³, независимо, представляют собой =CH- или =N-;

R¹ представляет собой водород или электроноакцепторную группу;

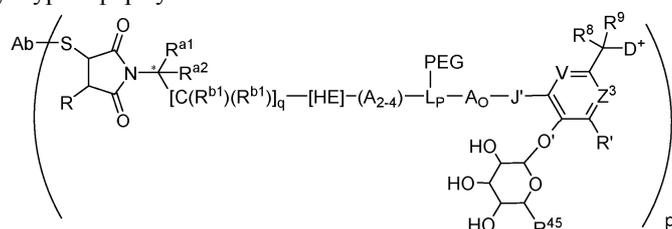
R⁸ представляет собой водород;

R⁹ представляет собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆-алкил или необязательно замещенный фенил;

R⁴⁵ представляет собой -CO₂H; и

индекс p' обозначает число в диапазоне от 1 до 24.

4. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно любому из вариантов осуществления 1-3, представленный структурой формулы 6



где S представляет собой атом серы лигандного звена из антитела (Ab);

звездочка (*) обозначает хиральность или ее отсутствие у указанного атома углерода;

A_{2.4} представляют собой независимо выбранные необязательные субзвенья A, где -[C(R^{b1})(R^{b1})]_q- [HE]- представляет собой A₁, когда присутствует одна или несколько таких субъединиц;

R представляет собой водород;

R¹ представляет собой водород или электроноакцепторную группу;

R^{a1} представляет собой водород или основное звено (BU), где BU представляет собой основное звено, имеющее структуру -CH₂-N(R²²)(R²³), или его соль присоединения кислоты, где R²² и R²³, независимо, представляют собой водород, метил или этил, или оба вместе с атомом азота, к которому они присоединены, обозначает 5- или 6-членный гетероциклоалкил, или один из R²² и R²³ представляет собой водород, и другой представляет собой кислотнo-чувствительную защитную карбаматную группу;

R^{a2} представляет собой водород;

индекс q обозначает целое число в диапазоне от 0 до 5, когда HE присутствует, или от 1 до 5, когда HE отсутствует;

каждый R^{b1} независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

HE отсутствует или представляет собой -C(=O)-;

R⁴⁵ представляет собой -CO₂H;

J' представляет собой -NH-;

V и Z³ представляют собой =CH-;

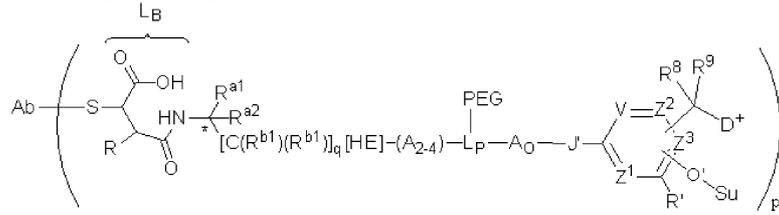
R⁸ представляет собой водород;

R⁹ представляет собой водород или метил;

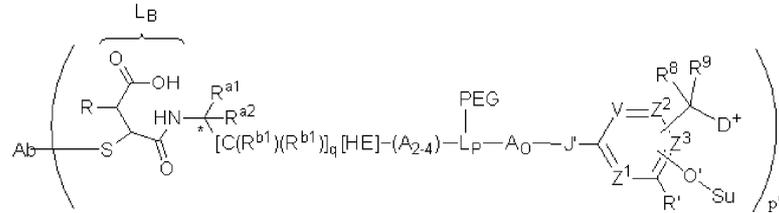
индекс p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 16; и

где остальные переменные группы имеют значения, определенные для формулы 4, или

где конъюгат имеет структуру формулы 9А или формулы 9В



(Формула 9А)



(Формула 9В)

где S представляет собой атом серы лигандного звена из антитела (Ab);

звездочка (*) обозначает хиральность или ее отсутствие у указанного атома углерода;

A2-4 представляют собой независимо выбранные необязательные субзвенья А, где $-\text{C}(\text{R}^{\text{b1}})(\text{R}^{\text{b1}})]_q-$ [HE]- представляет собой А₁, когда присутствует одна или несколько таких субъединиц;

R представляет собой водород;

R¹ представляет собой водород или электроноакцепторную группу;

R^{a1} представляет собой -H или BU, где BU представляет собой основное звено, имеющее структуру $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R}^{22})(\text{R}^{23})$, или его соль присоединения кислоты, где R²² и R²³, независимо, представляют собой водород или метил, или оба вместе с атомом азота, к которому они присоединены, обозначают основной азотсодержащий 5-или 6-членный гетероциклоалкил, или один из R²² и R²³ представляет собой водород, и другой представляет собой кислотнo-чувствительную защитную группу;

R^{a2} представляет собой водород;

индекс q обозначает целое число в диапазоне от 0 до 5, когда HE присутствует, или от 1 до 5, когда HE отсутствует;

каждый R^{b1} независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

HE отсутствует или представляет собой -C(=O)-;

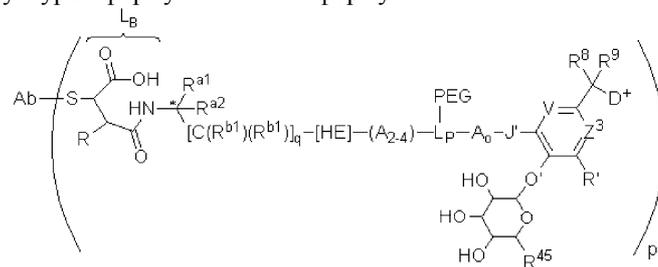
J' представляет собой -O- или -NH-;

R⁸ и R⁹ независимо представляют собой -H или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, или оба вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, обозначают C₃-C₈-циклоалкил;

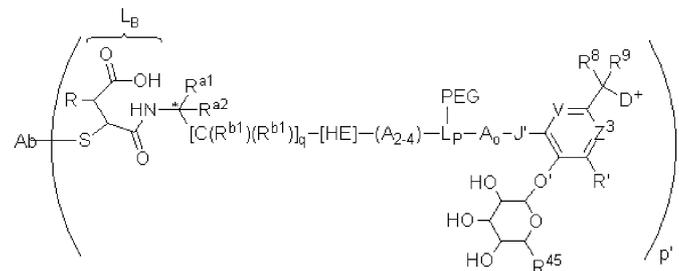
индекс p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 24; и

где остальные переменные группы имеют значения, определенные для формулы 4.

5. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно любому из вариантов осуществления 1-4, представленный структурой формулы 10А или формулы 10В



(Формула 10А)



(Формула 10В)

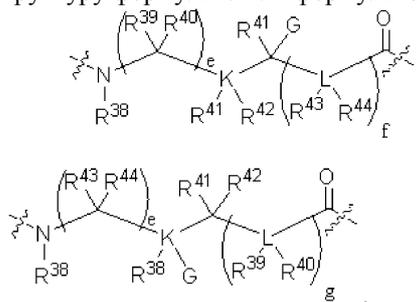
где R представляет собой водород;
 R' представляет собой водород, -NO₂, -Cl или -F;
 HE представляет собой -C(=O)-;
 R⁴⁵ представляет собой -CO₂H;
 J' представляет собой -NH-;
 V и Z³, каждый, представляют собой =CH₂-;
 R⁸ представляет собой водород;
 R⁹ представляет собой водород или метил;

p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 12; и

где остальные переменные группы имеют значения, определенные для формулы 4.

6. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 4, где указанный отмеченный звездочкой (*) углерод преимущественно имеет ту же абсолютную конфигурацию, что и альфа-углерод L-аминокислоты, когда указанный углерод является хиральным, и/или где

A и A₀, независимо, имеют структуру формулы 7 или формулы 8



(Формула 7) (Формула 8)

где волнистые линии указывают на ковалентное связывание в структуре конъюгата, где K и L, независимо, представляют собой C, N, O или S, при условии, что, когда K или L представляет собой O или S, R⁴¹ и R⁴²-K или R⁴³ и R⁴⁴-L отсутствуют, и, когда K или L представляет собой N, один из R⁴¹ и R⁴²-K или один из R⁴² и R⁴³-L отсутствуют, и при условии, что два соседних L не являются независимо выбранными в виде N, O или S;

где индексы e и f являются независимо выбранными целыми числами, которые варьируются в диапазоне от 0 до 12, и индекс g обозначает целое число в диапазоне от 1 до 12,

где G представляет собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, -OH, -OR^{PR}, -CO₂H, CO₂R^{PR}, где R^{PR} представляет собой соответствующую защитную группу,

или G представляет собой -N(R^{PR})(R^{PR}), где каждый R^{PR} представляет собой защитную группу,

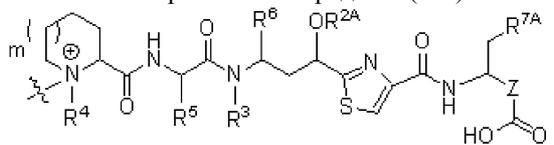
или G представляет собой -N(R⁴⁵)(R⁴⁶), где один из R⁴⁵ и R⁴⁶ представляет собой водород или R^{PR}, где R^{PR} представляет собой соответствующую защитную группу, и другой представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

где R³⁸ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил; R³⁹-R⁴⁴, независимо, представляют собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, необязательно замещенный C₆-C₁₄-арил или необязательно замещенный C₅-C₁₄-гетероарил, или оба R³⁹ и R⁴⁰ вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, включают C₃-C₆-циклоалкил, или R⁴¹ и R⁴² вместе с K, к которому они присоединены, когда K представляет собой C,

или R⁴³ и R⁴⁴ вместе с L, к которому они присоединены, когда L представляет собой атом углерода, включают C₃-C₆-циклоалкил, или R⁴⁰ и R⁴¹, или R⁴⁰ и R⁴³, или R⁴¹ и R⁴³ вместе с атомом углерода или гетероатомом, к которому они присоединены, и атомами, находящимися между этими атомами углерода и/или гетероатомами, образуют 5- или 6-членный циклоалкил или гетероциклоалкил, при условии, что, когда K представляет собой O или S, R⁴¹ и R⁴² отсутствуют, когда K представляет собой N, один из R⁴¹ и R⁴² отсутствует, когда L представляет собой O или S, R⁴³ и R⁴⁴ отсутствуют, и, когда L представляет собой N, один из R⁴³ и R⁴⁴ отсутствует, или

где A₀ обладает структурой, соответствующей альфа-амино, бета-амино или другой аминокислоте.

7. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 1, где звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства (-D⁺) имеет следующую структуру:

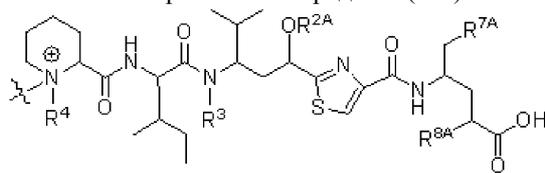


где индекс m обозначает 0 или 1;

Z представляет собой необязательно замещенный C₁-C₆-алкилен или необязательно замещенный C₂-C₈-алкенилен; и

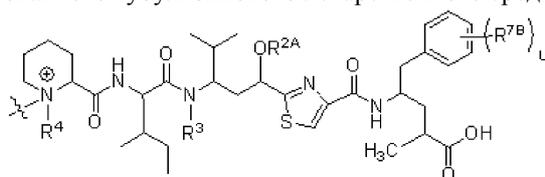
R^{7A} представляет собой необязательно замещенный C_6 - C_{14} -арил или необязательно замещенный C_6 - C_{14} -гетероарил.

8. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 1, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет следующую структуру:



где R^{7A} представляет собой необязательно замещенный фенил и R^8 представляет собой водород или метил.

9. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно любому из вариантов осуществления 7 или 8, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру:



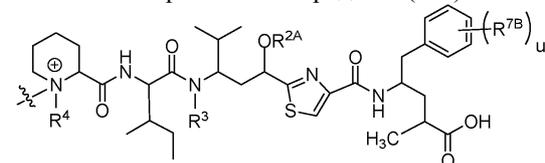
где R^4 представляет собой метил; индекс u обозначает 0, 1 или 2;

R^3 представляет собой H, метил, этил, пропил, $-CH_2-OC(O)R^{3A}$, $-CH_2CH(R^{3B})C(O)R^{3A}$ или $-CH(R^{3B})C(O)NHR^{3A}$, где R^{3A} представляет собой C_1 - C_6 -алкил и R^{3B} представляет собой H или C_1 - C_6 -алкил, независимо выбранный из R^{3A} ;

R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, представляет собой O-связанный заместитель, выбранный из группы, включающей $-OCH_2OCH_2R^{2B}$, $-OCH_2R^{2B}$, $-OC(O)R^{2B}$, $-OCH_2OC(O)R^{2B}$, $-OC(O)N(R^{2B})(R^{2C})$ и $-OCH_2C(O)N(R^{2B})(R^{2C})$, где R^{2B} и R^{2C} независимо выбраны из группы, включающей H, C_1 - C_6 -алкил и C_2 - C_6 -алкенил; и

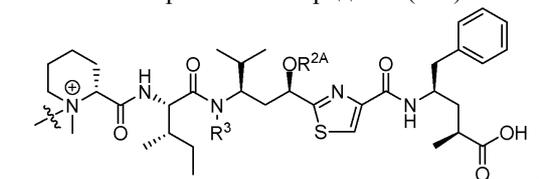
каждый R^{7B} , когда присутствует, независимо, представляет собой $-OH$ или $-OCH_3$.

10. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 9, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру



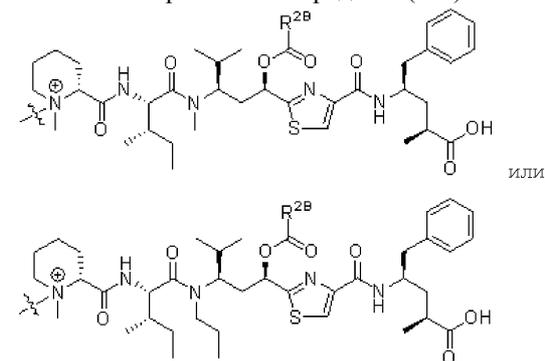
где R^{2A} представляет собой $-CH_2CH_3$, $-CH_2-CH=CH_2$ или $CH_2C(CH_3)=CH_2$, R^{2B} представляет собой $-CH_3$, R^3 представляет собой $-CH_3$, индекс u равен 0 или 1, и R^{7B} представляет собой $-OH$.

11. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 9, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру



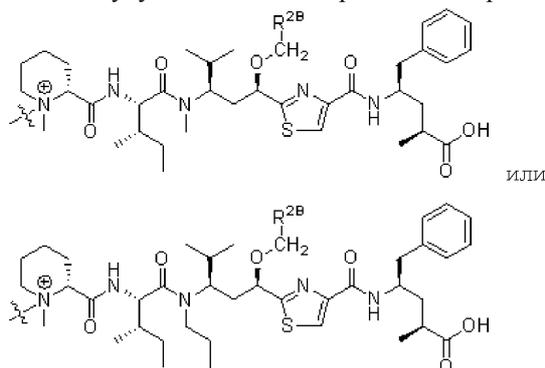
где R^{2A} представляет собой $-CH_2CH_3$ или $-CH_2-CH=CH_2$.

12. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 9, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру



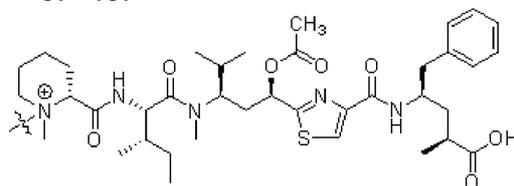
где R^{2B} представляет собой $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CH_2CH_2CH_3$, $-CH(CH_3)_2$, $-CH_2CH(CH_3)_2$ или $-CH_2C(CH_3)_3$, или

где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру

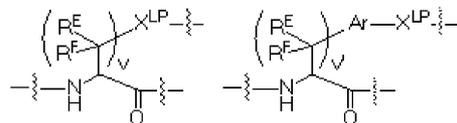


где R^{2B} представляет собой водород, метил или $-OCH_3$, или $-OCH_2R^{2B}$ представляет собой $-OCH_2CH=CH_2$ или $-OCH_2C(CH_3)=CH_2$.

13. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 12, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства $-D^+$ представляет собой такой тубулизин M, который имеет следующую структуру:



14. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 1, где L_p представляет собой аминокандиовую кислоту, диаминоалкановую кислоту, серозамещенную алкандиовую кислоту, серозамещенную аминокановую кислоту, диаминоалканол, аминокандиол, гидроксилзамещенную алкандиовую кислоту, гидроксилзамещенную аминокановую кислоту или серозамещенный остаток аминоканола, аминокандиовая кислота, диаминоалкановая кислота, серозамещенная аминокановая кислота или гидроксилзамещенный остаток аминокановой кислоты имеет структуру формулы A или формулы B



(Формула А) (Формула В)

где индекс v обозначает целое число в диапазоне от 1 до 4;

индекс v' обозначает целое число в диапазоне от 0 до 4;

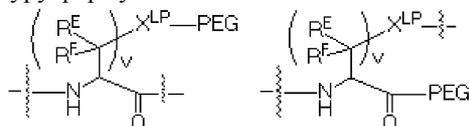
X^{LP} выбран из группы, включающей $-O-$, $-NR^{LP}-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-C(=O)-$, $-C(=O)N(R^{LP})-$, $-N(R^{LP})C(=O)N(R^{LP})-$ и $-N(R^{LP})C(=NR^{LP})N(R^{LP})-$, где каждый R^{LP} независимо выбран из группы, включающей водород и необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, или два R^{LP} вместе со своими промежуточными атомами определяют необязательно замещенный C_5 - C_{10} -гетероциклоалкил, и оставшиеся R^{LP} имеют значения, определенные выше;

Ar представляет собой арилен или гетероарил, необязательно замещенные;

каждый R^E и R^F независимо выбраны из группы, включающей $-H$, необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, необязательно замещенный C_6 - C_{14} -арил и необязательно замещенный C_5 - C_{14} -гетероарил, или R^E и R^F вместе с тем же атомом углерода, к которому они присоединены, или R^E и R^F соседних атомов углерода вместе с этими атомами углерода обозначают необязательно замещенный циклоалкил, при этом остальные заместители R^E и R^F имеют значения, определенные выше; и

где волнистые линии указывают на ковалентное присоединение в структуре формулы A или формулы B в структуре конъюгата, или

где $-L_p(PEG)-$ имеет структуру формулы A1 или A2:

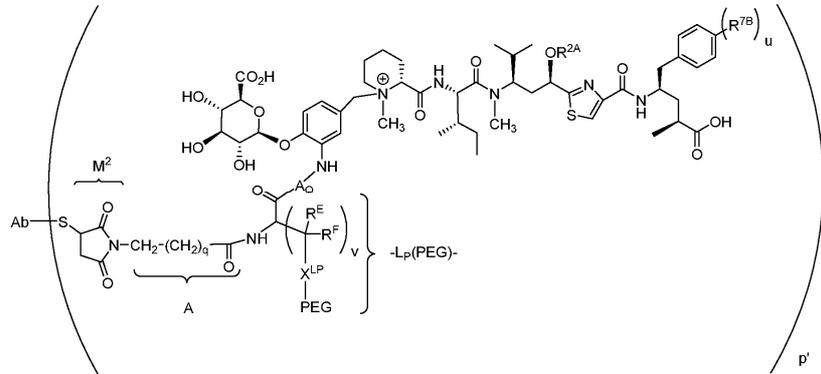


(Формула А1) (Формула А2)

где X^{LP} выбран из группы, включающей $-O-$, $-NH-$, $-S-$ и $-C(=O)-$;

R^E и R^F независимо выбраны из группы, включающей -H и -C₁-C₄-алкил; и где волнистая линия указывает на ковалентное присоединение в формуле A1 или формуле A2 в структуре конъюгата.

15. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 1, представленный следующей структурой:



где Ab представляет собой лигандное звено из антитела;

S представляет собой атом серы лигандного звена из антитела;

R^{2A} представляет собой C₁-C₄-алкил, C₂-C₄-алкенил, C₂-C₄-алкинил или -C(=O)R^{2B}, где R^{2B} представляет собой C₁-C₄-алкил;

A₀ отсутствует или представляет собой остаток аминокислоты;

индекс p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 8.

индекс q обозначает целое число в диапазоне от 1 до 4;

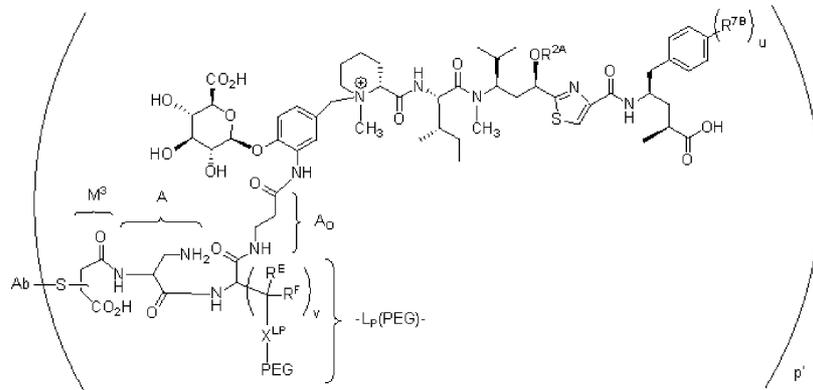
индекс v равен 0 или 1;

индекс u обозначает целое число в диапазоне от 1 до 4;

R^{7B}, когда присутствует, представляет собой -OH;

X^{LP} выбран из группы, включающей -O-, -NH-, -S- и -C(=O)-; и

R^E и R^F независимо выбраны из группы, включающей -H и C₁-C₄-алкил, или где конъюгат представлен структурой



где Ab представляет собой лигандное звено из антитела;

S представляет собой атом серы лигандного звена из антитела;

фрагмент Ab-S- соединен с α или β углеродом указанной карбоновой кислоты M³;

R^{2A} представляет собой C₁-C₄-алкил, C₂-C₄-алкенил, C₂-C₄-алкинил или -C(=O)R^{2B}, где R^{2B} представляет собой C₁-C₄-алкил;

индекс p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 8.

индекс q обозначает целое число в диапазоне от 1 до 4;

индекс u обозначает 0 или 1;

индекс v обозначает целое число в диапазоне от 1 до 4;

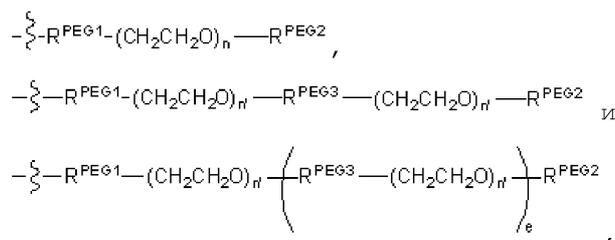
R^{7B}, когда присутствует, представляет собой -OH;

X^{LP} выбран из группы, включающей -O-, -NH-, -S- и -C(=O)-; и

R^E и R^F независимо выбраны из группы, включающей -H и C₁-C₄-алкил; и

PEG представляет собой полиэтиленгликолевое звено.

16. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 15, где PEG имеет структуру, выбранную из группы, включающей



где волнистая линия показывает место присоединения к X^{LP} параллельного соединительного звена (L_p),

$R^{\text{PEG}1}$ представляет собой необязательное PEG присоединяющее звено,

$R^{\text{PEG}2}$ представляет собой PEG ограничивающее звено;

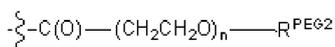
$R^{\text{PEG}3}$ представляет собой PEG связывающее звено;

индекс n варьируется от 2 до 72;

каждый индекс n' независимо выбран из 1 до 72; и

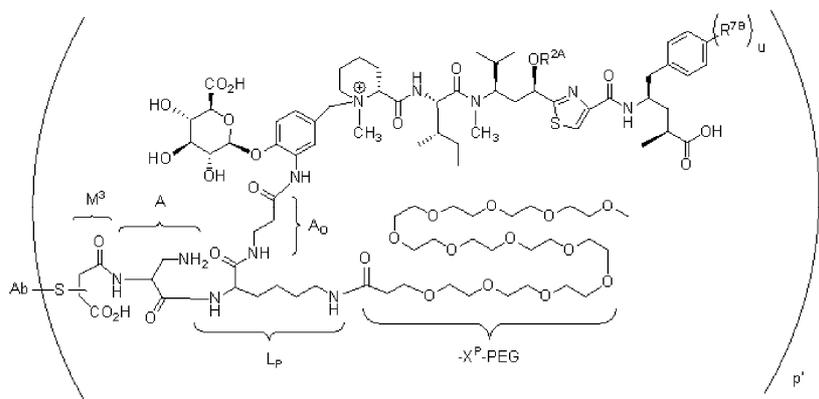
индекс e варьируется от 2 до 5.

17. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно любому из вариантов осуществления 15 или 16, где R^{2A} представляет собой C_1 - C_4 -алкил или C_3 - C_4 -алкенил, где C_1 - C_4 -алкил представляет собой $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ и C_3 - C_4 -алкенил представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ или $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}=\text{CH}_2$, и X^{LP} -PEG имеет структуру:



18. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 15, где R^{2A} представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ или $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$; n обозначает 12 и $R^{\text{PEG}2}$ представляет собой водород или $-\text{CH}_3$.

19. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 1, представленный структурой



где Ab представляет собой лигандное звено из антитела;

S представляет собой атом серы лигандного звена из антитела;

фрагмент $Ab-S-$ соединен с α или β углеродом указанной карбоновой кислоты M^3 ;

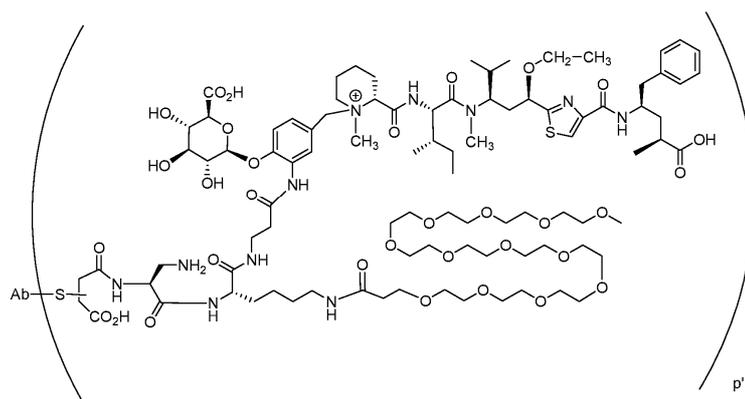
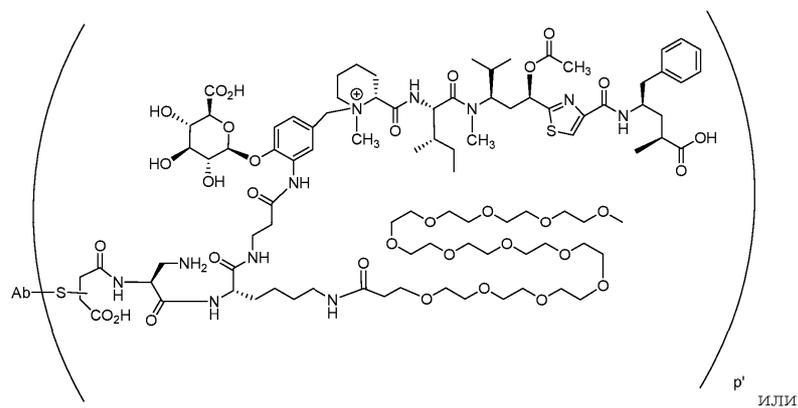
индекс p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 8;

индекс u обозначает 0 или 1;

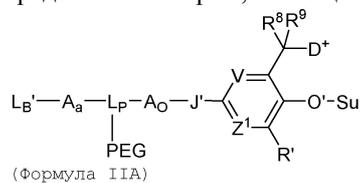
R^{7B} , когда присутствует, представляет собой $-\text{OH}$; и

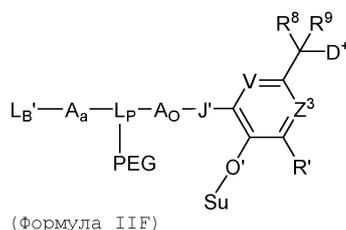
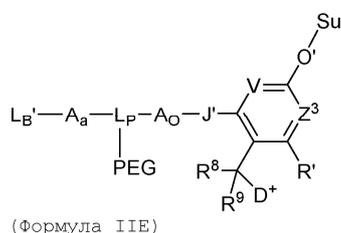
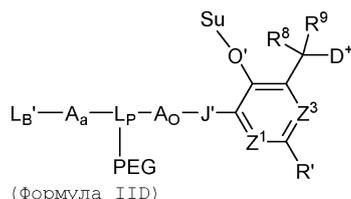
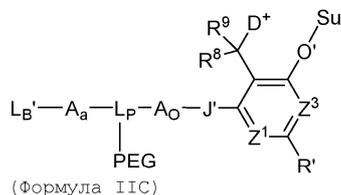
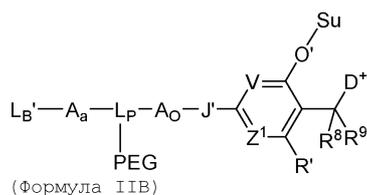
R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, представляет собой $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ или $-\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$.

20. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 19, представленный структурой



21. Соединение лекарственного средства с линкером, имеющее структуру одной из формул ПА-ПФ





или его фармацевтически приемлемая соль, где

L_B' представляет собой предшественник звена ковалентно связывающего лиганда;

L_P представляет собой параллельное соединительное звено, где L_P представляет собой аминокан-дионовую кислоту, диаминоалкановую кислоту, серозамещенную алкандионовую кислоту, серозамещенную аминокан-дионовую кислоту, диаминоалканол, аминокан-диол, гидроксилзамещенную алкандионовую кислоту, гидроксилзамещенную аминокан-дионовую кислоту или серозамещенный остаток аминокан-диола, необязательно замещенные, где заместитель, содержащий серу, находится в восстановленном или окисленном виде или L_P представляет собой аминокислотный остаток лизина, аргинина, аспарагина, глутамина, орнитина, цитруллина, цистеина, гомоцистеина, пеницилламина, треонина, серина, глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, тирозина, гистидина или триптофана, где аминокислота имеет D- или L-конфигурацию;

PEG представляет собой полиэтиленгликолевое звено;

индекс а обозначает 0 или 1;

A представляет собой первое необязательное расширяющее звено, таким образом, когда индекс а обозначает 0, A отсутствует, или, когда индекс а обозначает 1, A присутствует и, необязательно, включает две, три или четыре независимо выбранных субъединицы (A_1, A_2, A_3, A_4);

A_O представляет собой второе необязательное расширяющее звено, и необязательно включает две, три или четыре субъединицы независимо от A;

Su представляет собой углеводный фрагмент;

-O'- представляет собой атом кислорода O-гликозидной связи, расщепляемой гликозидазой;

-J'- представляет собой -O-, -N(R^{33})- или -S-, связанные непосредственно с A_O или его субзвеном, или с $L-L_B-L_P(PEG)$ - или $L_B'-L_P(PEG)$ -, когда нет ни одного из A и A_O , через функциональную группу, содержащую J', где R^{33} представляет собой -H, необязательно замещенный C_1-C_8 -алкил или необязательно замещенный аралкил;

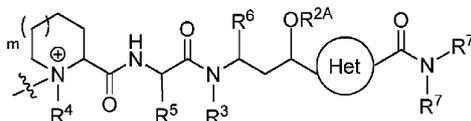
V, Z^1 и Z^3 представляют собой =N- или =C(R^{24})-, где R^{24} представляет собой водород или C_1-C_6 -алкил, C_2-C_8 -алкенил или C_2-C_8 -алкинил, необязательно замещенные, или галоген, -NO₂, -CN или другую

электроакцепторную группу или электронодонорную группу,

R^8 и R^9 , независимо, представляют собой водород, C_1 - C_6 -алкил, C_2 - C_8 -алкенил или C_2 - C_8 -алкинил, необязательно замещенные, или C_6 - C_{14} -арил или C_5 - C_{14} -гетероарил, необязательно замещенные;

R' представляет собой водород или представляет собой галоген, $-NO_2$, $-CN$ или другую электроакцепторную группу;

D^+ представляет собой звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства, имеющего структуру



где кольцо Het представляет собой 5-членный азотсодержащий гетероарил, содержащий по меньшей мере один гетероатом, выбранный из группы, состоящей из N, O и S, и где указанные обязательные заместители на этом гетероариле находятся в 1,3-положении по отношению друг к другу при необязательном замещении по остальным положениям,

индекс m обозначает 0 или 1;

R^{2A} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_8 -алкил, или R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, обозначает O-связанный заместитель, иной чем $-OH$;

R^3 представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил;

R^4 , R^5 и R^6 представляют собой необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил;

один R^7 представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, необязательно замещенный C_6 - C_{18} -арилалкил, необязательно замещенный C_6 - C_{18} -гетероарилалкил, и другой R^7 представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил;

R^{8A} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил,

где волнистая линия указывает на ковалентное связывание D^+ с остатком структуры соединения лекарственного средства с линкером, и где необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил является независимо выбранным;

где расщепление указанной O-гликозидной связи гликозидазой приводит к высвобождению тубулизинового соединения (D) из соединения лекарственного средства с линкером или соединения конъюгата лекарственного средства с лигандом, полученных из соединения линкера с лекарственным средством, где соединение конъюгата лекарственного средства с лигандом имеет структуру формулы 1A по п.1, где индекс p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 24;

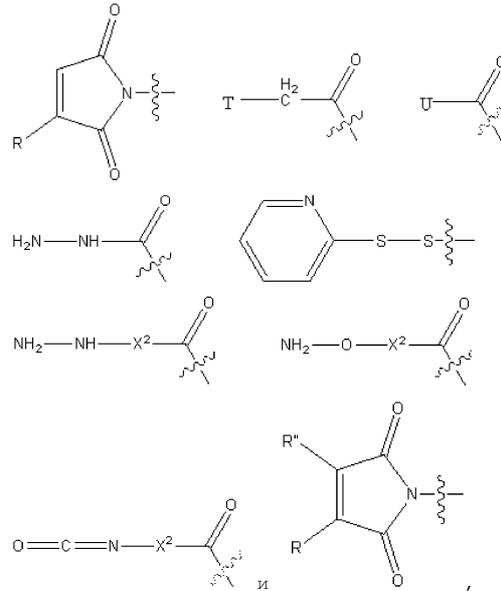
где термин "необязательно замещенный" относится к частице, которая может быть незамещена или замещена группой, выбранной из одного или нескольких атомов, выбранных из группы, состоящей из галогена, $-CN$, $-OH$, $-NH_2$, $-NH(CH_3)-N(CH_3)_2$, C_1 - C_6 -алкила, C_1 - C_6 -фторалкила, C_1 - C_6 -фторалкокси, C_1 - C_6 -гетероалкила, C_3 - C_8 -циклоалкила, C_3 - C_8 -гетероциклоалкила, C_5 - C_{14} -арила, C_5 - C_{14} -гетероарила, C_1 - C_6 -алкокси, C_5 - C_{14} -арилокси, C_1 - C_6 -алкилтио, C_5 - C_{14} -арилтио, C_1 - C_6 -алкилсульфоксида, C_5 - C_{14} -арилсульфоксида, C_1 - C_6 -алкилсульфона, $-C(=O)OH$, $-C(=O)O-C_1-C_6$ -алкила, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)NH(C_1-C_6$ -алкила) и $-C(=O)N(C_1-C_6$ -алкил) $_2$;

где термин "электроакцепторная группа" относится к частице, выбранной из группы, состоящей из необязательно замещенного C_2 - C_6 -алкенила, необязательно замещенного C_2 - C_6 -алкинила, $-C(=O)$, $-CN$, $-NO_2$, $-CX_3$, $-X$, $-C(=O)OR'$, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)N(R')R^{op}$, $-C(=O)R'$, $-C(=O)X$, $-S(=O)_2R^{op}$, $-S(=O)_2OR'$, $-SO_3H_2$, $-S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2N(R')R^{op}$, $-PO_3H_2$, $-P(=O)(OR')(OR^{op})_2$, $-NO$, $-NH_2$, $-NH(R^{op})$, $-N(R')(R^{op})$ и $-N(R^{op})_3^+$, где X представляет собой $-F$, $-Cl$, $-Br$ или $-I$, и каждый из R и R^{op} независимо выбран из группы обязательных заместителей;

где термин "электронодонорная группа" относится к частице, выбранной из группы, состоящей из $-OH$, $-OR'$, $-NH_2$, $-NHR'$, $N(R')$, необязательно замещенного C_5 - C_{14} -арила, необязательно замещенного C_5 - C_{14} -гетероарила, необязательно замещенного C_2 - C_6 -алкенила и необязательно замещенного C_2 - C_6 -алкинила, где каждый R' независимо представляет собой C_1 - C_6 -алкил; и

где термин "O-связанный заместитель" относится к заместителю, выбранному из группы, состоящей из $-OH$, $-OCH_2OCH_2R^{2B}$, $-OCH_2R^{2B}$, $-OC(O)R^{2B}$, $-CH_2OC(O)R^{2B}$, $-OC(O)N(R^{2B})(R^{2C})$ и $-OCH_2C(O)N(R^{2B})(R^{2C})$, где R^{2B} и R^{2C} независимо выбраны из группы, состоящей из H, C_1 - C_6 -алкила и C_2 - C_8 -алкенила.

22. Соединение лекарственного средства с линкером согласно варианту осуществления 21, где L_B' имеет структуру, выбранную из группы, включающей



где волнистая линия указывает на ковалентное связывание с А или L_p, в зависимости от присутствия или отсутствия, соответственно, А;

R представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

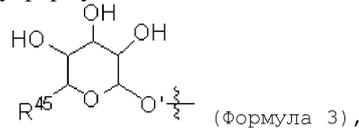
R'' представляет собой водород или галоген, или R и R' независимо выбраны из галогена;

T представляет собой -Cl, -Br, -I, -O-мезил или -O-тозил или другую сульфонатную удаляемую группу;

U представляет собой -F, -Cl, -Br, -I, -O-N-сукцинимид, -O-(4-нитрофенил), -O-пентафторфенил, -O-тетрафторфенил или -O-C(=O)-OR⁵⁷; и

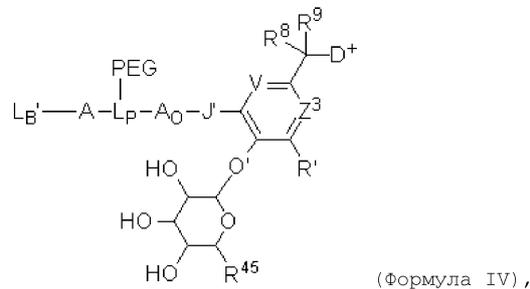
X² представляет собой C₁₋₁₀алкилен, C₃₋₈-карбоцикл, -O-(C₁-C₆-алкил), -арилен-, C₁-C₁₀-алкилен-арилен, -арилен-C₁-C₁₀-алкилен, -C₁-C₁₀-алкилен-(C₃-C₆-карбоцикл)-, -(C₃-C₈карбоцикл)-C₁-C₁₀-алкилен-, C₃-C₈-гетероцикл, -C₁-C₁₀-алкилен-(C₃-C₈-гетероцикло)-, -C₃-C₈-гетероцикло)-C₁-C₁₀-алкилен-, -(CH₂CH₂O)_n или -(CH₂CH₂O)_n-CH₂-, где индекс n обозначает целое число в диапазоне от 1 до 10 и R⁵⁷ представляет собой C₁-C₆-алкил или C₆-C₁₄-арил.

23. Соединение лекарственного средства с линкером согласно любому из вариантов осуществления 21 или 22, где -O'-Su имеет структуру формулы 3



где волнистая линия представляет ковалентное связывание O' с остатком структуры соединения лекарственного средства с линкером; и R⁴⁵ представляет собой -CH₂OH или -CO₂H.

24. Соединение лекарственного средства с линкером согласно любому из вариантов осуществления 21-23, имеющее структуру формулы IV



где J' представляет собой -N(R³³)-, где R³³ представляет собой водород или метил;

V и Z³, независимо, представляют собой =CH- или =N-;

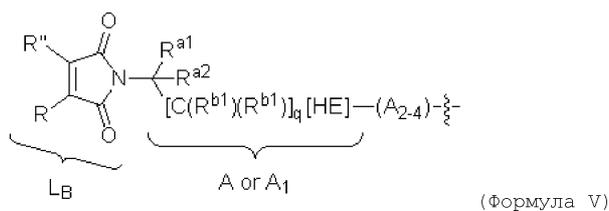
R' представляет собой водород или электроноакцепторную группу;

R⁸ представляет собой водород;

R⁹ представляет собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆-алкил или необязательно замещенный фенил; и

R⁴⁵ представляет собой -CO₂H.

25. Соединение лекарственного средства с линкером согласно любому из вариантов осуществления 21-23, где индекс a обозначает 1; и L_B'-A- формулы IA имеет структуру формулы V



где фрагмент $-[C(R^{b1})(R^{b1})]_q [HE]-$ представляет собой A или A_1 , где A_1 представляет собой субъединицу A;

$A_{2.4}$ представляют собой необязательные субъединицы A; R представляет собой водород, хлор или C_1 - C_4 -алкил; R'' представляет собой водород или хлор;

R^{a1} представляет собой водород, необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил или основное звено (BU), необязательно защищенное; и

R^{a2} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_8 -алкил, или

R^{a1} и R^{a2} вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, обозначает азотсодержащий C_3 - C_{10} -гетероциклоалкил;

HE представляет собой необязательное звено усилителя гидролиза (HE);

индекс q обозначает целое число в диапазоне от 0 до 6;

каждый R^{b1} независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, необязательно замещенный C_6 - C_{10} -арил или необязательно замещенный C_5 - C_{10} -гетероарил, или два R^{b1} вместе с атомом (атомами) углерода, к которому они присоединены, обозначают C_3 - C_6 -циклоалкил, или один R^{b1} и HE вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, обозначают 5 или 6-членный циклоалкил или 5- или 6-членный гетероциклоалкил, и другой R^{b1} представляет собой водород, необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, необязательно замещенный C_6 - C_{10} -арил или необязательно замещенный C_5 - C_{10} -гетероарил;

BU, необязательно защищенный, имеет структуру $-[C(R^1)(R^1)]-[C(R^2)(R^2)]_r-N(R^{22})(R^{23})$ или его соль присоединения кислоты,

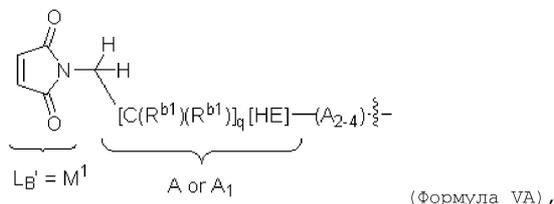
где индекс r обозначает 0, 1, 2 или 3;

каждый R^1 независимо представляет собой водород или C_1 - C_4 -алкил, или два R^1 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют C_3 - C_6 -циклоалкил, и каждый R^2 независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, необязательно замещенный C_6 - C_{10} -арил или необязательно замещенный C_5 - C_{10} -гетероарил, или два R^2 вместе с атомом (атомами) углерода, к которому они присоединены, и промежуточными атомами углерода обозначают C_3 - C_6 -циклоалкил, или один R^1 и один R^2 вместе с атомами углерода, к которому они присоединены, и промежуточными атомами углерода обозначают 5- или 6-членный циклоалкил, и остальные R^1 и R^2 являются такими, как указано; и

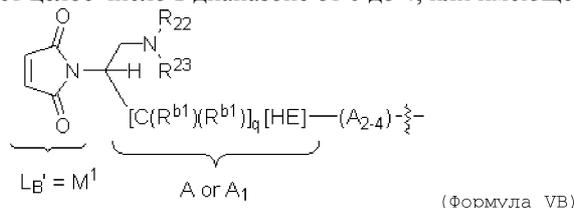
R^{22} и R^{23} независимо представляют собой водород, необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил или кислотнo-чувствительную защитную группу, или вместе с атомом азота, к которому они присоединены, обозначают 5- или 6-членный гетероциклоалкил, или один из R^{22} и R^{23} представляет собой водород, и другой представляет собой легко удаляемую защитную группу; и

где волнистая линия показывает место ковалентного присоединения к остатку структуры соединения лекарственного средства с линкером.

26. Соединение лекарственного средства с линкером согласно варианту осуществления 25, имеющее структуру VA



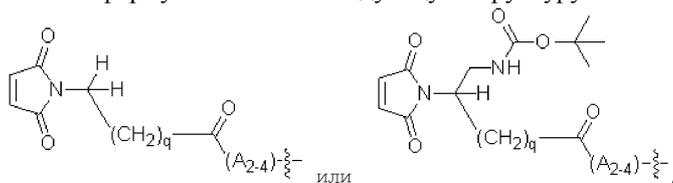
где индекс q обозначает целое число в диапазоне от 0 до 4, или имеющее структуру формулы VB



где один из R^{22} и R^{23} представляет собой водород, и другой представляет собой кислотнo-чувствительную защитную карбаматную группу, и индекс q обозначает целое число в диапазоне от 0 до 4.

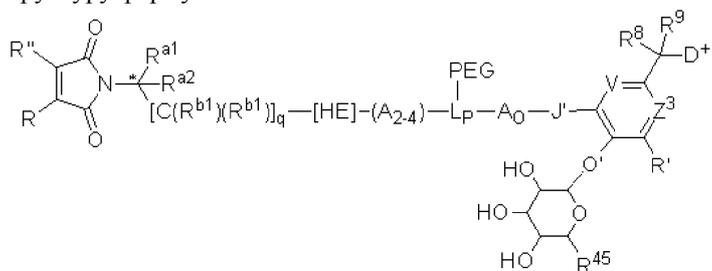
27. Соединение лекарственного средства с линкером согласно любому из вариантов осуществления

25 или 26, где формула VA или формула VB имеет следующую структуру:



соответственно.

28. Соединение лекарственного средства с линкером согласно одному из вариантов осуществления 25 или 26, имеющее структуру формулы VI



(Формула VI)

где звездочка (*) обозначает хиральность или ее отсутствие у указанного атома углерода;

$A_{2.4}$ представляют собой независимо выбранные необязательные субъединицы А, где $-[C(R^{b1})(R^{b1})]_q-$

[HE]- представляет собой A_1 , когда присутствует одна или несколько таких субъединиц;

один из R и R'' представляет собой водород, и другой представляет собой водород или хлор;

R' представляет собой водород или электроноакцепторную группу;

R^{a1} представляет собой водород или основное звено (BU), необязательно защищенное, имеющее структуру $-CH_2-N(R^{22})(R^{23})$ или его соль присоединения кислоты, где R^{22} и R^{23} , независимо, представляют собой водород, метил или этил, или оба вместе с атомом азота, к которому они присоединены, обозначают 5- или 6-членный гетероциклоалкил, или один из R^{22} и R^{23} представляет собой водород, и другой представляет собой кислотно-чувствительную защитную карбаматную группу;

R^{a2} представляет собой водород;

индекс q обозначает целое число в диапазоне от 0 до 5, когда HE присутствует, или от 1 до 5, когда HE отсутствует;

каждый R^{b1} независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил;

HE отсутствует или представляет собой $-C(=O)-$;

R^{45} представляет собой $-CO_2H$;

J' представляет собой $-NH-$;

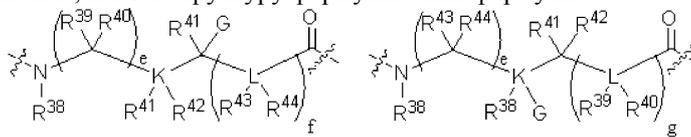
V и Z^3 представляют собой $=CH-$;

R^8 представляет собой водород; и

R^9 представляет собой водород или метил.

29. Соединение лекарственного средства с линкером согласно варианту осуществления 28, где указанный отмеченный звездочкой (*) углерод преимущественно имеет ту же абсолютную конфигурацию, что и альфа-углерод L-аминокислоты, когда указанный углерод является хиральным, или

где А и A_0 , независимо, имеют структуру формулы 7 или формулы 8:



(Формула 7)

(Формула 8)

где волнистые линии показывают ковалентное присоединение к остатку структуры соединения лекарственного средства с линкером, где К и L, независимо, представляют собой C, N, O или S, при условии, что, когда К или L представляет собой O или S, R^{41} и R^{42} -К или R^{43} и R^{44} -L отсутствуют, и, когда К или L представляет собой N, один из R^{41} и R^{42} -К или один из R^{42} и R^{43} -L отсутствуют, и при условии, что два соседних L не являются независимо выбранными в виде N, O или S;

где индексы e и f являются независимо выбранными целыми числами, которые варьируются от 0 до 12, и индекс g обозначает целое число в диапазоне от 1 до 12;

где G представляет собой водород, необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, $-OH$, $-OR^{PR}$, $-CO_2H$, CO_2R^{PR} , где R^{PR} представляет собой соответствующую защитную группу,

или G представляет собой $-N(R^{PR})(R^{PR})$, где R^{PR} независимо представляют собой защитную группу или R^{PR} вместе образуют соответствующую защитную группу,

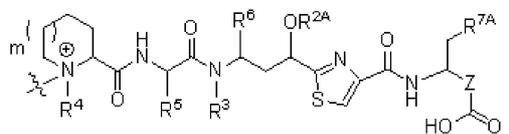
или G представляет собой $-N(R^{45})(R^{46})$, где один из R^{45} , R^{46} представляет собой водород или R^{PR} , где R^{PR} представляет собой соответствующую защитную группу, и другой представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил;

где R^{38} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил; R^{39} - R^{44} , независимо, представляют собой водород, необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, необязательно замещенный C_6 - C_{14} -арил или необязательно замещенный C_5 - C_{14} -гетероарил, или оба R^{39} и R^{40} вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, включают C_3 - C_6 -циклоалкил, или R^{41} и R^{42} вместе с K, к которому они присоединены, когда K представляет собой C,

или R^{43} и R^{44} вместе с L, к которому они присоединены, когда L представляет собой атом углерода, образуют C_3 - C_6 -циклоалкил, или R^{40} и R^{41} , или R^{40} и R^{43} , или R^{41} и R^{43} вместе с атомом углерода или гетероатомом, к которому они присоединены, и атомами, находящимися между этими атомами углерода и/или гетероатомами, включают 5- или 6-членный циклоалкил или гетероциклоалкил, при условии, что, когда K представляет собой O или S, R^{41} и R^{42} отсутствуют, когда K представляет собой N, один из R^{41} и R^{42} отсутствует, когда L представляет собой O или S, R^{43} и R^{44} отсутствуют, и, когда L представляет собой N, один из R^{43} и R^{44} отсутствует, или

где A_0 представляет собой остаток альфа-амино, бета-амино или другой содержащий амин кислоты.

30. Соединение лекарственного средства с линкером согласно любому из вариантов осуществления 28 или 29, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру

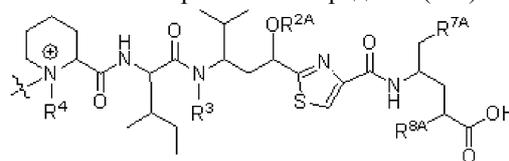


где индекс m обозначает 0 или 1;

Z представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкилен или необязательно замещенный C_2 - C_8 -алкенилен; и

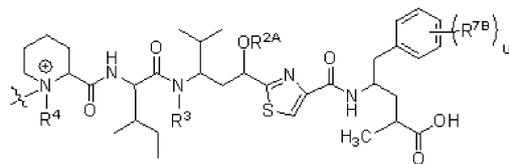
R^{7A} представляет собой необязательно замещенный C_6 - C_{10} -арил или необязательно замещенный C_6 - C_{10} -гетероарил.

31. Соединение лекарственного средства с линкером согласно варианту осуществления 30, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру



где R^{7A} представляет собой необязательно замещенный фенил и R^8 представляет собой водород или метил.

32. Соединение лекарственного средства с линкером согласно любому из вариантов осуществления 30 или 31, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру



где R^4 представляет собой метил;

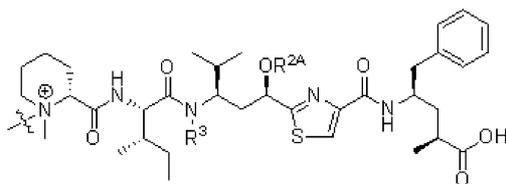
индекс u обозначает 0, 1 или 2;

R^3 представляет собой H, метил, этил, пропил, $-CH_2-OC(O)R^{3A}$, $-CH_2CH(R^{3B})C(O)R^{3A}$ или $-CH(R^{3B})C(O)NHR^{3A}$, где R^{3A} представляет собой C_1 - C_6 -алкил и R^{3B} представляет собой H или C_1 - C_6 -алкил, независимо выбранный из R^{3A} ;

R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, представляет собой O-связанный заместитель, выбранный из группы, включающей $-OCH_2OCH_2R^{2B}$, $-OCH_2R^{2B}$, $-OC(O)R^{2B}$, $-OCH_2OC(O)R^{2B}$, $-OC(O)N(R^{2B})(R^{2C})$ и $-OCH_2C(O)N(R^{2B})(R^{2C})$, где R^{2B} и R^{2C} независимо выбраны из группы, включающей H, C_1 - C_6 -алкил и C_2 - C_6 -алкенил; и

каждый R^{7B} , когда присутствует, независимо представляет собой $-OH$ или $-OCH_3$.

33. Соединение лекарственного средства с линкером согласно варианту осуществления 32, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру



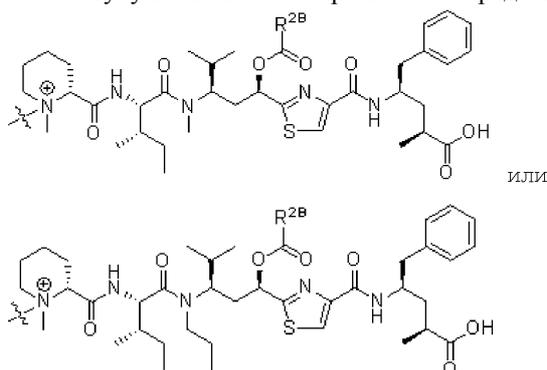
где R^{2A} представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ или $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$.

34. Соединение лекарственного средства с линкером согласно любому из вариантов осуществления 32 или 33, где

R^{2A} представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ или $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$, R^{2B} представляет собой $-\text{CH}_3$, R^3 представляет собой $-\text{CH}_3$, и индекс u обозначает 0, или

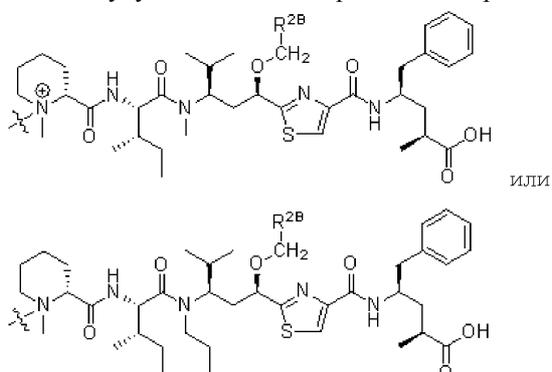
R^{2A} представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ или $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$, или $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$, R^{2B} представляет собой $-\text{CH}_3$, R^3 представляет собой $-\text{CH}_3$, и индекс u обозначает 1, где R^{7B} представляет собой $-\text{OH}$, или

где звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру



где R^{2B} представляет собой $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ или $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$, или

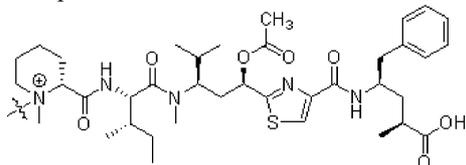
где звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру



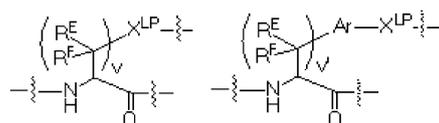
где R^{2B} представляет собой водород, метил или $-\text{OCH}_3$, или

$-\text{OCH}_2R^{2B}$ представляет собой $-\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ или $-\text{OCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$, или

где звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства $-D^+$ представляет собой такой тубулизин M, структурой которого является



35. Соединение лекарственного средства с линкером согласно варианту осуществления 21, где L_p представляет собой аминокандиовую кислоту, диаминоалкановую кислоту, серозамещенную алкандиовую кислоту, серозамещенную аминокановую кислоту или гидроксилзамещенный остаток аминокановой кислоты, где аминокандиовая кислота, диаминоалкановая кислота, серозамещенная аминокановая кислота или гидроксилзамещенный остаток аминокановой кислоты имеет структуру формулы A или формулы B



(Формула А)

(Формула В)

где индекс v обозначает целое число в диапазоне от 1 до 4;

индекс v' обозначает целое число в диапазоне от 0 до 4;

X^{LP} выбран из группы, включающей $-O-$, $-NR^{LP}-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-C(=O)-$, $-C(=O)N(R^{LP})-$, $-N(R^{LP})C(=O)N(R^{LP})-$ и

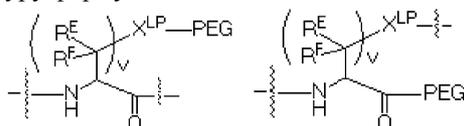
$-N(R^{LP})C(=NR^{LP})N(R^{LP})-$, где каждый R^{LP} независимо выбран из группы, включающей водород и необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, или два R^{LP} вместе со своими промежуточными атомами определяют необязательно замещенный C_5 - C_{10} -гетероциклоалкил, и оставшиеся R^{LP} имеют значения, определенные выше;

Ar представляет собой C_6 - C_{14} -арилен или C_5 - C_{14} -гетероарилен, необязательно замещенные;

каждый R^E и R^F независимо выбраны из группы, включающей $-H$, необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, необязательно замещенный C_6 - C_{14} -арил и необязательно замещенный C_5 - C_{14} -гетероарил, или R^E и R^F вместе с тем же атомом углерода, к которому они присоединены, или R^E и R^F соседних атомов углерода вместе этими атомами углерода обозначают необязательно замещенный C_3 - C_8 -циклоалкил, при этом остальные заместители R^E и R^F определены выше; и

где волнистые линии указывает на ковалентное присоединение в структуре формулы А или формулы в структуре соединения лекарственного средства с линкером, или

где $-L_p(PEG)-$ имеет структуру формулы А1 или А2



(Формула А1)

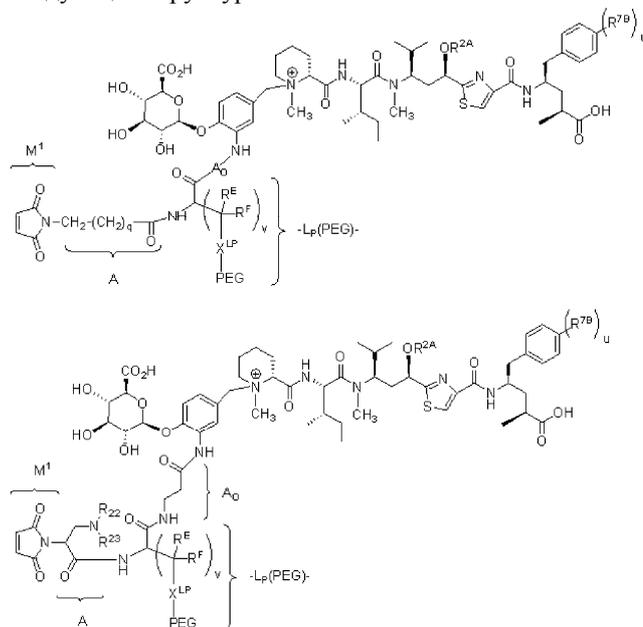
(Формула А2)

где X^{LP} выбран из группы, включающей $-O-$, $-NH-$, $-S-$ и $-C(=O)-$;

R^E и R^F независимо выбраны из группы, включающей $-H$ и $-C_1$ - C_4 -алкил; и

где волнистая линия указывает на ковалентное присоединение в формуле А1 или формуле А2 в структуре соединения лекарственного средства с линкером.

36. Соединение лекарственного средства с линкером согласно любому из вариантов осуществления 21-23, представленное следующей структурой:



или

где R^{2A} представляет собой C_1 - C_4 -алкил, C_2 - C_4 -алкенил, C_2 - C_4 -алкинил или $-C(=O)R^{2B}$, где R^{2B} представляет собой C_1 - C_4 -алкил;

A_0 отсутствует или представляет собой аминокислотный остаток;

индекс q обозначает целое число в диапазоне от 1 до 4;

индекс u обозначает 0 или 1;

индекс v обозначает целое число в диапазоне от 1 до 4;

R^{7B} , когда присутствует, представляет собой $-OH$;

X^{LP} выбран из группы, включающей -O-, -NH-, -S- и -C(=O)-;

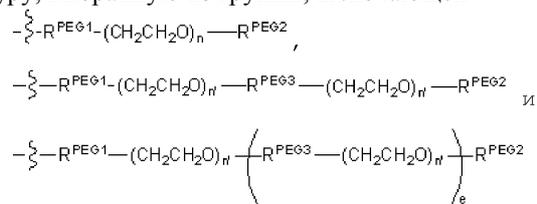
R^E и R^F независимо выбраны из группы, включающей -H и C_1 - C_4 -алкил;

один из R^{22} , R^{23} представляет собой водород, и другой представляет собой легко удаляемую защитную группу, или R^{22} и R^{23} , каждый, представляют собой водород на атоме азота, к которому они присоединены, необязательно протонированном в виде соли присоединения кислоты.

37. Соединение лекарственного средства с линкером согласно варианту осуществления 21, где R^{2A} представляет собой C_1 - C_4 -алкил или C_3 - C_4 -алкенил, где C_1 - C_4 -алкил представляет собой - CH_3 , CH_2CH_3 , - $CH_2CH_2CH_3$ и C_3 - C_4 -алкенил представляет собой - $CH_2CH=CH_2$ или - $CH(CH_3)CH=CH_2$, или

R^{2A} представляет собой - $C(O)CH_3$, - CH_2CH_3 или - $CH_2CH=CH_2$.

38. Соединение лекарственного средства с линкером согласно любому из вариантов осуществления 21-23, где PEG имеет структуру, выбранную из группы, включающей



где волнистая линия показывает место присоединения к X^{LP} параллельного соединительного звена (L_p),

R^{PEG1} представляет собой необязательное PEG присоединяющее звено,

R^{PEG2} представляет собой PEG ограничивающее звено;

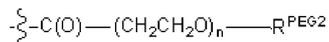
R^{PEG3} представляет собой PEG связывающее звено;

индекс n варьируется от 2 до 72;

каждый индекс n' представляет собой целое число, независимо выбранное из диапазона от 1 до 72; и

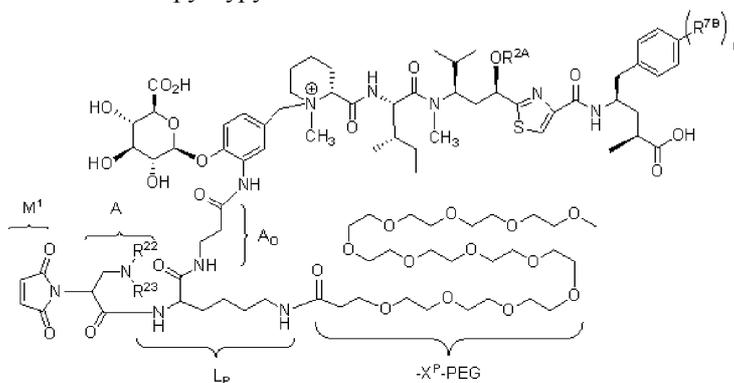
индекс e представляет собой целое число от 2 до 5.

39. Соединение лекарственного средства с линкером согласно варианту осуществления 36, где $-X^{LP}$ -PEG имеет структуру



40. Соединение лекарственного средства с линкером согласно варианту осуществления 37, где индекс n обозначает 12 и R^{PEG2} представляет собой водород или - CH_3 .

41. Соединение лекарственного средства с линкером согласно любому из вариантов осуществления 36 или 37, где соединение имеет структуру

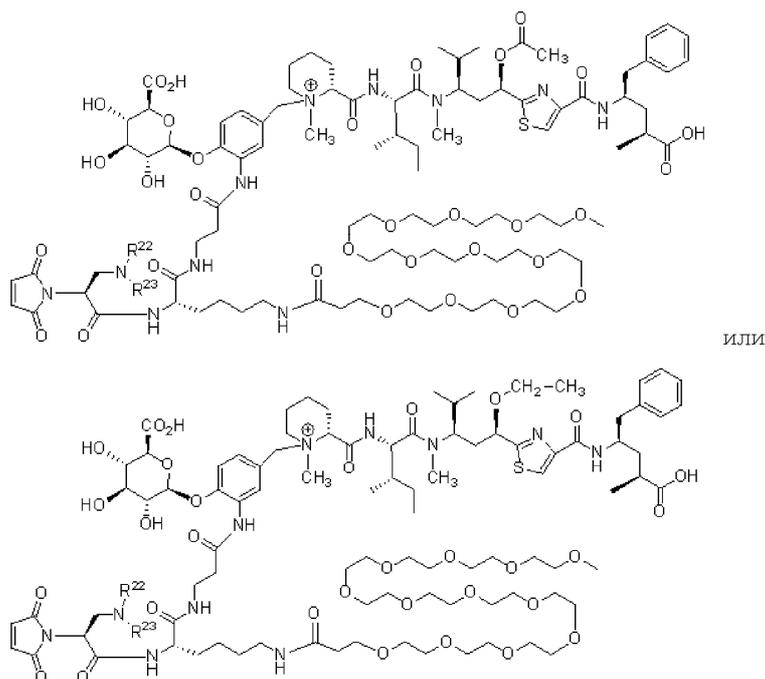


где индекс u обозначает 0 или 1;

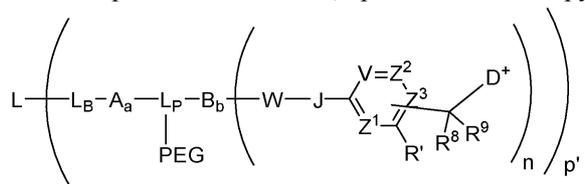
R^{7B} , когда присутствует, представляет собой -OH; и

R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, представляет собой - $OC(O)CH_3$, - OCH_2CH_3 или - $OCH_2CH=CH_2$.

42. Соединение лекарственного средства с линкером согласно варианту осуществления 41, где соединение имеет структуру



43. Конъюгат лекарственного средства с лигандом, представленный структурой формулы 1D



(Формула 1D)

или его фармацевтически приемлемая соль,

где L представляет собой лигандное звено из антитела, тем самым определяя конъюгат антитела с лекарственным средством;

L_B представляет собой звено, ковалентно связывающее лиганд;

L_P представляет собой параллельное соединительное звено, где L_P представляет собой аминокан-диовую кислоту, диаминоалкановую кислоту, серозамещенную алкандиовую кислоту, серозамещенную аминокан-диовую кислоту, диаминоалканол, аминокан-диол, гидроксилзамещенную алкандиовую кислоту, гидроксилзамещенную аминокан-диовую кислоту или серозамещенный остаток аминокан-диола, необязательно замещенные, где заместитель, содержащий серу, находится в восстановленном или окисленном виде или L_P представляет собой аминокислотный остаток лизина, аргинина, аспарагина, глутамина, орнитина, цитруллина, цистеина, гомоцистеина, пеницилламина, треонина, серина, глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, тирозина, гистидина или триптофана, где аминокислота имеет D- или L-конфигурацию;

PEG представляет собой полиэтиленгликолевое звено;

индекс a обозначает 0 или 1;

индекс b обозначает 0 или 1;

A представляет собой первое необязательное расширяющее звено, таким образом, когда индекс a обозначает 0, A отсутствует, или, когда индекс a обозначает 1, A присутствует и необязательно включает две, три или четыре независимо выбранных субъединиц (A_1, A_2, A_3, A_4);

B представляет собой разветвляющее звено или второе необязательное расширяющее звено (A_0), таким образом, когда индекс b обозначает 0, B отсутствует, или, когда индекс b обозначает 1, B присутствует и необязательно включает две, три или четыре субъединицы независимо от A;

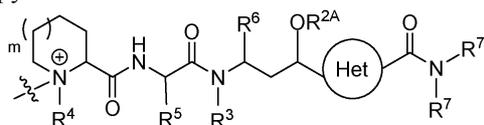
индекс n обозначает 1, 2, 3 или 4, при условии, что индекс b обозначает 1 и B представляет собой разветвление, когда индекс n обозначает 2, 3 или 4, и при условии, что B представляет собой A_0 или отсутствует, когда индекс n обозначает 1;

V, Z^1 , Z^2 и Z^3 представляют собой =N- или =C(R^{24})-, где R^{24} представляет собой водород или C_1 - C_6 -алкил, C_2 - C_8 -алкинил или C_2 - C_8 -алкинил, необязательно замещенные, или галоген, $-NO_2$, $-CN$ или другую электроноакцепторную группу, или $-OCH_3$ или другую электроноакцепторную группу, или $-C(R^8)(R^9)-D^+$, где один из V, Z^1 и Z^3 представляет собой =C(R^{24})-, где R^{24} представляет собой $-C(R^8)(R^9)-D^+$;

R^1 представляет собой водород или $-OCH_3$ или другую электронодонорную группу;

индекс p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 24;

D⁺ представляет собой звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства, предпочтительно имеющее структуру



где кольцо Het представляет собой 5-членный азотсодержащий гетероарилен, содержащий по меньшей мере один гетероатом, выбранный из группы, состоящей из N, O и S, и где указанные обязательные заместители на этом гетероарилене находятся в 1,3-положении по отношению друг к другу при необязательном замещении по остальным положениям;

индекс m обозначает 0 или 1;

R^{2A} представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, или R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, обозначает O-связанный заместитель;

R³ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

R⁴, R⁵ и R⁶ представляют собой необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

один R⁷ представляет собой необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, необязательно замещенный C₆-C₁₈-арилалкил, необязательно замещенный C₆-C₁₈-гетероарилалкил, и другой R⁷ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

J представляет собой гетероатом, необязательно замещенный в случае азота, предпочтительно, J представляет собой -N(R³³)-, где R³³ представляет собой водород или метил;

W представляет собой пептид, включающий аминокислотную последовательность, ковалентно присоединенную к J через амидную связь, где эта амидная связь может расщепляться протеазой,

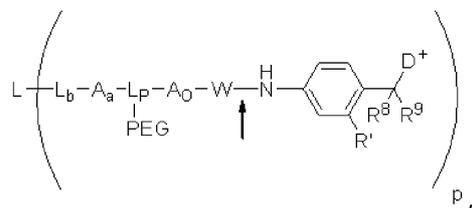
где расщепление указанной амидной связи с помощью протеазы инициирует высвобождение тубулизинового соединения (D) из соединения конъюгата лекарственного средства с лигандом;

где термин "необязательно замещенный" относится к частице, которая может быть незамещена или замещена группой, выбранной из одного или нескольких атомов, выбранных из группы, состоящей из галогена, -CN, -OH, -NH₂, -NH(CH₃), -N(CH₃)₂, C₁-C₆-алкила, C₁-C₆-фторалкила, C₁-C₆-фторалкокси, C₁-C₆-гетероалкила, C₃-C₈-циклоалкила, C₃-C₈-гетероциклоалкила, C₅-C₁₄-арила, C₅-C₁₄-гетероарила, C₁-C₆-алкокси, C₅-C₁₄-арилокси, C₁-C₆-алкилтио, C₅-C₁₄-арилтио, C₁-C₆-алкилсульфоксида, C₅-C₁₄-арилсульфоксида, C₁-C₆-алкилсульфона, -C(=O)OH, -C(=O)O-C₁-C₆-алкила, -C(=O)NH₂, -C(=O)NH(C₁-C₆-алкила) и -C(=O)N(C₁-C₆-алкил)₂;

где термин "электроноакцепторная группа" относится к частице, выбранной из группы, состоящей из необязательно замещенного C₂-C₆-алкинила, необязательно замещенного C₂-C₆-алкинила, -C(=O), -CN, -NO₂, -CX₃, -X, -C(=O)OR', -C(=O)NH₂, -C(=O)N(R')R^{op}, -C(=O)R', -C(=O)X, -S(=O)₂R^{op}, -S(=O)₂OR', -SO₃H₂, -S(=O)₂NH₂, -S(=O)₂N(R')R^{op}, -PO₃H₂, -P(=O)(OR')(OR^{op})₂, -NO, -NH₂, -NH(R^{op}), -N(R')(R^{op}) и -N(R^{op})₃⁺, где X представляет собой -F, -Cl, -Br или -I, и каждый из R и R^{op} независимо выбран из группы необязательных заместителей;

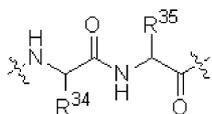
где термин "электронодонорная группа" относится к частице, выбранной из группы, состоящей из -OH, -OR', -NH₂, -NHR', N(R')₂, необязательно замещенного C₅-C₁₄-арила, необязательно замещенного C₅-C₁₄-гетероарила, необязательно замещенного C₂-C₆-алкинила и необязательно замещенного C₂-C₆-алкинила, где каждый R' независимо представляет собой C₁-C₆-алкил.

44. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 43, представленный структурой

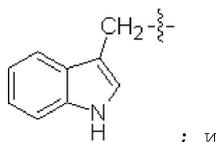


где W включает дипептид, где дипептид находится на дистальном конце W, и указанная связь представляет собой амидную связь, специфически расщепляемую внутриклеточной протеазой по сравнению со свободно циркулирующими сывороточными протеазами, или

где дипептид имеет структуру

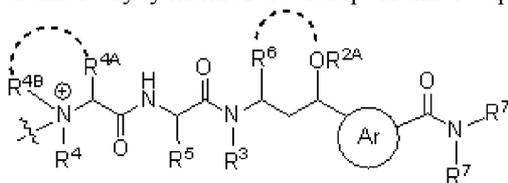


где R³⁴ представляет собой бензил, метил, изопропил, изобутил, втор-бутил, -CH(OH)CH₃ или имеет следующую структуру:



R^{35} представляет собой метил, $-(CH_2)_4-NH_2$, $-(CH_2)_3NH(C=O)NH_2$, $(CH_2)_3NH(C=NH)NH_2$ или $-(CH_2)_2CO_2H$, где волнистая линия на дипептидном N-конце обозначает ковалентное присоединение к A_0 или L_p , в зависимости от присутствия или отсутствия A_0 , соответственно, и волнистая линия на дипептидном C-конце обозначает ковалентное присоединение к J.

45. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно любому из вариантов осуществления 43 или 44, где звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру



где изогнутые пунктирные линии указывают на необязательную циклизацию;

R^{2A} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, или R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, обозначает заместитель, выбранный из группы, состоящей из $-OCH_2OCH_2R^{2B}$, $-OCH_2R^{2B}$, $-OC(O)R^{2B}$, $-CH_2OC(O)R^{2B}$, $-OC(O)N(R^{2B})(R^{2C})$ и $-OCH_2C(O)N(R^{2B})(R^{2C})$, или R^{2A} отсутствует, когда R^6 связан с этим атомом кислорода, как показано изогнутой пунктирной линией между R^6 и атомом кислорода, обозначая кислородсодержащий C_5 - C_{10} -гетероциклоалкил;

обведенный кружком Ar представляет собой 5-членный азот-гетероарил, содержащий по меньшей мере один гетероатом, выбранный из группы, состоящей из N, O и S, где указанные обязательные заместители на этом гетероариле находятся в 1,3-положении по отношению друг к другу при необязательном замещении по остальным положениям

R^3 представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил;

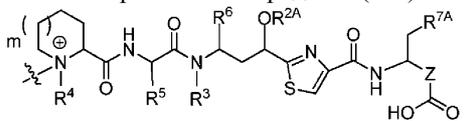
R^4 , R^5 и R^6 представляют собой необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, независимо выбранный, или R^6 присоединен к атому кислорода фрагмента $-OR^{2A}$, в котором R^{2A} отсутствует, и R^4 и R^5 имеют значения, определенные выше;

R^{4A} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_8 -алкил, и R^{4B} представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, или оба вместе с атомом азота, к которому они присоединены, как показано изогнутой пунктирной линией между R^{4A} и R^{4B} , обозначают гетероциклоалкил с кватернизированным атомом азота, необязательно замещенный;

один R^7 представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, и другой R^7 представляет собой необязательно замещенный C_6 - C_{14} -аралкил или C_5 - C_{14} -гетероаралкил;

где волнистая линия указывает на ковалентное связывание структуры D^+ с остатком структуры конъюгата.

46. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 43, где звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру

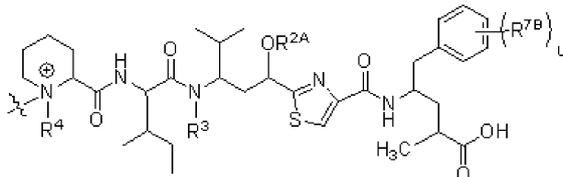


где индекс m обозначает 0 или 1;

Z представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкилен или необязательно замещенный C_2 - C_8 -алкенилен; и

R^{7A} представляет собой необязательно замещенный C_6 - C_{12} -арил или необязательно замещенный C_5 - C_{12} -гетероарил.

47. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно любому из вариантов осуществления 45 или 46, где звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства $-D^+$ имеет структуру



где R^4 представляет собой метил;

индекс u обозначает 0, 1 или 2;

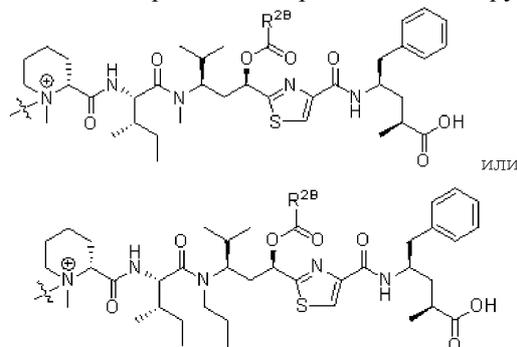
R^3 представляет собой H, метил, этил, пропил, $-CH_2-OC(O)R^{3A}$, $-CH_2CH(R^{3B})C(O)R^{3A}$ или

$-\text{CH}(\text{R}^{3\text{B}})\text{C}(\text{O})\text{NHR}^{3\text{A}}$, где $\text{R}^{3\text{A}}$ представляет собой C_1 - C_6 -алкил и $\text{R}^{3\text{B}}$ представляет собой H или C_1 - C_6 -алкил, независимо выбранный из $\text{R}^{3\text{A}}$;

$\text{R}^{2\text{A}}$ вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, представляет собой O -связанный заместитель, выбранный из группы, включающей $-\text{OCH}_2\text{OCH}_2\text{R}^{2\text{B}}$, $-\text{OCH}_2\text{R}^{2\text{B}}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^{2\text{B}}$, $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{R}^{2\text{B}}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{2\text{B}})(\text{R}^{2\text{C}})$ и $-\text{OCH}_2\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{2\text{B}})(\text{R}^{2\text{C}})$, где $\text{R}^{2\text{B}}$ и $\text{R}^{2\text{C}}$ независимо выбраны из группы, включающей H , C_1 - C_6 -алкил и C_2 - C_6 -алкенил; и

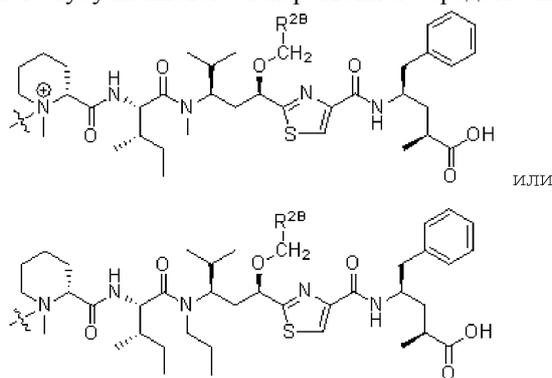
каждый $\text{R}^{7\text{B}}$, когда присутствует, независимо представляет собой $-\text{OH}$ или $-\text{OCH}_3$.

48. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 45, где звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства имеет структуру



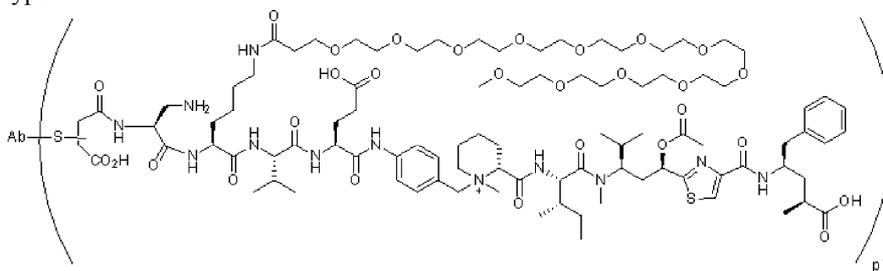
где $\text{R}^{2\text{B}}$ представляет собой $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$, или

звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства имеет структуру

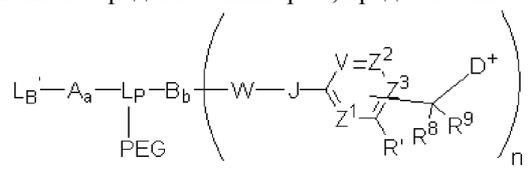


где $\text{R}^{2\text{B}}$ представляет собой водород, метил или $-\text{OCH}_3$, или $-\text{OCH}_2\text{R}^{2\text{B}}$ представляет собой $-\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ или $-\text{OCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$.

49. Конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 45, представленный структурой



50. Соединение лекарственного средства с линкером, представленное следующей структурой



или его фармацевтически приемлемая соль,

где L_B' представляет собой предшественник звена ковалентно связывающего лиганда;

L_p представляет собой параллельное соединительное звено, где L_p представляет собой аминокан-диовую кислоту, диаминоалкановую кислоту, серозамещенную алкандиовую кислоту, серозамещенную аминокан-диовую кислоту, диаминоалканол, аминокан-диол, гидроксилзамещенную алкандиовую ки-

слоту, гидроксилзамещенную аминокановую кислоту или серозамещенный остаток аминоканового спирта, необязательно замещенные, где заместитель, содержащий серу, находится в восстановленном или окисленном виде или L_p представляет собой аминокислотный остаток лизина, аргинина, аспарагина, глутамина, орнитина, цитруллина, цистеина, гомоцистеина, пеницилламина, треонина, серина, глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, тирозина, гистидина или триптофана, где аминокислота имеет D- или L-конфигурацию;

PEG представляет собой полиэтиленгликолевое звено;

индексы a и b, независимо, представляют собой 0 или 1;

индекс n обозначает 1, 2, 3 или 4;

A представляет собой первое необязательное расширяющее звено, таким образом, когда индекс a обозначает 0, A отсутствует, или, когда индекс a обозначает 1, A присутствует и необязательно включает две, три или четыре независимо выбранных субъединицы (A_1, A_2, A_3, A_4);

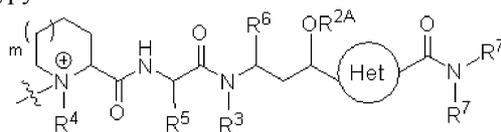
B представляет собой разветвляющееся звено или второе необязательное расширяющее звено (A_0), таким образом, когда индекс b обозначает 0, B отсутствует, или, когда индекс b обозначает 1, B присутствует и необязательно включает две, три или четыре субъединицы независимо от A,

где индекс b обозначает 1 и B представляет собой разветвление, когда индекс n обозначает 2, 3 или 4 или b обозначает 0 или 1, так что B представляет собой A_0 , когда индекс n обозначает 1;

V, Z^1 , Z^2 и Z^3 представляют собой =N- или =C(R^{24})-, где R^{24} представляет собой водород или C_1 - C_6 -алкил, C_2 - C_8 -алкинил или C_2 - C_8 -алкинил, необязательно замещенные, или галоген, $-NO_2$, $-CN$ или другую электроноакцепторную группу, или $-OCH_3$ или другую электроноакцепторную группу, или $-C(R^8)(R^9)-D^+$, где один из V, Z^1 и Z^3 представляет собой =C(R^{24})-, где R^{24} представляет собой $-C(R^8)(R^9)-D^+$;

R^1 представляет собой водород или $-OCH_3$ или другую электронодонорную группу;

D^+ представляет собой звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства, предпочтительно имеющее структуру



где кольцо Het представляет собой 5-членный азотсодержащий гетероарил, содержащий по меньшей мере один гетероатом, выбранный из группы, состоящей из N, O и S, и где указанные обязательные заместители на этом гетероариле находятся в 1,3-положении по отношению друг к другу при необязательном замещении по остальным положениям;

индекс m обозначает 0 или 1;

R^{2A} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, или R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, обозначает O-связанный заместитель;

R^3 представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил;

R^4 , R^5 и R^6 представляют собой необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил;

один R^7 представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, необязательно замещенный C_6 - C_{18} -арилалкил, необязательно замещенный C_6 - C_{18} гетероарилалкил, и другой R^7 представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил;

J представляет собой гетероатом, необязательно замещенный азотом, предпочтительно, J представляет собой $-N(R^{33})-$, где R^{33} представляет собой водород или метил;

W представляет собой пептид, включающий аминокислотную последовательность, ковалентно присоединенную к J через амидную связь, где расщепление этой амидной связи указанной протеазой инициирует высвобождение тубулизинового соединения (D) из соединения лекарственного средства с линкером или соединения конъюгата лекарственного средства с лигандом, полученного из соединения линкера с лекарственным средством, где соединение конъюгата лекарственного средства с лигандом имеет структуру формулы 1D по п.43, в которой индекс p заменен на индекс p', где индекс p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 24;

где термин "необязательно замещенный" относится к частице, которая может быть незамещена или замещена группой, выбранной из одного или нескольких атомов, выбранных из группы, состоящей из галогена, $-CN$, $-OH$, $-NH_2$, $-NH(CH_3)$, $-N(CH_3)_2$, C_1 - C_6 -алкила, C_1 - C_6 -фторалкила, C_1 - C_6 -фторалкокси, C_1 - C_6 -гетероалкила, C_3 - C_8 -циклоалкила, C_3 - C_8 -гетероциклоалкила, C_5 - C_{14} -арила, C_5 - C_{14} -гетероарила, C_1 - C_6 -алкокси, C_5 - C_{14} -арилокси, C_1 - C_6 -алкилтио, C_5 - C_{14} -арилтио, C_1 - C_6 -алкилсульфоксида, C_5 - C_{14} -арилсульфоксида, C_1 - C_6 -алкилсульфона, $-C(=O)OH$, $-C(=O)O-C_1$ - C_6 -алкила, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)NH(C_1$ - C_6 -алкила) и $-C(=O)N(C_1$ - C_6 -алкил) $_2$;

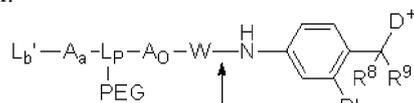
где термин "электроноакцепторная группа" относится к частице, выбранной из группы, состоящей из необязательно замещенного C_2 - C_6 -алкинила, необязательно замещенного C_2 - C_6 -алкинила, $-C(=O)$, $-CN$, $-NO_2$, $-CX_3$, $-X$, $-C(=O)OR'$, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)N(R')R^{op}$, $-C(=O)R'$, $-C(=O)X$, $-S(=O)_2R^{op}$, $-S(=O)_2OR'$, $-SO_3H_2$, $-S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2N(R')R^{op}$, $-PO_3H_2$, $-P(=O)(OR')(OR^{op})_2$, $-NO$, $-NH_2$, $-NH(R^{op})$, $-N(R')(R^{op})$ и $-N(R^{op})_3^+$, где X представляет собой $-F$, $-Cl$, $-Br$ или $-I$, и каждый из R и R^{op} независимо выбран из группы

необязательных заместителей;

где термин "электронодонорная группа" относится к частице, выбранной из группы, состоящей из -OH, -OR', -NH₂, -NHR', N(R')₂, необязательно замещенного C₅-C₁₄-арила, необязательно замещенного C₅-C₁₄-гетероарила, необязательно замещенного C₂-C₆-алкенила и необязательно замещенного C₂-C₆-алкинила, где каждый R' независимо представляет собой C₁-C₆-алкил; и

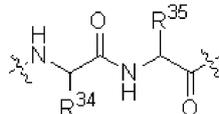
где термин "О-связанный заместитель" относится к заместителю, выбранному из группы, состоящей из -OH, -OCH₂OCH₂R^{2B}, -OCH₂R^{2B}, -OC(O)R^{2B}, -CH₂OC(O)R^{2B}, -OC(O)N(R^{2B})(R^{2C}) и -OCH₂C(O)N(R^{2B})(R^{2C}), где R^{2B} и R^{2C} независимо выбраны из группы, состоящей из H, C₁-C₆-алкила и C₂-C₈-алкенила.

51. Соединение лекарственного средства с линкером согласно варианту осуществления 50, представленное следующей структурой:

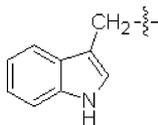


где W включает дипептид, где дипептид находится на дистальном конце W, и указанная связь представляет собой амидную связь, специфически расщепляемую внутриклеточной протеазой по сравнению со свободно циркулирующими сывороточными протеазами, и

где дипептид имеет структуру

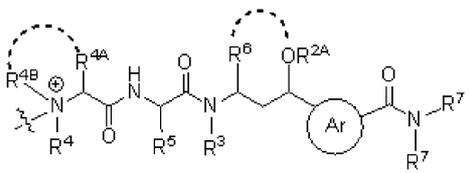


где R³⁴ представляет собой бензил, метил, изопропил, изобутил, втор-бутил, -CH(OH)CH₃ или имеет следующую структуру:



R³⁵ представляет собой метил, -(CH₂)₄-NH₂, -(CH₂)₃NH(C=O)NH₂, (CH₂)₃NH(C=NH)NH₂ или -(CH₂)₂CO₂H, где волнистая линия на дипептидном N-конце обозначает ковалентное присоединение к A₀ или к L_B, в зависимости от присутствия или отсутствия A₀, соответственно, и волнистая линия на дипептидном C-конце обозначает ковалентное присоединение к атому азота указанной амидной связи.

52. Соединение лекарственного средства с линкером согласно варианту осуществления 51, где D⁺ представляет собой звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства, имеющего структуру



где изогнутые пунктирные линии указывают на необязательную циклизацию; R^{2A} представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, или R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, обозначает О-связанный заместитель, иной чем -OH, или R^{2A} отсутствует, когда R⁶ связан с этим атомом кислорода, как показано изогнутой пунктирной линией между R⁶ и атомом кислорода, обозначая кислородсодержащий C₅-C₁₀-гетероциклоалкил;

обведенный кружком Ar представляет собой 5-членный азот-гетероарил, содержащий по меньшей мере один гетероатом, выбранный из группы, состоящей из N, O и S, где указанные обязательные заместители на этом гетероариле находятся в 1,3-положении относительно друг друга с необязательным замещением в оставшихся положениях;

R³ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

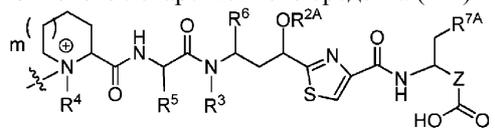
R⁴, R⁵ и R⁶ представляют собой необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, независимо выбранный, или R⁶ присоединен к атому кислорода фрагмента -OR^{2A}, в котором R^{2A} отсутствует, и R⁴ и R⁵ имеют значения, определенные выше;

R^{4A} представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, и R^{4B} представляет собой необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, или оба вместе с атомом азота, к которому они присоединены, как показано изогнутой пунктирной линией между R^{4A} и R^{4B}, обозначают гетероциклоалкил с кватернизованным атомом азота, необязательно замещенный;

один R⁷ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, и другой R⁷ представляет собой необязательно замещенный C₆-C₁₄-аралкил или C₅-C₁₄-гетероаралкил;

где волнистая линия указывает на ковалентное связывание структуры D⁺ с остатком структуры LDC.

53. Соединение лекарственного средства с линкером согласно варианту осуществления 52, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру

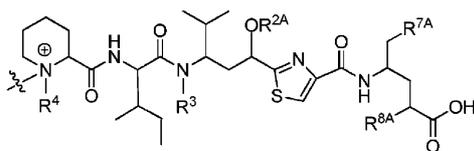


индекс m обозначает 0 или 1;

Z представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкилен или необязательно замещенный C_2 - C_8 -алкенилен; и

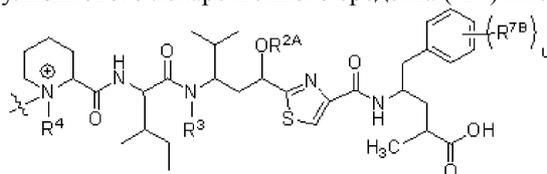
R^{7A} представляет собой необязательно замещенный C_6 - C_{12} -арил или необязательно замещенный C_5 - C_{12} -гетероарил.

54. Соединение лекарственного средства с линкером согласно любому из вариантов осуществления 52 или 53, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру



где R^{7A} представляет собой необязательно замещенный фенил и R^{8A} представляет собой водород или метил.

55. Соединение лекарственного средства с линкером согласно варианту осуществления 52, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру



где R^4 представляет собой метил;

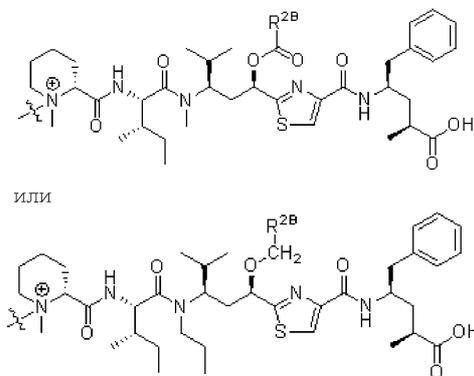
индекс u обозначает 0, 1 или 2;

R^3 представляет собой H, метил, этил, пропил, $-CH_2-OC(O)R^{3A}$, $-CH_2CH(R^{3B})C(O)R^{3A}$ или $-CH(R^{3B})C(O)NHR^{3A}$, где R^{3A} представляет собой C_1 - C_6 -алкил и R^{3B} представляет собой H или C_1 - C_6 -алкил, независимо выбранный из R^{3A} ;

R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, представляет собой O-связанный заместитель, выбранный из группы, включающей $-OCH_2OCH_2R^{2B}$, $-OCH_2R^{2B}$, $-OC(O)R^{2B}$, $-OCH_2OC(O)R^{2B}$, $OC(O)N(R^{2B})(R^{2C})$ и $-OCH_2C(O)N(R^{2B})(R^{2C})$, где R^{2B} и R^{2C} независимо выбраны из группы, включающей H, C_1 - C_6 -алкил и C_2 - C_6 -алкенил; и

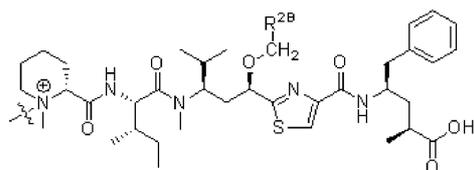
каждый R^{7B} , когда присутствует, независимо представляет собой $-OH$ или $-OCH_3$.

56. Соединение лекарственного средства с линкером согласно любому из вариантов осуществления 54 или 55, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру

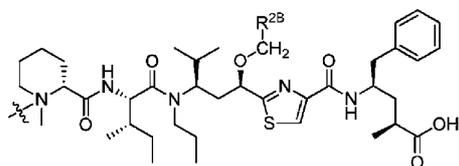


где R^{2B} представляет собой $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CH_2CH_2CH_3$, $CH(CH_3)_2$, $-CH_2CH(CH_3)_2$, $-CH_2C(CH_3)_3$, или

звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру

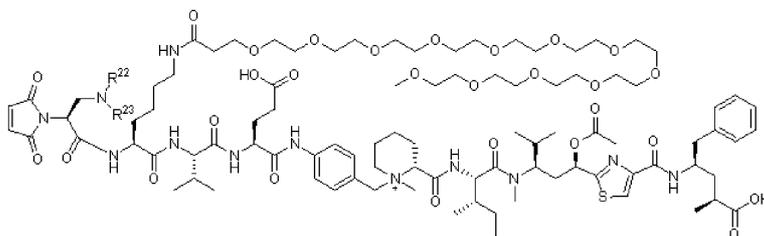


или



где R^{2B} представляет собой водород, метил или $-OCH_3$, или $-OCH_2R^{2B}$ представляет собой $-OCH_2CH=CH_2$ или $-OCH_2C(CH_3)=CH_2$.

57. Соединение лекарственного средства с линкером согласно варианту осуществления 51, имеющее структуру



где один из R^{22} и R^{23} представляет собой водород, и другой представляет собой легко удаляемую защитную группу, или R^{22} и R^{23} , каждый, представляют собой водород на атоме азота, к которому они присоединены, необязательно протонированном в виде соли присоединения кислоты.

58. Фармацевтический состав, содержащий конъюгат лекарственного средства с лигандом согласно варианту осуществления 1 и одно или несколько вспомогательных веществ.

59. Состав согласно варианту осуществления 58, где предшественник фармацевтически приемлемого состава является твердым веществом, пригодным для разведения в виде раствора для внутривенной инъекции субъекту, или где фармацевтически приемлемый состав представляет собой жидкость, подходящую для внутривенной инъекции субъекту;

и где конъюгат лекарственного средства с лигандом присутствует в фармацевтически приемлемом составе в эффективном количестве для лечения гиперпролиферативного состояния.

60. Применение конъюгата лекарственного средства с лигандом согласно любому из вариантов осуществления 1 или 43, для изготовления лекарственного средства для лечения гиперпролиферативного заболевания или состояния.

61. Применение согласно варианту осуществления 60, где гиперпролиферативное заболевание или состояние представляет собой злокачественное новообразование.

62. Применение согласно варианту осуществления 61, где гиперпролиферативное заболевание или состояние представляет собой лейкоз или лимфому.

63. Способ ингибирования размножения опухолевых клеток или раковых клеток или вызывания апоптоза в опухолевых или раковых клетках путем воздействия на указанные клетки *in vitro* эффективным количеством конъюгата лекарственного средства с лигандом согласно любому из вариантов осуществления 1 или 43.

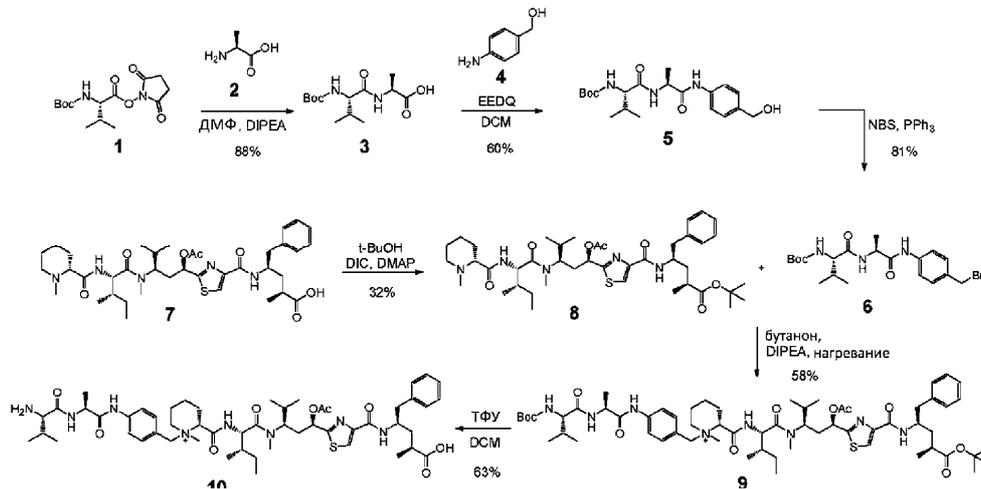
Примеры

Общая информация.

Все коммерчески доступные безводные растворители использовали без дополнительной очистки. Аналитическую тонкослойную хроматографию проводили на алюминиевых пластинах с силикагелем 60 F254 (EMD Chemicals, Gibbstown, NJ). Радиальную хроматографию проводили на приборе Chromatotron (Harris Research, Palo Alto, CA). Колоночную хроматографию проводили на системе флэш-очистки Biotage Isolera One (Charlotte, NC). Аналитическую ВЭЖХ проводили на системе доставки растворителя Varian ProStar 210, снабженной детектором Varian ProStar 330 PDA. Образцы элюировали на колонке с обращенной фазой C12 Phenomenex Synergi 2,0×150 мм, 4 мкм, 80 Å. Кислая подвижная фаза состояла из ацетонитрила и воды, оба содержащие 0,05% трифторуксусной кислоты или 0,1% муравьиной кислоты (указано для каждого соединения). Соединения элюировали линейным градиентом кислого ацетонитрила от 5% через 1 мин после инъекции до 95% через 11 мин, а затем изократического 95% ацетонитрила до 15 мин (скорость потока=1,0 мл/мин). ЖХ-МС осуществляли на двух разных системах. ЖХ-МС система 1 состояла из масс-спектрометра ZMD Micromass, сопряженного с прибором HP Agilent 1100 ВЭЖХ, оборудованным колонкой C12 Phenomenex Synergi 2,0×150 мм, 4 мкм, 80 Å с обращенной фазой. Ки-

слотный элюент состоял из линейного градиента ацетонитрила от 5% до 95% в 0,1% водной муравьиной кислоте в течение 10 мин, а затем изократического 95% ацетонитрила в течение 5 мин (скорость потока=0,4 мл/мин). Система 2 ЖХ-МС состояла из масс-спектрометра Waters Xevo G2 ToF, соединенного с модулем разделения Waters 2695 с помощью матричного фотодиодного детектора Waters 2996; колонка, подвижные фазы, градиент и скорость потока были такими же, как для системы ЖХ-МС 1. Система УРЖХ-МС 1 состояла из детектора массы Waters SQ, подключенного к жидкостному хроматографу Acquity Ultra Performance, оснащенный колонкой Acquity UPLC BEH C18 2,1×50 мм, 1,7 мкм с обращенной фазой. Кислотная подвижная фаза (0,1% муравьиная кислота) состояла из градиента от смеси 3% ацетонитрила/97% воды до 100% ацетонитрила (скорость потока=0,5 мл/мин). Система 2 УРЖХ-МС состояла из масс-спектрометра Waters Xevo G2 ToF, соединенного с LC Waters Acquity H-Class Ultra Performance, оснащенный колонкой Acquity UPLC BEH C18 2,1×50 мм, с обращенной фазой 1,7 мкм. Кислотная подвижная фаза (0,1% муравьиная кислота) состояла из градиента от смеси 3% ацетонитрила/97% воды до 100% ацетонитрила (скорость потока=0,7 мл/мин). Аналитическую ВЭЖХ проводили на системе доставки растворителя Varian ProStar 210, снабженной детектором Varian ProStar 330 PDA. Продукты очищали на колонке с обращенной фазой C12 Phenomenex Synergi 10,0×250 мм, 4 мкм, 80 Å, элюируя 0,1% трифторуксусной кислотой в воде (растворитель А) и 0,1% трифторуксусной кислотой в ацетонитриле (растворитель В). Методы очистки, как правило, состояли из линейных градиентов растворителя А к растворителю В с постепенным увеличением от 90% водного растворителя А до 10% растворителя А. Скорость потока составляла 4,6 мл/мин при контроле при 254 нм. Данные спектра ЯМР были собраны на спектрометре Varian Mercury 400 МГц. Константы связи (J) указаны в герцах.

Схема 1



(S)-2-((S)-2-((трет-Бутоксикарбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-пропановая кислота (3): В колбу помещали Boc-Val-OSu (1, 1,0 г, 3,18 ммоль) и H-Ala-OH (2, 312 мг, 3,5 ммоль) в безводном диметилформамиде (10,6 мл). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (1,1 мл, 6,4 ммоль) и раствор перемешивали в атмосфере N₂ при температуре 50°C в течение 12 ч. Реакционную смесь помещали в ДМСО и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 3 (808 мг, 88%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): t_r=1,38 мин, m/z (ES⁺) найдено 289,60.

трет-Бутил ((S)-1-(((S)-1-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)карбамат (5). В высушенную на пламени колбу помещали дипептид 3 (808 мг, 2,8 ммоль) и 4-аминобензиловый спирт 4 (345 мг, 2,8 ммоль) в безводном дихлорметане (14 мл). Добавляли EEDQ (762 мг, 3,1 ммоль) в виде твердого вещества и перемешивали в атмосфере азота при комнатной температуре в течение 12 ч. Реакционную смесь затем концентрировали и очищали на силикагеле на колонке Biotage (CH₂Cl₂/MeOH, 0%-10%) с получением 5 (660 мг, 60%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): t_r=1,51 мин, m/z (ES⁺) найдено 394,51.

трет-бутил ((S)-1-(((S)-1-((4-(Бромметил)фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)карбамат (6). Колбу, содержащую Boc-Val-Ala-РАВА-ОН (5, 100 мг, 254 мкмоль), N-бромсукцинимид (68 мг, 381 мкмоль) и трифенилфосфин (100 мг, 381 мкмоль), продували азотом. Реакционную смесь помещали в ТГФ (4 мл) и перемешивали в течение 12 ч. Реакционную смесь концентрировали и очищали на силикагеле на колонке Biotage (гексан/EtOAc, 10%-100%) с получением 6 (94 мг, 81%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): t_r=2,09 мин, m/z (ES⁺) найдено 456,10.

(2S,4R)-трет-Бутил 4-(2-(((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (8). В высушенную на пламени колбу помещали аналог тубулизина (7, 10 мг, 14 мкмоль) в безводном DCM (0,7 мл) и трет-бутанол (0,7 мл). Добавляли диизопропилкарбодиимид (3,2 мкл, 21 мкмоль) и DMAP (0,08 мг, 0,7 мкмоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч. Реакцион-

ную смесь концентрировали, помещали в ДМСО и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 8 (3,5 мг, 32%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,35$ мин, m/z (ES+) найдено 784,56.

(2R)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-Ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-4-метил-5-оксо-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-(4-(((S)-2-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (9). В сосуд под давлением помещали Вос-Val-Ala-PAВ-Br (6, 3,5 мг, 7,7 мкмоль) и защищенный тубулизин 8 (4,0 мг, 5,1 мкмоль) в безводном бутаноне (0,765 мл). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (1,8 мкл, 10 мкмоль), и реакционную смесь продували азотом. Сосуд герметично закрывали и оставляли перемешиваться при температуре 80°C в течение 12 ч. Реакционную смесь концентрировали, помещали в ДМСО и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 9 (3,5 мг, 58%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,51$ мин, m/z (ES+) найдено 1159,58.

(2R)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-Ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-4-карбоксии-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-(4-(((S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (10). Колбу, содержащую Вос-Val-Ala-PAВ-TubM-OtBu (9, 3,5 мг, 3 мкмоль), охлаждали до температуры 0°C в атмосфере азота. Добавляли по каплям раствор 10% ТФУ в CH_2Cl_2 (0,3 мл) и перемешивали в течение 4 ч. Реакционную смесь концентрировали, помещали в ДМСО и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 10 (1,9 мг, 63%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,05$ мин, m/z (ES+) найдено 1003,60.

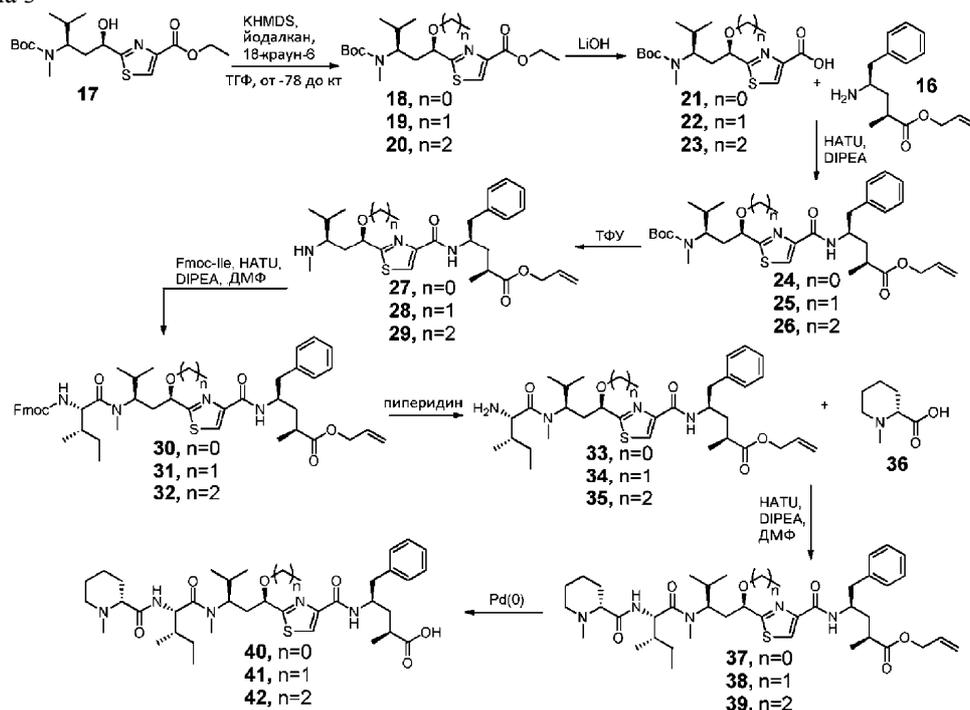
(2R)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-Ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-4-карбоксии-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-(4-(((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)гексанамидо)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (12). МС-OSu (11, 0,6 мг, 2 мкмоль) помещали в безводный диметилформамид (0,2 мл) и добавляли в колбу, содержащую Val-Ala-PAВ-Tub (10, 1,9 мг, 2 мкмоль). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (1,0 мг, 8 мкмоль), и реакционную смесь перемешивали в атмосфере азота в течение 3 ч. Реакционную смесь помещали в ДМСО и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением линкера четвертичного амина тубулизина 12 (1,2 мг, 53%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,25$ мин, m/z (ES+) найдено 1196,45.

(2R)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-Ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-4-карбоксии-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-(4-(((7S,10S,13S)-7-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)-10-изопропил-2,2,13-триметил-4,8,11-триоксо-3-окса-5,9,12-триазатетрадеканамидо)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (14). MDPR(Вос)-OSu (13, 1,3 мг, 3,5 мкмоль) помещали в безводный диметилформамид (0,3 мл) и добавляли в колбу, содержащую Val-Ala-PAВ-TubM (10, 3,2 мг, 3,2 мкмоль). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (1,6 мг, 13 мкмоль), и реакционную смесь перемешивали в атмосфере азота в течение 3 ч. Реакционную смесь помещали в ДМСО и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 14 (2,0 мг, 49%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,35$ мин, m/z (ES+) найдено 1269,76.

(2R)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-Ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-4-карбоксии-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-(4-(((S)-2-((S)-2-((S)-3-амино-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (15). Колбу, содержащую MDPR(Вос)-Val-Ala-PAВ-TubM (14, 2 мг, 1,6 мкмоль), охлаждали до температуры 0°C в атмосфере азота. Добавляли по каплям раствор 10% ТФУ в CH_2Cl_2 (1,6 мл) и перемешивали в течение 4 ч. Реакционную смесь концентрировали, помещали в ДМСО и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 15 (1,0 мг, 54%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,02$ мин, m/z (ES+) найдено 1169,72.

Аналоги тубулизина, в которых тубувалин ацетат был заменен на алкиловый эфир, получали как показано на схеме 3.

Схема 3



Общий метод этерификации тубувалина. В высушенную на пламени колбу помещали Вос-защищенный известный тубувалин (J. Org. Chem., 2008, 73, 4362-4369) промежуточное соединение 17 в безводном тетрагидрофуране (50 мМ), к которому добавляли 18-краун-6 (2,0 эквивалента) и охлаждали до температуры -78°C . Добавляли по каплям гексаметилдисилазид калия (1,5 эквивалентов) в виде 1М раствора в тетрагидрофуране и затем реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч в течение -78°C в атмосфере азота. Затем добавляли йодалкан (2-5 эквивалентов) и реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и затем подвергали СВЭЖХ/МС. После того, как исходное вещество было израсходовано, реакционную смесь охлаждали на льду и гасили насыщенным хлоридом аммония и добавляли дихлорметаном (10 объемов). Органический слой промывали 0,1М НСl и полученную водную фазу два раза экстрагировали дихлорметаном. Объединенные органические продукты затем сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали досуха. Очистка сырых О-алкилированных продуктов достигалась флэш-хроматографией на силикагеле или препаративной ВЭЖХ.

Этил 2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-1-метокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (18). Промежуточное соединение 17 тубувалин (170 мг, 440 мкмоль) О-метилировали, как описано выше, йодметаном (89 мкл, 880 мкмоль) с получением 170 мг (97%) указанного в заголовке соединения после очистки на силикагеле, элюируя смесями метанола и дихлорметана. СВЭЖХ-МС(система 2): $t_{\text{r}}=1,62$ мин, m/z (ES+) вычислено 401,21, найдено 401,28.

Этил 2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-1-этокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (19). Промежуточное соединение 17 тубувалин (392 мг, 1,01 ммоль) О-этилировали как описано выше, йодэтаном (791 мг, 5,05 ммоль) с получением 407 мг (97%) указанного в заголовке соединения после очистки на силикагеле, элюируя смесями метанола и дихлорметана. СВЭЖХ-МС (система 2): $t_{\text{r}}=1,66$ мин, m/z (ES+) вычислено 415,23 (M+H)⁺, найдено 415,29.

Этил 2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-4-метил-1-пропокси-пентил)тиазол-4-карбоксилат (20). Промежуточное соединение 17 тубувалин (22 мг, 57 мкмоль) О-пропилировали как описано выше, 1-йодпропаном (28 мкл, 285 мкмоль) с получением 9 мг (37%) указанного в заголовке соединения после очистки путем препаративной ВЭЖХ. СВЭЖХ-МС (система 2): $t_{\text{r}}=1,77$ мин, m/z (ES+) вычислено 428,23 (M+H)⁺, найдено 451,30 (M+Na)⁺. ¹H ЯМР (1:1 смесь ротамеров, CDCl₃) δ (м.д.) 0,91 (м, 9H), 1,40 (т, J=7,0 Гц, 3H), 1,47 (два с от ротамеров, 9H), 1,64 (м, 3H), 1,87 (м, 2H), 2,74 (м, 3H), 3,42 (м, 2H), 4,10 (м, 1H), 4,42 (кв, J=7,0 Гц, 2H), 4,50 (м, 1H), 8,14 (два с от ротамеров, 1H).

Общий метод омыления О-алкилированных сложных эфиров тубувалина. Реакции омыления проводили при концентрации реакции 20 мМ с использованием смеси 1:1:1 смеси растворителей тетрагидрофуран:метанол:вода. О-алкилированные тубувалиновые промежуточные соединения 18-20 растворяли в 1 объеме каждого тетрагидрофурана и метанола. Смесь затем охлаждали на ледяной бане при температуре 0°C . Моногидрат гидроксида лития (2-3 эквивалентов) растворяли в 1 объеме дистиллированной воды и добавляли по каплям в реакционную колбу, с перемешиванием при температуре 0°C . Затем реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и протекание реакции отслеживали с помощью данных СВЭЖХ/МС. Как только исходное вещество было преобразовывалось в свободную кислоту,

реакционную смесь гасили ледяной уксусной кислотой (2-3 эквивалентов) и концентрировали упариванием на роторе. Сырые карбоновые кислоты затем очищали путем препаративной ВЭЖХ.

Этил 2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-1-метокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (21). Промежуточное соединение 18 метиловый эфир тубувалина (170 мг, 425 мкмоль) омыляли, как описано выше, моногидратом гидроксида лития (19 мг, 1,28 ммоль) с получением 140 мг (89%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС(система 1): $t_r=1,47$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 373,18, найдено 373,41. ¹H ЯМР (1:1 смесь ротамеров, CDCl₃) δ (м.д.) 0,87 (дд, J=6,7, 2,0 Гц, 3H), 0,96 (дд, J=6,7, 1,2 Гц, 3H), 1,49 (два с от ротамеров, 9H), 1,67 (м, 1H), 1,85 (м, 1H), 2,01 (м, 1H), 2,70 (м, 3H), 3,41 (с, 3H), 4,12 (м, 1H), 4,36 (первый ротамер, дд, J=10,5, 2,3 Гц, 0,5H), 4,48 (второй ротамер, д, J=8,6 Гц, 0,5H), 8,28 (два с от ротамеров, 1H).

Этил 2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-1-этокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (22). Промежуточное соединение 19 этиловый эфир тубувалина (170 мг, 425 мкмоль) омыляли, как описано выше, моногидратом гидроксида лития (19 мг, 1,28 ммоль) с получением 140 мг (89%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС(система 2): $t_r=1,48$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 387,20 (M+H)⁺, найдено 387,26. ¹H ЯМР (CDCl₃) δ (м.д.) 0,88 (дд, J=6,7, 2,0 Гц, 3H), 0,96 (д, J=6,6 Гц, 3H), 1,49 (два с от ротамеров, 9H), 1,68 (м, 1H), 1,86 (м, 1H), 2,00 (м, 1H), 2,69 (м, 3H), 3,53 (м, 2H), 4,09 (м, 1H), 4,43 (первый ротамер, дд, J=10,2, 2,7 Гц, 0,5H), 4,54 (второй ротамер, д, J=7,0 Гц, 0,5H), 8,24 (два с от ротамеров, 1H).

Этил 2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-4-метил-1-пропокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (23). Промежуточное соединение 20 пропиловый эфир тубувалина (9 мг, 20 мкмоль) омыляли, как описано выше, моногидратом гидроксида лития (1,7 мг, 40 мкмоль) с получением 7,6 мг (95%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС(система 2): $t_r=1,58$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 401,21 (M+H)⁺, найдено 401,28 (M+Na)⁺.

Общий метод амидной конденсации О-алкилированных свободных кислот тубувалина и аллилового сложного эфира тубуфенилаланина. О-алкилированные свободные кислоты тубувалина 21-23 предварительно активировали путем растворения в безводном диметилформамиде (25-50 мМ) и добавления НАТУ (2,4 эквивалентов) и DIPEA (5 эквивалентов); смесь затем перемешивали в атмосфере азота при комнатной температуре в течение 10 мин. Активированную кислоту затем добавляли к известному (Org. Lett., 2007, 9, 1605-1607) аллиловому эфиру тубуфенилаланина 16 и затем реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в атмосфере азота, эту реакцию отслеживали с помощью СВЭЖХ/МС. После завершения реакции затем добавляли ледяную уксусную кислоту (14 эквивалентов) и продукт очищали путем препаративной ВЭЖХ.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-1-метокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (24). Промежуточное соединение 21 метиловый эфир тубувалина (TuvOMe) (140 мг, 380 мкмоль) присоединяли к аллиловому эфиру тубуфенилаланина (Tur) 16 (188 мг, 760 мкмоль) с получением 164 мг (72%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,96$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 602,33 (M+H)⁺, найдено 602,26.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-1-этокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (25). Промежуточное соединение 22 этиловый эфир тубувалина (TuvOEt) (140 мг, 380 мкмоль) присоединяли к аллиловому эфиру тубуфенилаланина (Tur) 16 (188 мг, 760 мкмоль) с получением 164 мг (72%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,84$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 616,34 (M+H)⁺, найдено 616,43.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-4-метил-1-пропокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (26). Промежуточное соединение 23 пропиловый эфир тубувалина (TuvOPr) (7,6 мг, 19 мкмоль) присоединяли к аллиловому эфиру тубуфенилаланина (Tur) 16 (9,4 мг, 38 мкмоль) с получением 8 мг (67%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=2,00$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 630,36 (M+H)⁺, найдено 630,45. ¹H ЯМР (CDCl₃) δ (м.д.) 0,94 (м, 9H), 1,19 (д, J=7,4 Гц, 3H), 1,49 (с, 9H), 1,64 (м, 5H), 1,84 (м, 1H), 2,03 (м, 2H), 2,63 (м, 1H), 2,73 (м, 3H), 2,93 (м, 2H), 3,41 (м, 2H), 4,07 (м, 2H), 4,29 (м, 1H), 4,41 (м, 2H), 4,55 (м, 2H), 5,25 (м, 2H), 5,88 (м, 1H), 7,24 (м, 5H), 8,05 (два с от ротамеров, 1H).

Общий метод удаления защитной группы Вос промежуточных соединений Tuv(O-Alk)-Tur. Промежуточные соединения 24-26 О-алкилированный тубувалин-тубуфенилаланин подвергали удалению защитных групп для открытия функциональной группы вторичного амина в кислотных условиях с 10% ТФУ в дихлорметане (25 мМ). Конкретно, исходное вещество растворяли в безводном дихлорметане (9 объемов) и перемешивали в атмосфере азота при температуре 0°C. Затем к перемешиваемому раствору добавляли по каплям трифторуксусную кислоту (1 объем). Реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и протекание реакции отслеживали с помощью данных СВЭЖХ/МС. После завершения реакции реакционную смесь концентрировали упариванием на роторе и откачивали в вакуумной линии в течение ночи. Свободные амины 27-29 использовали далее без дополнительной очистки.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-1-метокси-4-метил-3-(метиламино)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (27). Промежуточное соединение 24 Вос-защищенный TuvOMe-Tur (160 мг,

267 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 133 мг (99%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 1): $t_r=1,17$ мин, m/z (ES+) вычислено 524,26 (M+Na)⁺, найдено 524,27.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-1-этокси-4-метил-3-(метиламино)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (28). Промежуточное соединение 25 Вос-защищенный TuvOEt-Tур (160 мг, 267 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 133 мг (99%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS(система 2): $t_r=1,11$ мин, m/z (ES+) вычислено 516,29 (M+H)⁺, найдено 516,37.

(2S,4R)-Аллил 2-метил-4-(2-((1R,3R)-4-метил-3-(метиламино)-1-пропокси-пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-фенилпентаноат (29). Промежуточное соединение 2 Вос-защищенный TuvOEt-Tур 6 (8 мг, 13 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 7 мг (колич.) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS(система 2): $t_r=1,16$ мин, m/z (ES+) вычислено 530,31 (M+H)⁺, найдено 530,40.

Общий метод амидной конденсации дипептидов О-алкилированный тубувалин-тубуфенилаланин с Fmoc-защищенным L-изолейцином. Коммерчески доступный Fmoc-L-изолейцин (1,3-2 эквивалента) растворяли в безводном диметилформамиде (50-200 мМ) и предварительно активировали с помощью HATU (1,5-2 эквивалента) и DIPEA (2 эквивалента); смесь перемешивали в течение 10 мин при комнатной температуре в атмосфере азота. К Tuv(O-эфир)-Тур дипептидам 27-29 затем добавляли активированную кислоту; реакцию отслеживали с помощью данных СВЭЖХ/МС. После того, как реакция останавливалась или полностью завершалась добавляли ледяную уксусную кислоту (13 эквивалентов) и реакцию смесь очищали с помощью преп. ВЭЖХ.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((5S,8R,10R)-5-((S)-втор-бутил)-1-(9H-флуорен-9-ил)-8-изопропил-7-метил-3,6-диоксо-2,11-диокса-4,7-диазадодекан-10-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (30). Промежуточное соединение 27 TuvOMe-Tур (160 мг, 265 мкмоль) присоединяли к Fmoc-L-Ile, как описано выше, с получением 67 мг (30%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 1): $t_r=2,07$ мин, m/z (ES+) вычислено 837,43 (M+H)⁺, найдено 837,20.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((5S,8R,10R)-5-((S)-втор-бутил)-1-(9H-флуорен-9-ил)-8-изопропил-7-метил-3,6-диоксо-2,11-диокса-4,7-диазатридекан-10-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (31). Промежуточное соединение 28 TuvOEt-Tур (160 мг, 265 мкмоль) присоединяли к Fmoc-L-Ile, как описано выше, с получением 133 мг (99%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=1,95$ мин, m/z (ES+) вычислено 851,44 (M+H)⁺, найдено 851,54.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((5S,8R,10R)-5-((S)-втор-бутил)-1-(9H-флуорен-9-ил)-8-изопропил-7-метил-3,6-диоксо-2,11-диокса-4,7-диазатетрадекан-10-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (32). Промежуточное соединение 29 TuvOPr-Tур (7 мг, 13 мкмоль) присоединяли к Fmoc-L-Ile, как описано выше, с получением 9 мг (82%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=2,25$ мин, m/z (ES+) вычислено 865,46 (M+H)⁺, найдено 865,65.

Общий метод удаления защитных групп Fmoc изолейцин-О-алкилированный тубувалин-тубуфенилаланин трипептидов. Fmoc-Ile-Tuv(O-эфир)-Тур аллиловый эфир (30-32) обрабатывали 20% пиперидин в диметилформамиде (20 мМ), при перемешивании в атмосфере азота при комнатной температуре. Как только достигалось полное удаление защитных групп, что отслеживалось с помощью СВЭЖХ/МС, реакцию смесь концентрировали упариванием на роторе. Сырой продукт затем очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением трипептидов со свободными аминами 33-35.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-амино-N,3-диметил-пентанамидо)-1-метокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (33): Fmoc-Ile-TuvOMe-Tур промежуточное соединение 30 (67 мг, 80 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 30 мг (61%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 1): $t_r=1,30$ мин, m/z (ES+) вычислено 637,34 (M+Na)⁺, найдено 637,57.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-амино-N,3-диметил-пентанамидо)-1-этокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (34): Fmoc-Ile-TuvOEt-Tур промежуточное соединение 31 (67 мг, 80 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 30 мг (61%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=1,18$ мин, m/z (ES+) вычислено 629,38 (M+H)⁺, найдено 629,45.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-амино-N,3-диметил-пентанамидо)-4-метил-1-пропокси-пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (35). Fmoc-Ile-TuvOPr-Tур промежуточное соединение 32 (9 мг, 10 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 7 мг (колич.) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=1,29$ мин, m/z (ES+) вычислено 643,39 (M+H)⁺, найдено 643,55.

Общий метод амидной конденсации трипептидов изолейцин-тубувалин(эфир)тубуфенилаланин с (R)-N-метил-пипеколиновой кислоте. Коммерчески доступную (R)-N-метил-пипеколиновую кислоту (D-Мер) 36 (1,5-2 эквивалента) растворяли в безводном диметилформамиде (25-50 мМ) и предварительно активировали с помощью HATU (2 эквивалента) и DIPEA (4 эквивалентов); смесь перемешивали в течение

ние 10 мин при комнатной температуре в атмосфере азота. Активированную кислоту затем добавляли к трипептидам Пе-Tuv(O-эфир)-Tup 33-35; реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере азота и протекание реакции отслеживали с помощью данных СВЭЖХ/МС. После завершения реакции затем добавляли ледяную уксусную кислоту (14 эквивалентов) и продукт очищали путем препаративной ВЭЖХ.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-1-метокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (37). Промежуточное соединение 33 Пе-TuvOMe-Tup (20 мг, 33 мкмоль) присоединяли к D-Мер 36, как описано выше, с получением 17 мг (71%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,29$ мин, m/z (ES+) вычислено 762,42 (M+Na)⁺, найдено 762,32.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-1-этокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (38). Промежуточное соединение 34 Пе-TuvOEt-Tup (20 мг, 33 мкмоль) присоединяли к D-Мер 36, как описано выше, с получением 17 мг (71%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС(система 2): $t_r=1,25$ мин, m/z (ES+) вычислено 754,46 (M+H)⁺, найдено 754,55.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метил-1-пропоксипентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (39). Промежуточное соединение 35 Пе-TuvOPr-Tup (7 мг, 11 мкмоль) присоединяли к D-Мер 36, как описано выше, с получением 4,5 мг (53%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,36$ мин, m/z (ES+) вычислено 768,48 (M+H)⁺, найдено 768,55.

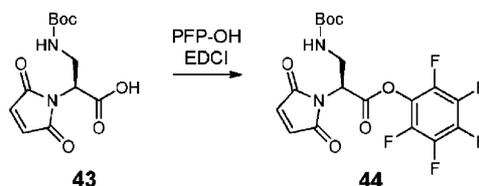
Общий метод удаления аллилового эфира из промежуточных соединений D-метилпиперидиновая кислота-изолейцин-тубувалин(эфир)-тубуфенилаланин тубулизин. Промежуточные соединения (37-39) аллиловый эфир-защищенный эфир тубулизина растворяли в безводном дихлорметане (20 мМ) обрабатывали тетракис(трифенилфосфин) палладием (0,1 эквив.), трифенилфосфином (0,2 эквивалента) и безводным пиетролидином (8 эквивалентов), и реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в атмосфере азота. После того, как данные СВЭЖХ/МС показывали превращение в продукт свободной кислоты, реакционную смесь гасили ледяной уксусной кислотой (22 эквивалента), добавляли ацетонитрилом и диметилформамидом, и затем концентрировали упариванием на роторе. Сырой эфир тубулизина затем очищали путем препаративной ВЭЖХ.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-Диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-1-метокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (40). Промежуточное соединение 37 аллиловый эфир-защищенный тубулизин метиловый эфир (TubOMe) (2,9 мг, 4 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 2,5 мг (93%) метилового эфира тубулизина 40 (TubOMe). СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,05$ мин, m/z (ES+) вычислено 700,41 (M+H)⁺, найдено 700,50.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-Диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-1-этокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (41). Промежуточное соединение 38 аллиловый эфир-защищенный тубулизин этиловый эфир (TubOEt) (2,9 мг, 4 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 2,5 мг (93%) этилового эфира тубулизина 41 (TubOEt). СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,09$ мин, m/z (ES+) вычислено 714,43 (M+H)⁺, найдено 714,51.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-Диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метил-1-пропоксипентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (42). Промежуточное соединение 39 аллиловый эфир-защищенный тубулизин пропиловый эфир (TubOPr) (6 мг, 8 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 6 мг (колич.) пропилового эфира тубулизина 42 (TubOPr). СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,19$ мин, m/z (ES+) вычислено 728,44 (M+H)⁺, найдено 728,54.

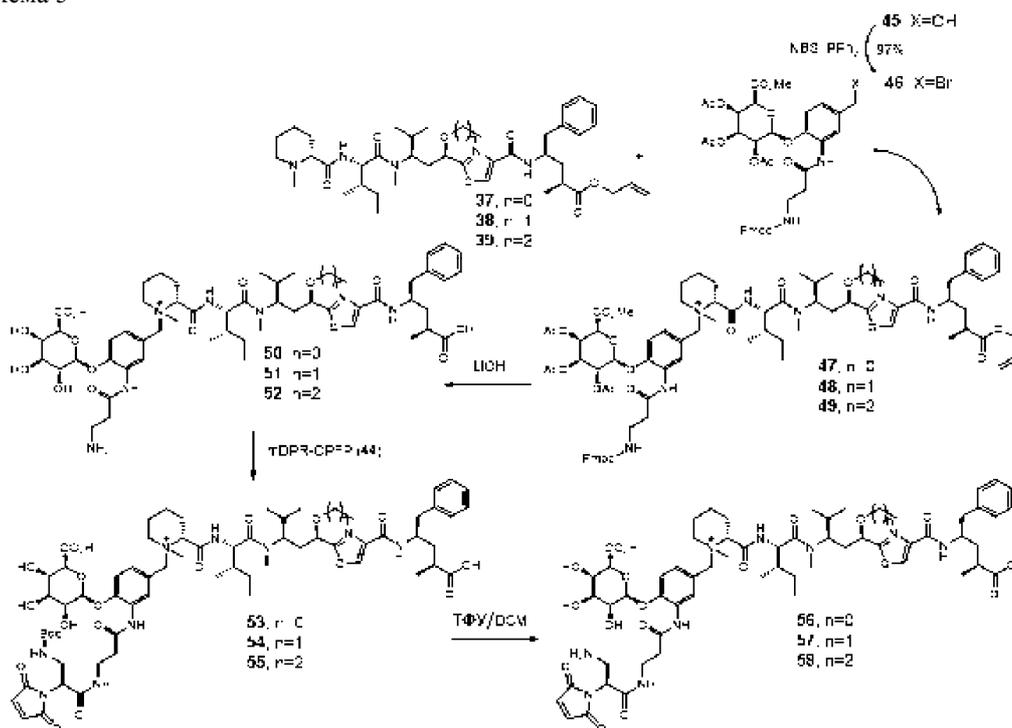
Схема 4



(S)-Перфторфенил 3-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропаноат (44). В колбу помещали mDPR(Boc)-OH (Nature Biotech, 2014, 32, 1059-1062) 43 (500 мг, 1,76 ммоль), к нему добавляли раствор PFP-OH (324 мг, 1,76 ммоль) в ДМФ (8,8 мл), затем 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид (371 мг, 1,93 ммоль) в виде твердого вещества. Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре, затем гасили 50 мл насыщенного NH₄Cl в H₂O и 50 мл H₂O. Водный слой экстрагировали два раза DCM, органические вещества затем промывали насыщенным соевым раствором, сушили над NaSO₄ и конденсировали при пониженном давлении с получением 44 (589 мг, 74%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,51$ мин, m/z (ES+) вычислено

473,07 (M+Na)⁺, найдено 473,14.

Схема 5



(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-(((9H-Флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)пропанамидо)-4-(бромметил)фенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетат (46). В высушенную на плameni колбу помещали известный фрагмент (Bioconjugate Chem. 2006, 17, 831-840) глюкуроновый линкер (45, 210 мг, 281 мкмоль) в 4,5 мл безводном ТГФ. Раствор перемешивали при комнатной температуре в атмосфере N₂. Последовательно добавляли трифенилфосфин (111 мг, 421,5 мкмоль) и N-бромсукцинимид (75 мг, 421,5 мкмоль) и раствор перемешивали в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и очищали на силикагеле на колонке Biotage (гексан/EtOAc, 30%-50%-70%) с получением 46 (222 мг, 97%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): t_r=2,36 мин, m/z (ES⁺) найдено 811,34.

Общий метод кватернизации Tub(OR)-ОАллила до Fmoc-Gluc-Br: В сосуд под давлением помещали Tub(OR)-ОАллил (37-39, 1 эквивалент) и бромированный глюкуроновый линкерный фрагмент (46, 1,5 эквивалентов) в безводном 2-бутаноне (50 мМ). Реакционноспособный сосуд продували N₂ и герметически закрывали. Реакционную смесь затем перемешивали и нагревали при температуре 60°C в течение 18 ч. Полученную смесь охлаждали, конденсировали до остатка при пониженном давлении, затем использовали сырой или помещали в минимальное количество ДМСО для очистки путем препаративной ВЭЖХ.

(2R)-1-(3-(3-(((9H-Флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)пропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-3,4,5-триацетокси-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-5-(аллилокси)-4-метил-5-оксо-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-1-метокси-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (47). Tub(OMe)-ОАллил 37 (13 мг, 18 мкмоль) кватернизировали, как описано выше, с Gluc-Br 46 (17 мг, 28 мкмоль) и использовали далее без дополнительной очистки. Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): t_r=1,61 мин, m/z (ES⁺) вычислено 1470,68 (M)⁺, найдено 1471,68.

(2R)-1-(3-(3-(((9H-Флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)пропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-3,4,5-триацетокси-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-5-(аллилокси)-4-метил-5-оксо-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-1-этокси-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (48). Tub(OEt)-ОАллил 38 (14,8 мг, 196 мкмоль) кватернизировали, как описано выше, с Gluc-Br 46 (175 мг, 216 мкмоль) и использовали далее без дополнительной очистки. Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,49 мин, m/z (ES⁺) вычислено 1484,69 (M)⁺, найдено 1484,84.

(2R)-1-(3-(3-(((9H-Флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)пропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-3,4,5-триацетокси-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-5-(аллилокси)-4-метил-5-оксо-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метил-1-пропокси-пентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (49). Tub(OPr)-ОАллил 39 (43 мг, 56 мкмоль) кватернизировали, как описано выше, с Gluc-Br 46 (50 мг, 62 мкмоль) с получением 49 (68%) после препаративной ЖХ. Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2):

$t_r=1,47$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 1498,71 (M)⁺, найдено 1498,85.

Общий метод полного удаления защитных групп Fmoc-GlucQ-Tub(OR)-ОАллила. В колбу помещали Fmoc-GlucQ-Tub(OR)-ОАллил (47-49) в ТГФ и MeOH и охлаждали до температуры 0°C. Добавляли по каплям LiOH·H₂O (6,0 эквивалентов) в H₂O (1:1:1 ТГФ:MeOH:H₂O, 50 mM конечная концентрация) и реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. ТГФ и MeOH удаляли при пониженном давлении, образовавшийся осадок вновь растворяли с использованием минимального количества ДМСО и смесь очищали путем препаративной ВЭЖХ.

(2R)-1-(3-(3-Аминопропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-1-метокси-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (50). Fmoc-GlucQ-Tub(OMe)-ОАллил 47 (17 мг, 12 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 50 (4,3 мг, 34%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,08$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 1068,53 (M)⁺, найдено 1068,66.

(2R)-1-(3-(3-Аминопропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-1-этокси-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (51). Fmoc-GlucQ-Tub(OEt)-ОАллил 48 (292 мг, 197 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 51 (116 мг, 54%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=0,95$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 1082,55 (M)⁺, найдено 1082,68.

(2R)-1-(3-(3-Аминопропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метил-1-пропокси-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (52). Fmoc-GlucQ-Tub(OPr)-ОАллил 49 (57 мг, 38 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 52 (34 мг, 41%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=0,98$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 1096,56 (M)⁺, найдено 1096,67.

Общий метод конденсации H-GlucQ-Tub(OR) с mDPR-OPFP. В колбу помещали H-GlucQ-Tub(OR)(50-52), к которому добавляли mDPR(Вос)-OPFP (44, 1,2 эквивалента) в виде раствора в ДМФ (10 mM). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (4,0 эквивалентов), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь гасили AcOH (4,0 эквивалентов), затем разбавляли ДМСО (1 объем) и очищали путем препаративной ВЭЖХ.

(2R)-1-(3-(3-((S)-3-(трет-бутоксикарбонил)амино)-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)пропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-1-метокси-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (53). H-GlucQ-Tub(OMe) 50 (4,3 мг, 4 мкмоль) присоединяли к mDPR-OPFP 44 (2,2 мг, 4,8 мкмоль), как описано выше, с получением 53 (4 мг, 75%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,22$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 1334,62 (M)⁺, найдено 1334,68.

(2R)-1-(3-(3-((S)-3-(трет-Бутоксикарбонил)амино)-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)пропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-1-этокси-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (54). H-GlucQ-Tub(OEt) 51 (29 мг, 27 мкмоль) присоединяли к mDPR-OPFP 44 (14 мг, 32 мкмоль), как описано выше, с получением 54 (26 мг, 72%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,19$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 1348,64 (M)⁺, найдено 1348,79.

(2R)-1-(3-(3-((S)-3-(трет-Бутоксикарбонил)амино)-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)пропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метил-1-пропокси-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (55). H-GlucQ-Tub(OPr) 52 (6 мг, 5 мкмоль) присоединяли к mDPR-OPFP 44 (3 мг, 6 мкмоль), как описано выше, с получением 55 (6 мг, 84%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,24$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 1362,65 (M)⁺, найдено 1362,78.

Общий метод удаления защитных групп mDPR(Вос)-GlucQ-Tub(OR). В колбу помещали mDPR(Вос)-GlucQ-Tub(OR) (53-55) и охлаждали до температуры 0°C. Добавляли 10% раствор ТФУ в DCM (50 mM), и реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры при перемешивании в течение 1 ч. Реакционную смесь затем разбавляли ДМСО (1 объем), DCM удаляли при пониженном давлении, затем очищали путем препаративной ВЭЖХ.

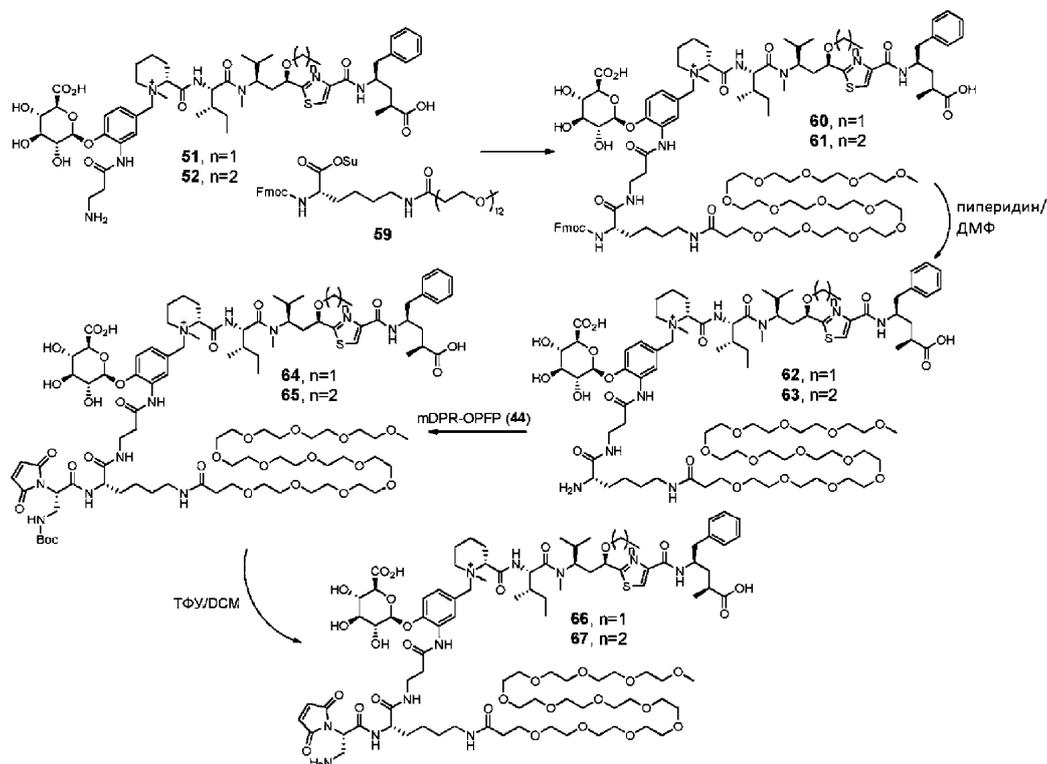
(2R)-1-(3-(3-((S)-3-Амино-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)пропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-1-метокси-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (56). mDPR(Вос)-GlucQ-Tub(OMe) 53 (4 мг, 3 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 56 (2 мг, 54%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,09$ мин, m/z (ES⁺) вы-

числено 1234,57 (M)⁺, найдено 1234,65.

(2R)-1-(3-(3-((S)-3-Амино-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)пропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокси-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-1-этокси-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (57). mDPR(Вос)-GlucQ-Tub(OEt) 54 (26 мг, 19 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 57 (24 мг, 99%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=0,95 мин, m/z (ES⁺) вычислено 1248,59 (M)⁺, найдено 1248,72.

(2R)-1-(3-(3-((S)-3-Амино-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)пропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокси-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метил-1-пропокси-пентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (58). mDPR(Вос)-GlucQ-Tub(OPr) 55 (6 мг, 4 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 58 (4 мг, 75%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,03 мин, m/z (ES⁺) вычислено 1262,60 (M)⁺, найдено 1262,73.

Схема 6



Общий метод конденсации H-GlucQ-Tub(OR) с Fmoc-Lys(PEG12)-OSu: В колбу помещали H-GlucQ-Tub(OR) (51 или 52), к которому добавляли Fmoc-Lys(PEG12)-OSu (WO 2015057699) (1,2 эквивалента) раствор в ДМФ (20 мМ), затем N,N-диизопропилэтиламин (4,0 эквивалентов). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч, затем гасили AcOH (4,0 эквивалентов), разбавляли ДМСО (1 объем) и очищали путем препаративной ВЭЖХ.

(2R)-1-(3-((S)-44-(((9Н-Флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-дизанонатетраконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокси-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-1-этокси-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (60). H-GlucQ-Tub(OEt) 51 (87 мг, 80 мкмоль) присоединяли к Fmoc-Lys(PEG12)-OSu 59 (100 мг, 96 мкмоль), как описано выше, с получением 60 (108 мг, 67%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,29 мин, m/z (ES⁺) вычислено 2003,04 (M)⁺, найдено 2003,24.

(2R)-1-(3-((S)-44-(((9Н-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-дизанонатетраконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокси-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метил-1-пропокси-пентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (61). H-GlucQ-Tub(OPr) 52 (20 мг, 18 мкмоль) присоединяли к Fmoc-Lys(PEG12)-OSu 59 (23 мг, 22 мкмоль), как описано выше, с получением 61 (27 мг, 73%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,31 мин, m/z (ES⁺) вычислено 2017,05 (M)⁺, найдено 2017,22.

Общий метод удаления защитных групп Fmoc-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(OR): В колбу помещали Fmoc-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(OR) (60 или 61), к которому добавляли 20% раствор пиперидина в ДМФ (20 мМ). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин, затем разбавляли ДМСО (1 объем) и очищали путем препаративной ВЭЖХ.

(2R)-1-(3-((S)-44-Амино-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-диазанонатетраконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбоксо-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбоксо-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-1-этоксо-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (62). Fmoc-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(OEt) 60 (108 мг, 54 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 62 (83 мг, 86%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=0,99$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 1780,97 (M)⁺, найдено 1781,14.

(2R)-1-(3-((S)-44-Амино-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-диазанонатетраконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбоксо-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбоксо-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метил-1-пропоксипентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (63). Fmoc-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(OPr) 61 (27 мг, 13 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 63 (17 мг, 71%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,03$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 1794,98 (M)⁺, найдено 1795,14.

Общий метод конденсации H-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(OR) с mDPR-OPFP: В колбу помещали H-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(OR) (62 или 63), к которому добавляли mDPR-OPFP (44, 1,2 эквивалента) в виде раствора в ДМФ (10 мМ), затем N,N-диизопропилэтиламин (4,0 эквивалентов). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов, затем гасили AcOH (4,0 эквивалентов), разбавляли ДМСО (1 объем) и очищали путем препаративной ВЭЖХ.

(2R)-1-(3-((S)-44-((S)-3-((трет-Бутоксикарбонил)амино)-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-диазанонатетраконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбоксо-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбоксо-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-1-этоксо-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (64). H-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(OEt) (83 мг, 46 мкмоль) присоединяли к mDPR-OPFP 44 (25 мг, 56 мкмоль), как описано выше, с получением 64 (43 мг, 45%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,22$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 2047,06 (M)⁺, найдено 2047,25.

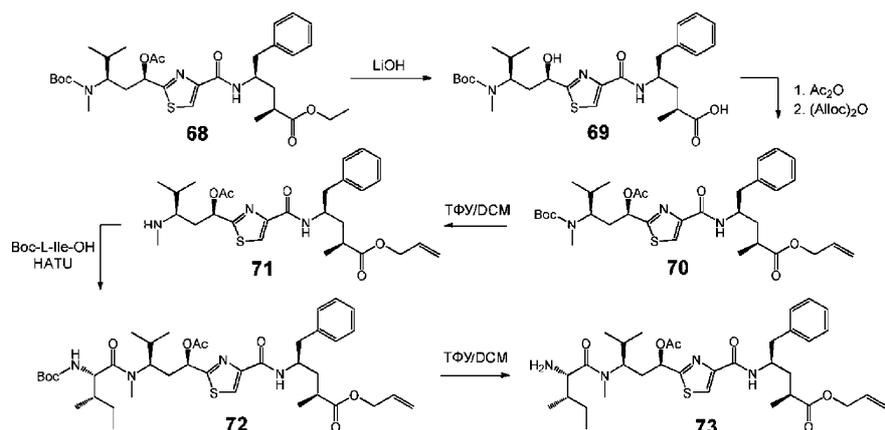
(2R)-1-(3-((S)-44-((S)-3-((трет-Бутоксикарбонил)амино)-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-диазанонатетраконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбоксо-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбоксо-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метил-1-пропоксипентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (65). H-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(OPr) (17 мг, 9 мкмоль) присоединяли к mDPR-OPFP 44 (5 мг, 11 мкмоль), как описано выше, с получением 65 (14 мг, 74%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,22$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 2061,07 (M)⁺, найдено 2061,26.

Общий метод удаления защитных групп mDPR(Boc)-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(OR): В колбу помещали mDPR(Boc)-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(OR) (64 или 65) и охлаждали до температуры 0°C. Добавляли 10% раствор ТФУ в DCM (50 мМ) и реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры при перемешивании в течение 1 ч. Реакционную смесь затем разбавляли ДМСО (1 объем), DCM удаляли при пониженном давлении, затем очищали путем препаративной ВЭЖХ.

(2R)-1-(3-((S)-44-((S)-3-Амино-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-диазанонатетраконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбоксо-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбоксо-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-1-этоксо-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (66). mDPR(Boc)-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(OEt) 64 (43 мг, 21 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 66 (34 мг, 83%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=0,96$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 1947,01 (M)⁺, найдено 1947,22.

(2R)-1-(3-((S)-44-((S)-3-Амино-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-диазанонатетраконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбоксо-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбоксо-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метил-1-пропоксипентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (67). mDPR(Boc)-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(OPr) 65 (14 мг, 7 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 67 (12 мг, 92%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,05$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 1961,02 (M)⁺, найдено 1961,20.

Схема 7



(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((трет-Бутоксикарбонил)(метил)амино)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (69). В колбу помещали коммерчески доступный Boc-Tuv(OAc)-Tuv-OEt (68, 50 мг, 81 мкмоль) в ТГФ (1,35 мл) и MeOH (1,35 мл) и охлаждали до температуры 0°C. LiOH·H₂O (27 мг, 647 мкмоль) растворяли в H₂O (1,35 мл), затем добавляли по каплям. Реакционную смесь давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч. Реакционную смесь затем гасили уксусной кислотой (37 мкл, 647 мкмоль) и конденсировали при пониженном давлении. Остаток помещали в минимальное количество ДМСО и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 69 (44 мг, колич.). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,53 мин, m/z (ES⁺) вычислено 548,28 (M+H)⁺, найдено 548,24.

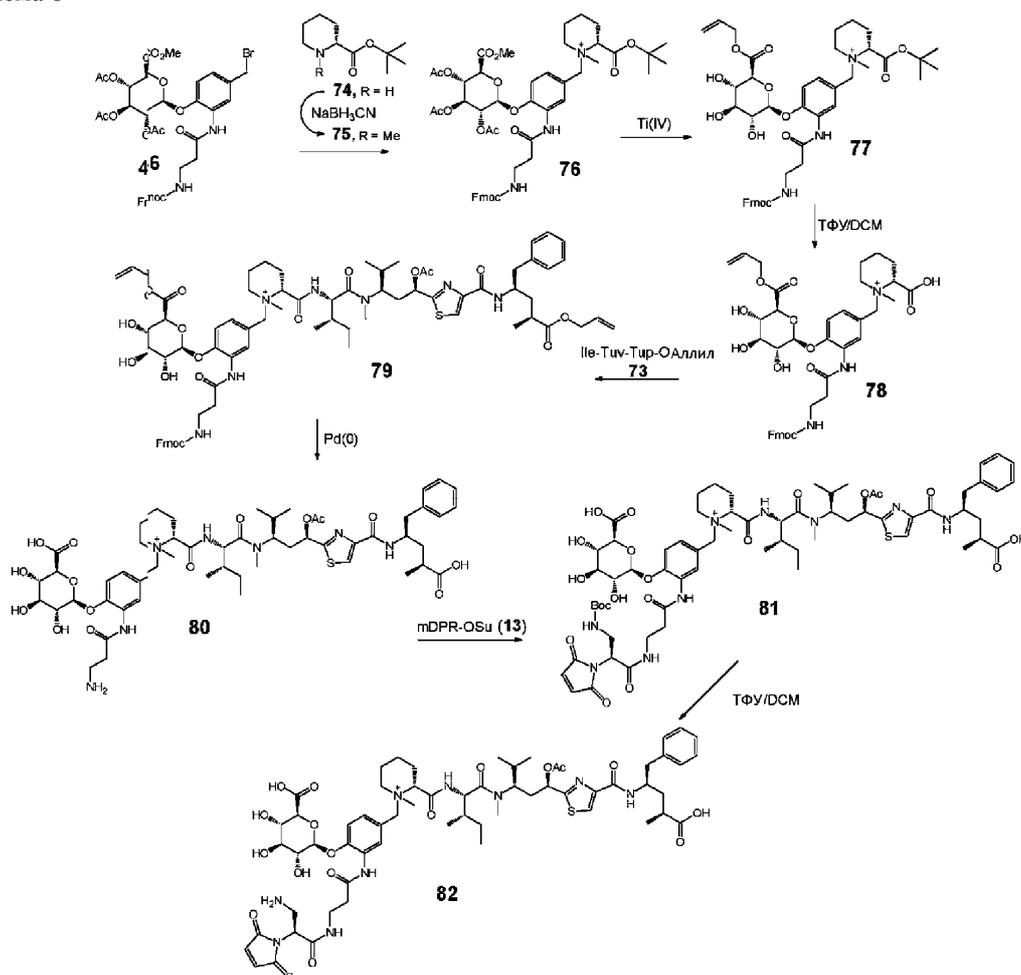
(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (70). Boc-Tuv(OH)-Tuv-OH (69, 44 мг, 81 мкмоль) растворяли в безводном пиридине (1,6 мл) и перемешивали при комнатной температуре в атмосфере N₂. Добавляли по каплям уксусный ангидрид (15,4 мкл, 162 мкмоль). После перемешивания в течение 1 ч добавляли 1,0 дополнительный эквивалент уксусного ангидрида, и согласно данным LCMS реакция завершалась через 2 ч. Реакционную смесь концентрировали досуха при пониженном давлении, затем повторно растворяли в безводном аллиловом спирте (1,6 мл). Добавляли диаллил пирокарбонат (54 мкл, 325 мкмоль), затем твердый DMAP (3,0 мг, 24 мкмоль). Реакционную смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре и отслеживали с помощью LCMS, по мере необходимости, чтобы подтолкнуть реакцию к завершению, добавляли дополнительное количество диаллил пирокарбоната (4,0 дополнительных эквивалента). Реакционную смесь затем помещали в ДМСО, конденсировали при пониженном давлении и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 70 (33 мг, 65%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,75 мин, m/z (ES⁺) вычислено 630,32 (M+H)⁺, найдено 630,42.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-4-метил-3-(метиламино)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (71). Колбу, содержащую Boc-Tuv(OAc)-Tuv-OEt (70, 33 мг, 21 мкмоль), охлаждали до температуры 0°C в атмосфере N₂. Добавляли по каплям раствор 10% ТФУ в CH₂Cl₂ (0,52 мл) и перемешивали в течение 4 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, повторно растворяли в DCM, и конденсировали 3 раза для удаления ТФУ, затем используют далее без дополнительной очистки. Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,03 мин, m/z (ES⁺) вычислено 530,27 (M+H)⁺, найдено 530,36.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((6S,9R,11R)-6-((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,2,8-триметил-4,7,13-триоксо-3,12-диокса-5,8-дiazатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (72). В колбу помещали H-Tuv(OAc)-Tuv-OАллил (71, 28 мг, 53 мкмоль), добавляли Boc-L-Ile-OH (15 мг, 63 мкмоль) и HATU (40 мг, 106 мкмоль) в виде твердых веществ, затем ДМФ (1,0 мл). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (37 мкл, 211 мкмоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч. Реакционную смесь затем помещали в ДМСО, конденсировали при пониженном давлении и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 72 (19 мг, 49%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,72 мин, m/z (ES⁺) вычислено 743,41 (M+H)⁺, найдено 743,51.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-2-амино-N,3-диметилпентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (73). Колбу, содержащую Boc-Ile-Tuv(OAc)-Tuv-OEt (72, 19 мг, 26 мкмоль), охлаждали до температуры 0°C в атмосфере N₂. Добавляли по каплям раствор 10% ТФУ в CH₂Cl₂ (0,52 мл) и перемешивали в течение 4 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, повторно растворяли в DCM и конденсировали 3 раза для удаления ТФУ, затем используют далее без дополнительной очистки. Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,18 мин, m/z (ES⁺) вычислено 643,36 (M+H)⁺, найдено 643,42.

Схема 8



(R)-трет-Бутил 1-метилпиперидин-2-карбоксилат (75). Коммерчески доступный H-Pip-OtBu (74, 500 мг, 2,70 ммоль) помещали в MeOH(4,50 мл), AcOH (4,50 мл) и 37% CH₂O в H₂O (4,50 мл) и перемешивали в течение 20 мин. NaBH₃CN (509 мг, 8,10 ммоль) добавляли медленно в виде твердого вещества при энергичном выделении пузырьков, перемешивали в течение 30 мин. Реакционную смесь затем выливали в 200 мл насыщенного NaHCO₃ раствор и экстрагировали 3× по 200 мл DCM. Органические слои промывали насыщенным соевым раствором, сушили над NaSO₄ и конденсировали при пониженном давлении с получением 75 (516 мг, 96%) и использовали далее без дополнительной очистки. Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=0,53 мин, m/z (ES⁺) вычислено 200,17 (M+H)⁺, найдено 200,21.

(2R)-1-(3-(3-(((9H-Флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)пропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-3,4,5-триацетокси-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(трет-бутоксикарбонил)-1-метилпиперидин-1-ий (76). В сосуд под давлением помещали бромированный глюкуроидный линкерный фрагмент (46, 104 мг, 128 мкмоль) и Мер-ОтБу (75, 34 мг, 171 мкмоль) в безводном 2-бутаноне (1,71 мл). Реакционноспособный сосуд продували N₂ и герметически закрывали. Реакционную смесь затем перемешивали и нагревали при температуре 60°C в течение 12 ч. Полученную смесь охлаждали, конденсировали при пониженном давлении, помещали в минимальное количество ДМСО и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 76 (97 мг, 82%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,32 мин, m/z (ES⁺) вычислено 930,40 (M)⁺, найдено 930,49.

(2R)-1-(3-(3-(((9H-Флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)пропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-((аллилокси)карбонил)-3,4,5-тригидрокси-тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(трет-бутоксикарбонил)-1-метилпиперидин-1-ий (77). В высушенную на пламени колбу помещали Fmoc-GlucQ-Мер-ОтБу (76, 97 мг, 104 мкмоль) в безводном аллиловом спирте (2,09 мл) в атмосфере N₂. Добавляли Ti(OC₂H₅)₄ (87 мкл, 417 мкмоль) и реакционную смесь нагревали при температуре 80°C при перемешивании в течение 2 ч. Реакционную смесь затем охлаждали до комнатной температуры и выливали в 50 мл 1M HCl. После стояния в течение 45 мин HCl экстрагировали 3× по 50 мл DCM. Полученные органические вещества промывали насыщенным соевым раствором, сушили над NaSO₄, конденсировали и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 77 (42 мг, 48%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,18 мин, m/z (ES⁺) вычислено 830,39 (M)⁺, найдено 830,49.

(2R)-1-(3-(3-(((9H-Флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)пропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-

((аллилокси)карбонил)-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-карбокси-1-метилпиперидин-1-ий (78). Колбу, содержащую Fmoc-Gluc(Аллил)Q-Мер-ОtBu (77, 42 мг, 50 мкмоль), охлаждали до температуры 0°C в атмосфере N₂. Добавляли по каплям раствор 30% ТФУ в CH₂Cl₂ (2,5 мл) и перемешивали в течение 18 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, помещали в минимальное количество ДМСО и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 78 (25 мг, 64%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,05 мин, m/z (ES⁺) вычислено 774,32 (M)⁺, найдено 774,42.

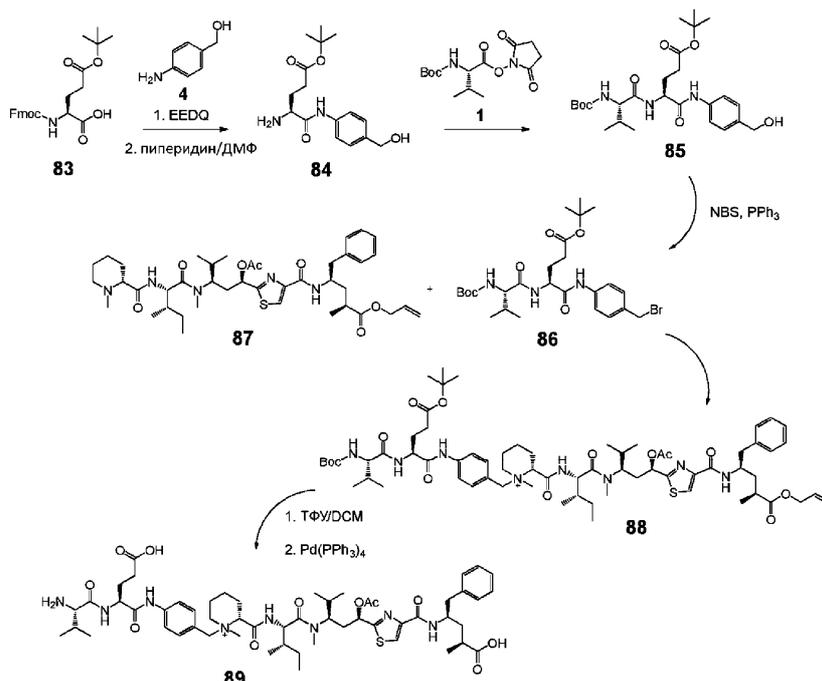
(2R)-1-(3-(3-(((9Н-Флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)пропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-((аллилокси)карбонил)-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-5-(аллилокси)-4-метил-5-оксо-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (79). В колбу помещали H-Пе-Tuv(OAc)-Тур-ОАллил (73, 23 мг, 36 мкмоль), добавляли Fmoc-Gluc(Аллил)Q-Мер-ОН (78, 28 мг, 36 мкмоль) и НАТУ (27 мг, 72 мкмоль) в виде твердых веществ, затем ДМФ (0,714 мл). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (25 мкл, 143 мкмоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь затем помещали в ДМСО и очищали путем препаративной LC с получением 79 (23 мг, 46%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,39 мин, m/z (ES⁺) вычислено 1398,66 (M)⁺, найдено 1398,81.

(2R)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-Ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-(3-(3-аминопропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокси-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (80). Fmoc-Gluc(Аллил)Q-TubM-ОАллил (79, 21 мг, 15 мкмоль) помещали в DCM (1,5 мл), перемешивая в атмосфере N₂. Добавляли Pd(PPh₃)₄ (3,5 мг, 3,1 мкмоль) и PPh₃ (1,6 мг, 6,1 мкмоль) в виде твердых веществ, затем пирролидин (20,1 мкл, 245 мкмоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре, затем помещали в 1 мл ДМСО, конденсировали при пониженном давлении и очищали путем препаративной LC с получением 80 (13 мг, 79%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=0,94 мин, m/z (ES⁺) вычислено 1096,53 (M)⁺, найдено 1096,65.

(2R)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-Ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-(3-(3-((S)-3-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)пропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокси-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (81). В колбу помещали H-GlucQ-TubM (80, 13,1 мг, 11,9 мкмоль) в безводном ДМФ (0,595 мл), к которому в атмосфере N₂ добавляли mDPR(Вос)-OSu (13, 4,6 мг, 11,9 мкмоль). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (8,3 мкл, 47,8 мкмоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь затем гасили уксусной кислотой (8,3 мкл) и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 81 (5,2 мг, 33%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,20 мин, m/z (ES⁺) вычислено 1362,62 (M)⁺, найдено 1362,75.

(2R)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-Ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-(3-(3-((S)-3-амино-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)пропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокси-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (82). Колбу, содержащую mDPR(Вос)-GlucQ-TubM (81, 5,2 мг, 3,8 мкмоль), охлаждали до температуры 0°C в атмосфере N₂. Добавляли по каплям раствор 10% ТФУ в CH₂Cl₂ (0,84 мл) и перемешивали в течение 4 ч. Реакционную смесь затем помещали в ДМСО, конденсировали при пониженном давлении и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 82 (4,8 мг, 81%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=0,95 мин, m/z (ES⁺) вычислено 1262,56 (M)⁺, найдено 1262,68.

Схема 9



(S)-трет-Бутил 4-амино-5-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-5-оксопентаноат (84). Колбу, содержащую Fmoc-Glu(OtBu)-OH (83, 2,0 г, 4,7 ммоль), H-PABA (4, 579 мг, 4,7 ммоль) и Cl_2CH_2 (25 мл), перемешивали при комнатной температуре. Добавляли EEDQ (1,40 г, 5,6 ммоль) в виде твердого вещества и смесь перемешивали в течение ночи. Продукт элюировали на 4 мм хроматотронной пластине EtOAc, продукт, содержащий фракции, конденсировали. Полученный остаток помещали в 20% пиперидин в DCM, перемешивали в течение 15 мин, затем конденсировали до масла. Масло растворяли в DCM и элюировали на 2 мм хроматотронной пластине, используя градиент 10%-20% MeOH в DCM с получением 84 (860 мг, 60%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=0,65$ мин, m/z (ES+) вычислено 309,18 ($M+H$)⁺, найдено 309,24.

(S)-трет-Бутил 4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-5-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-5-оксопентаноат (85). В колбу помещали H-Glu(OtBu)-PABA (84, 860 мг, 2,78 ммоль) в DMF (10 мл) добавляли Boc-Val-OSu 1 (1,13 г, 3,60 ммоль) и DIPEA (0,75 мл). Через 30 мин реакционную смесь выливали в 100 мл EtOAc и промывали H_2O 3×, насыщенным соевым раствором 1× и сушили над NaSO_4 . Раствор сушил при пониженном давлении, растворяли в 50 мл EtOAc и высаживали 10% EtOAc в гексане (50 мл). Твердые продукты собирали и сушили с получением 85 в виде твердого вещества белого цвета (0,97 г, 70%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,37$ мин, m/z (ES+) вычислено 508,30 ($M+H$)⁺, найдено 508,38.

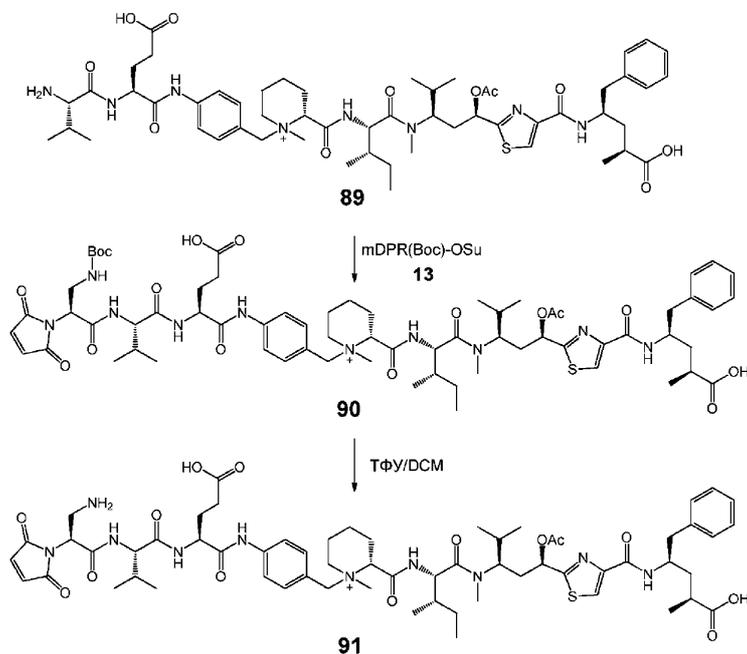
(S)-трет-Бутил 5-((4-(бромметил)фенил)амино)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-5-оксопентаноат (86). Колбу, содержащую Boc-Val-Glu(OtBu)-PABA-OH (85, 200 мг, 394 мкмоль), N-бромсукцинимид (105 мг, 591 мкмоль) и трифенилфосфин (155 мг, 591 мкмоль), продували N_2 . Реакционную смесь помещали в ТГФ (4 мл) и перемешивали в течение 12 ч. Реакционную смесь концентрировали и очищали на силикагеле на колонке Biotage (гексан/EtOAc, 10%-100%) с получением 86 (210 мг, 93%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,56$ мин, m/z (ES+) вычислено 570,22 ($M+H$)⁺, найдено 570,30.

(2R)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-Ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-5-(аллилокси)-4-метил-5-оксо-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-(4-(((S)-5-(трет-бутоксикарбонил)-2-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-5-оксопентанамидо)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (88). Колбу, содержащую Boc-Val-Glu(OtBu)-PABA-Br (86, 40 мг, 70 мкмоль) и Tub-O-Allyl (Org. Lett., 2007, 9, 1605-1607) (87, 45 мг, 59 мкмоль), продували N_2 . Добавляли бутанон (1,17 мл), и реакционную смесь нагревали при температуре 60°C при перемешивании. Спустя 18 часов реакционную смесь концентрировали досуха, помещали в минимальное количество DCM и очищали с помощью Biotage (0-20% DCM/MeOH) с получением 88 (62 мг, 85%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,47$ мин, m/z (ES+) вычислено 1257,72 (M)⁺, найдено 1257,85.

(2R)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-Ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-(4-(((S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)-4-карбоксибутанамидо)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (89). Колбу, содержащую Boc-Val-Glu(OtBu)-PABQ-Tub-O-Allyl (88, 42 мг, 50 мкмоль), охлаждали до температуры 0°C в атмосфере N_2 . Добавляли по каплям раствор 30% ТФУ в CH_2Cl_2 (0,99 мл) и перемешивали в течение

ние 18 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, помещали в DCM и вновь конденсировали 3 раза. Остаток затем помещали в DCM (0,98 мл), к которому добавляли Pd(PPh₃)₄ (5,7 мг, 4,9 мкмоль) и PPh₃ (2,6 мг, 9,8 мкмоль) в виде твердых веществ, затем пирролидин (32 мкл, 392 мкмоль). Через 1 час реакционную смесь помещали в минимальное количество ДМСО, конденсировали и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 89 (47 мг, 90%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=0,95 мин, m/z (ES⁺) вычислено 1061,57 (M)⁺, найдено 1061,69.

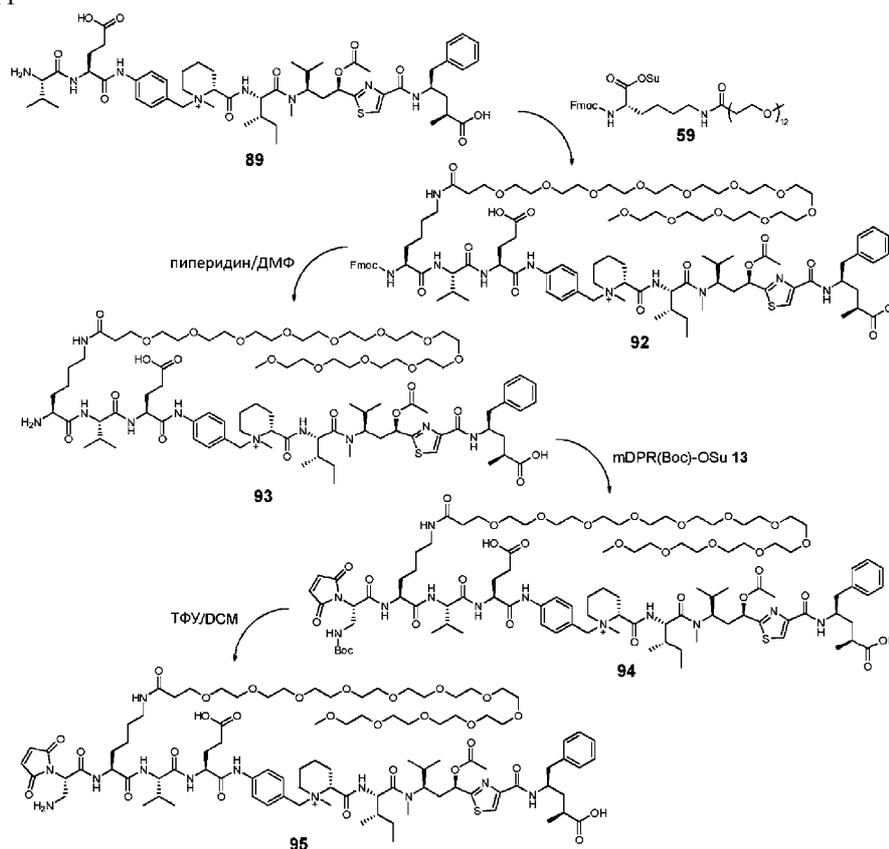
Схема 10



(2R)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-Ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-(4-(((7S,10S,13S)-13-(2-карбоксиэтил)-7-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-10-изопропил-2,2-диметил-4,8,11-триоксо-3-окса-5,9,12-триазатетрадеканамидо)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (90). В колбу помещали H-ValGluPABQ-Tub (89, 22,5 мг, 21,2 мкмоль) в безводном ДМФ (0,420 мл), к которому в виде твердого вещества в атмосфере N₂ добавляли mDPR(Boc)-OSu (13, 8,9 мг, 23,3 мкмоль). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (14,8 мкл, 84,7 мкмоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь затем гасили уксусной кислотой (14,8 мкл) и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 90 (11,5 мг, 40%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,31 мин, m/z (ES⁺) вычислено 1327,66 (M)⁺, найдено 1327,94.

(2R)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-Ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-(4-(((S)-2-((S)-2-((S)-3-амино-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-3-метилбутанамидо)-4-карбоксибутанамидо)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (91). Колбу, содержащую mDPR(Boc)-ValGluPABQ-Tub (90, 11,5 мг, 8,6 мкмоль), охлаждали до температуры 0°C в атмосфере N₂. Добавляли по каплям раствор 10% ТФУ в CH₂Cl₂ (0,86 мл) и перемешивали в течение 2 ч. Реакционную смесь затем помещали в ДМСО, конденсировали при пониженном давлении и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 91 (9,9 мг, 93%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=0,99 мин, m/z (ES⁺) вычислено 1227,61 (M)⁺, найдено 1227,83.

Схема 11



(2R)-1-(4-(((44S,47S,50S)-44-(((9H-Флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-50-(2-карбоксиил)-47-изопропил-38,45,48-триоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46,49-триазагептантаконтанамидо)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (92). Fmoc-Lys(PEG12)-OSu (59, 26 мг, 25 мкмоль) добавляли в колбу с помещенным в нее N-ValGluPABQ-Tub (89, 24 мг, 23 мкмоль) в виде раствора в безводном ДМФ (0,457 мл) в атмосфере N₂. Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (16 мкл, 91 мкмоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь затем гасили уксусной кислотой (16 мкл) и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 92 (34 мг, 75%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,35 мин, m/z (ES⁺) вычислено 1982,06 (M)⁺, найдено 1982,37.

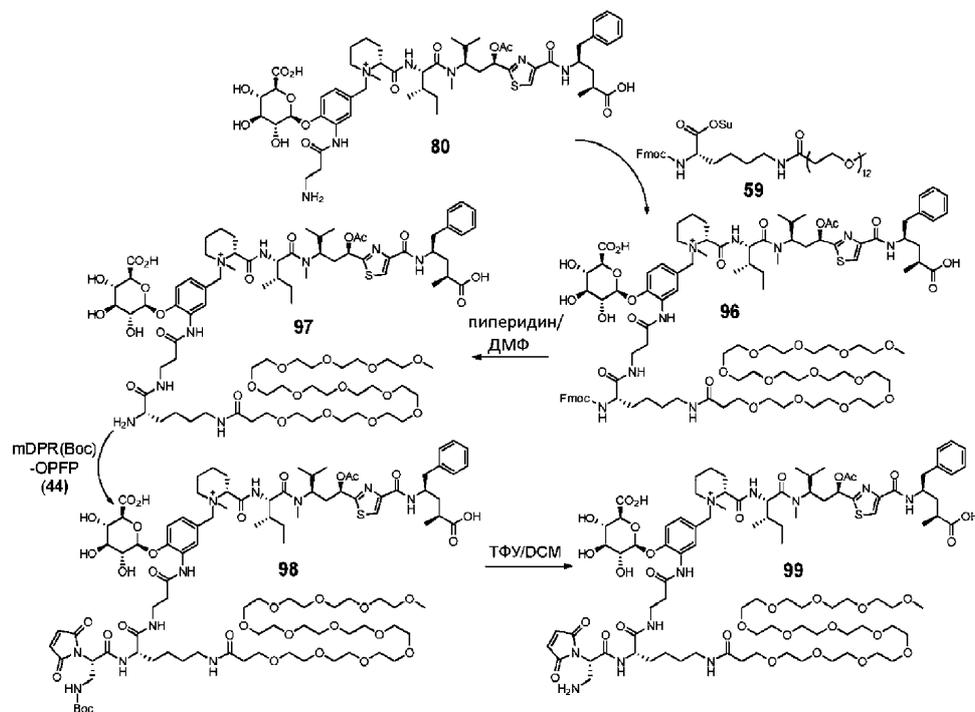
(2R)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-Ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-(4-(((44S,47S,50S)-44-амино-50-(2-карбоксиил)-47-изопропил-38,45,48-триоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46,49-триазагептантаконтанамидо)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (93). В колбу с помещенным в нее Fmoc-Lys(PEG12)-ValGluPABQ-Tub (92, 34 мг, 17 мкмоль) добавляли 20% пиперидин в ДМФ (1,7 мл). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере N₂ при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакционную смесь затем разбавляли смесью ДМСО/Н₂О и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 93 (26 мг, 86%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,01 мин, m/z (ES⁺) вычислено 1759,99 (M)⁺, найдено 1760,26.

(2R)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-Ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-(4-(((44S,47S,50S)-44-((S)-3-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-50-(2-карбоксиил)-47-изопропил-38,45,48-триоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46,49-триазагептантаконтанамидо)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (94). В колбу помещали N-Lys(PEG12)-ValGluPABQ-Tub (93, 26 мг, 15 мкмоль) в безводном ДМФ (0,735 мл), к которому в виде твердого вещества в атмосфере N₂ добавляли mDPR(Boc)-OSu (13, 6 мг, 16 мкмоль). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (10 мкл, 59 мкмоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь затем гасили уксусной кислотой (10 мкл), разбавляли ДМСО и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 94 (16 мг, 46%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,26 мин, m/z (ES⁺) вычислено 2026,08 (M)⁺, найдено 2026,38.

(2R)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-Ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-(4-(((44S,47S,50S)-44-((S)-3-амино-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-50-(2-карбоксиил)-47-изопропил-38,45,48-триоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46,49-триазагептантаконтанамидо)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (95).

этил)-47-Изопропил-38,45,48-триоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46,49-триазагептатоконтанамидо)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (95). Колбу, содержащую mDPR(Boc)-Lys(PEG12)-ValGluPAVQ-Tub (94, 14 мг, 7 мкмоль), охлаждали до температуры 0°C в атмосфере N₂. Добавляли по каплям раствор 10% ТФУ в CH₂Cl₂ (1,03 мл) и перемешивали в течение 2 ч. Реакционную смесь затем помещали в ДМСО, конденсировали при пониженном давлении, и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 95 (9 мг, 70%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,03 мин, m/z (ES⁺) вычислено 1926,03 (M)⁺, найдено 1926,32.

Схема 12



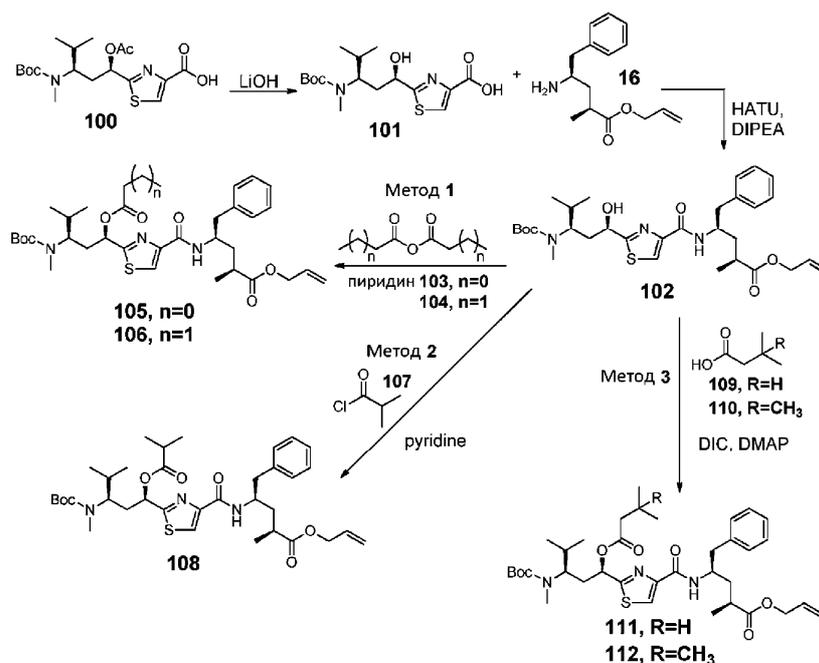
(2R)-1-(3-((S)-44-(((9H-Флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-диазанонатетраоконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокси-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (96). Fmoc-Lys(PEG12)-OSu (59, 4,4 мг, 4,3 мкмоль) добавляли в колбу, содержащую H-GluCQ-Tub (80, 3,9 мг, 3,6 мкмоль) в виде раствора в безводном ДМФ (0,355 мл) в атмосфере N₂. Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (1,9 мкл, 10,7 мкмоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь затем гасили уксусной кислотой (1,9 мкл) и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 96 (5,0 мг, 70%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,29 мин, m/z (ES⁺) вычислено 2017,02 (M)⁺, найдено 2017,21.

(2R)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-Ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-(3-(((S)-44-амино-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-диазанонатетраоконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокси-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (97). В колбу, содержащую Fmoc-Lys(PEG12)-GluCQ-Tub (96, 5,0 мг, 2,5 мкмоль), добавляли 20% пиперидин в ДМФ (0,248 мл). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере N₂ при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакционную смесь затем разбавляли смесью ДМСО/H₂O и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 97 (3,6 мг, 82%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=0,99 мин, m/z (ES⁺) вычислено 1794,95 (M)⁺, найдено 1795,12.

(2R)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-Ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-(3-(((S)-44-((S)-3-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-диазанонатетраоконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокси-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (98). В колбу помещали H-Lys(PEG12)-GluCQ-Tub (97, 3,8 мг, 2,14 мкмоль) в безводном ДМФ (0,212 мл), к которому в виде твердого вещества в атмосфере N₂ добавляли mDPR(Boc)-OPFP (44, 1,4 мг, 3,2 мкмоль). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,74 мкл, 4,2 мкмоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь затем гасили уксусной кислотой (0,74 мкл), разбавляли ДМСО и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 98 (2,7 мг, 61%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,20 мин, m/z (ES⁺) вычислено 2061,04 (M)⁺, найдено 2061,20.

(2R)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-Ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-(3-((S)-44-((S)-3-амино-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-3,8,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-дизанонатетраоктаноамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокси-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бензил)-1-метилпиперидин-1-ий (99). Колбу, содержащую mDPR(Boc)-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub (98, 2,7 мг, 1,3 мкмоль), охлаждали до температуры 0°C в атмосфере N₂. Добавляли по каплям раствор 10% ТФУ в CH₂Cl₂ (0,26 мл) и перемешивали в течение 2 ч. Реакционную смесь затем помещали в ДМСО, конденсировали при пониженном давлении и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 99 (2,5 мг, 97%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): t_r=1,00 мин, m/z (ES⁺) вычислено 1960,99 (M)⁺, найдено 1961,17.

Схема 13



2-((1R,3R)-3-((трет-Бутоксикарбонил)(метил)амино)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоновая кислота (101). В колбу помещали тубувалин ацетат (Org. Lett., 2007, 9, 1605-1607) 100 (225 мг, 560 мкмоль), растворенный в метаноле (5 мл) и тетрагидрофуране (5 мл), затем охлаждали на ледяной бане в атмосфере азота до температуры 0°C. Растворяли в воде моногидрат гидроксида лития (71 мг, 1680 мкмоль) (5 мл) и раствор добавляли по каплям в реакционную колбу. Реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре до тех пор, пока данные СВЭЖХ/МС не показывали полное преобразование в продукт. Вещество разбавляли дихлорметаном и промывали 0,1M HCl. Водный слой два раза экстрагировали дихлорметаном, затем объединенные органические продукты сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением свободной кислоты 101 (200 мг, колич.). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): t_r=1,33 мин, m/z (ES⁺) вычислено 359,17 (M+H)⁺, найдено 359,14.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (102). Свободную кислоту тубувалина 101 (200 мг, 560 мкмоль) предварительно активировали путем растворения в безводном диметилформамиде (5,4 мл, 100 мМ) и добавления HATU (250 мг, 670 мкмоль) и DIPEA (0,59 мл, 3,36 ммоль); смесь затем перемешивали в атмосфере азота при комнатной температуре в течение 10 мин. Активированную кислоту затем добавляли к известному (Org. Lett., 2007, 9, 1605-1607) аллиловому эфиру тубуфенилаланина 16 и затем реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в атмосфере азота, протекание реакции протекание реакции отслеживали с помощью данных СВЭЖХ/МС. Затем после завершения реакции добавляли ледяную уксусную кислоту (14 эквивалентов) и продукт очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением Tuv(OH)-Tup-O-аллил дипептид 102 (272 мг, 83%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): t_r=1,84 мин, m/z (ES⁺) вычислено 588,31 (M+H)⁺, найдено 588,29.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-4-метил-1-(пропионилокси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (105). Tuv(OH)-Tup-O-аллил дипептид 102 (26 мг, 44 мкмоль) растворяли в безводном пиридине (1,8 мл, 25 мМ) и перемешивали в атмосфере азота при комнатной температуре. Добавляли по каплям пропионовый ангидрид 103 (113 мкл, 20 эквивалентов), и затем реакционную смесь отслеживали с помощью СВЭЖХ/МС. Добавляли дополнительное количество пропионового ангидрида (20 эквивалентов) чтобы добиться преобразования в продукт. Вещество разбавляли дихлорметаном и промывали 0,1M HCl. Водный слой два раза экстрагировали дихлорметаном, затем объединенные органические продукты сушили над сульфатом натрия, фильтровали и кон-

центрировали с получением сырого продукта, который после этого очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением этерифицированного продукта 105 (17 мг, 61%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,99$ мин, m/z (ES+) вычислено 644,34 (M+H)⁺, найдено 644,26.

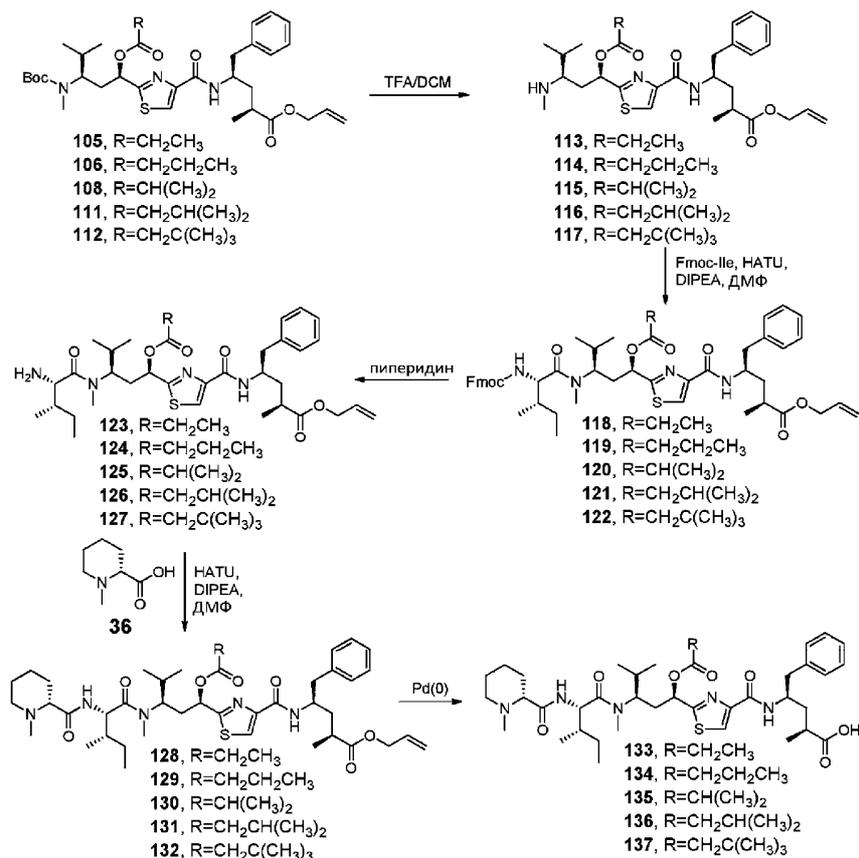
(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-1-(бутирилокси)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (106). Tuv(OH)-Tur-O-аллил дипептид 102 (27 мг, 46 мкмоль) растворяли в безводном пиридин (0,9 мл, 50 мМ) и перемешивали в атмосфере азота при комнатной температуре. Добавляли по каплям ангидрид бутановой кислоты 104 (225 мкл, 30 эквивалентов) и затем реакционную смесь отслеживали с помощью СВЭЖХ/МС. Дополнительное количество ангидрида бутановой кислоты (40 эквивалентов) добавляли тремя частями чтобы добиться преобразования в продукт. Вещество разбавляли дихлорметаном и промывали 0,1М HCl. Водный слой два раза экстрагировали дихлорметаном, затем объединенные органические продукты сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением сырого продукта, который после этого очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением этерифицированного продукта 106 (24 мг, 80%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=2,13$ мин, m/z (ES+) вычислено 658,35 (M+H)⁺, найдено 658,23.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-1-(изобутирилокси)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (108). Tuv(OH)-Tur-O-аллил дипептид 102 (26 мг, 44 мкмоль) растворяли в безводном пиридине (1,8 мл, 25 мМ) и перемешивали в атмосфере азота при комнатной температуре. Добавляли по каплям изобутирил хлорид 107 (93 мкл, 20 эквивалентов) и затем реакционную смесь отслеживали с помощью СВЭЖХ/МС. После преобразования в продукт вещество затем разбавляли дихлорметаном и промывали 0,1М HCl. Водный слой два раза экстрагировали дихлорметаном, затем объединенные органические продукты сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением сырого продукта, который после этого очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением этерифицированного продукта 108 (29 мг, колич.). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=2,13$ мин, m/z (ES+) вычислено 658,35 (M+H)⁺, найдено 658,33.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-4-метил-1-((3-метилбутаноил)окси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (111). В колбу помещали изовалериановую кислоту 109 (94 мкл, 851 мкмоль), растворенную в безводном дихлорметане (5,6 мл, 15 мМ) и раствор перемешивали при температуре 0°C в атмосфере азота. Затем добавляли DMAP (10 мг, 85 мкмоль), после этого DCC (88 мг, 425 мкмоль), и реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры в течение 2 ч. Полученную активированную кислоту затем добавляли к Tuv(OH)-Tur-O-аллил дипептиду 102 (50 мг, 85 мкмоль) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи, за это время данные СВЭЖХ/МС показывали преобразование в продукт. Реакционную смесь затем разбавляли дихлорметаном и промывали 0,1М HCl. Водный слой два раза экстрагировали дихлорметаном, затем объединенные органические продукты сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением сырого продукта, который после этого очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением этерифицированного продукта 111 (52 мг, 91%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,91$ мин, m/z (ES+) вычислено 672,37 (M+H)⁺, найдено 672,46.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-1-((3,3-диметилбутаноил)окси)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (112). В колбу помещали гемдиметилбутановую кислоту 110 (98 мкл, 766 мкмоль), растворенную в безводном дихлорметане (5,1 мл, 15 мМ), и раствор перемешивали при температуре 0°C в атмосфере азота. Затем добавляли DMAP (9 мг, 77 мкмоль), после этого DCC (79 мг, 383 мкмоль), и реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры в течение 2 ч. Полученную активированную кислоту затем добавляли к Tuv(OH)-Tur-O-аллил дипептиду 102 (45 мг, 77 мкмоль), и реакционную смесь перемешивали в течение ночи, за это время данные СВЭЖХ/МС показывали преобразование в продукт. Реакционную смесь затем разбавляли дихлорметаном и промывали 0,1М HCl. Водный слой два раза экстрагировали дихлорметаном, затем объединенные органические продукты сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением сырого продукта, который после этого очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением этерифицированного продукта 112 (49 мг, 93%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,88$ мин, m/z (ES+) вычислено 686,39 (M+H)⁺, найдено 686,47.

Схема 14



Общий метод удаления защитной группы Boc Tuv(O-сложный эфир)-Tuv промежуточных соединений. Этерифицированные тубувалин-тубуфенилаланин промежуточные соединения 105, 106, 108, 111 или 112 подвергали удалению защитных групп для открытия функциональной группы вторичного амина в кислотных условиях с 10% ТФУ в дихлорметане (25 мМ). Конкретно, исходное вещество растворяли в безводном дихлорметане (9 объемов) и перемешивали в атмосфере азота при температуре 0°C. Затем к перемешиваемому раствору добавляли по каплям трифторуксусную кислоту (1 объем). Реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и протекание реакции отслеживали с помощью данных СВЭЖХ/МС. После завершения реакции реакционную смесь концентрировали упариванием на роторе и откачивали в вакуумной линии в течение ночи. Свободные амины 135-139 использовали далее без дополнительной очистки.

(2S,4R)-Аллил 2-метил-4-(2-((1R,3R)-4-метил-3-(метиламино)-1-(пропионилокси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-фенилпентаноат (113). Промежуточное соединение 105 Вос-защищенный Tuv-Tuv (17 мг, 26 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 14 мг (колич.) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС(система 1): $t_r=1,24$ мин, m/z (ES+) вычислено 544,29 (M+H)⁺, найдено 544,25.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-1-(бутирилокси)-4-метил-3-(метиламино)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (114). Промежуточное соединение 106 Вос-защищенный Tuv-Tuv (24 мг, 37 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 21 мг (колич.) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,20$ мин, m/z (ES+) вычислено 558,30 (M+H)⁺, найдено 558,38.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-1-(изобутирилокси)-4-метил-3-(метиламино)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (115). Промежуточное соединение 108 Вос-защищенный Tuv-Tuv (29 мг, 44 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 25 мг (колич.) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,30$ мин, m/z (ES+) вычислено 558,30 (M+H)⁺, найдено 557,93.

(2S,4R)-Аллил 2-метил-4-(2-((1R,3R)-4-метил-3-(метиламино)-1-((3-метилбутаноил)окси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-фенилпентаноат (116). Промежуточное соединение 111 Вос-защищенный Tuv-Tuv (52 мг, 78 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 45 мг (колич.) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,23$ мин, m/z (ES+) вычислено 572,32 (M+H)⁺, найдено 572,40.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-1-((3,3-диметилбутаноил)окси)-4-метил-3-(метиламино)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (117). Промежуточное соединение 112 Вос-защищенный Tuv-Tuv (49 мг, 71 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 46

мг (колич.) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=1,27$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 586,33 (M+H)⁺, найдено 586,42.

Общий метод амидной конденсации О-этерифицированных тубувалин-тубуфенилаланин дипептидов с Fmoc-защищенным L-изолейцином. Коммерчески доступный Fmoc-L-изолейцин (4 эквивалентов) растворяли в безводном диметилформамиде (50 мМ) и предварительно активировали с помощью HATU (4 эквивалентов) и DIPEA (8 эквивалентов); смесь перемешивали в течение 10 мин при комнатной температуре в атмосфере азота. Активированную кислоту затем добавляли к Tuv(O-сложный эфир)-Тур дипептидам 113-117; реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере азота и протекание реакции отслеживали с помощью данных СВЭЖХ/МС. После того, как реакция останавливалась или полностью завершалась, добавляли ледяную уксусную кислоту (13 эквивалентов) и реакционную смесь очищали с помощью преп. ВЭЖХ.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((5S,8R,10R)-5-((S)-втор-бутил)-1-(9H-флуорен-9-ил)-8-изопропил-7-метил-3,6,12-триоксо-2,11-диокса-4,7-дiazатетрадекан-10-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (118). Промежуточное соединение 113 Tuv-Тур (14 мг, 25 мкмоль) присоединяли к Fmoc-L-Ile, как описано выше, с получением 17 мг (77%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 1): $t_r=2,11$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 879,44 (M+H)⁺, найдено 879,60.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((5S,8R,10R)-5-((S)-втор-бутил)-1-(9H-флуорен-9-ил)-8-изопропил-7-метил-3,6,12-триоксо-2,11-диокса-4,7-дiazапентадекан-10-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (119). Промежуточное соединение 114 Tuv-Тур (21 мг, 37 мкмоль) присоединяли к Fmoc-L-Ile, как описано выше, с получением 24 мг (73%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS(система 2): $t_r=1,94$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 893,45 (M+H)⁺, найдено 893,56.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((5S,8R,10R)-5-((S)-втор-бутил)-1-(9H-флуорен-9-ил)-8-изопропил-7,13-диметил-3,6,12-триоксо-2,11-диокса-4,7-дiazатетрадекан-10-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (120). Промежуточное соединение 115 Tuv-Тур (25 мг, 44 мкмоль) присоединяли к Fmoc-L-Ile, как описано выше, с получением 26 мг (67%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=1,85$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 893,45 (M+H)⁺, найдено 893,56.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((5S,8R,10R)-5-((S)-втор-бутил)-1-(9H-флуорен-9-ил)-8-изопропил-7,14-диметил-3,6,12-триоксо-2,11-диокса-4,7-дiazапентадекан-10-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (121). Промежуточное соединение 116 Tuv-Тур (45 мг, 79 мкмоль) присоединяли к Fmoc-L-Ile, как описано выше, с получением 54 мг (75%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=2,06$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 907,47 (M+H)⁺, найдено 907,58.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((5S,8R,10R)-5-((S)-втор-бутил)-1-(9H-флуорен-9-ил)-8-изопропил-7,14,14-триметил-3,6,12-триоксо-2,11-диокса-4,7-дiazапентадекан-10-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (122). Промежуточное соединение 117 Tuv-Тур (46 мг, 79 мкмоль) присоединяли к Fmoc-L-Ile, как описано выше, с получением 55 мг (75%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=2,50$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 921,49 (M+H)⁺, найдено 921,59.

Общий метод удаления защитных групп Fmoc изолейцин-О-этерифицированные тубувалин-тубуфенилаланин трипептиды. Fmoc-Ile-Tuv(O-сложный эфир)-Тур аллиловый эфир (118-122) обрабатывали 20% пиперидином в диметилформамиде (20 мМ) при перемешивании в атмосфере азота при комнатной температуре. Как только достигалось полное удаление защитных групп, что отслеживалось с помощью СВЭЖХ/МС, реакционную смесь концентрировали упариванием на роторе. Сырой продукт затем очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением трипептидов со свободными аминами 145-149.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-амино-N,3-диметилпентанамидо)-4-метил-1-(пропионил-окси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (123): Fmoc-Ile-Tuv-Тур промежуточное соединение 118 (17 мг, 19 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 15 мг (колич.) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS(система 1): $t_r=1,29$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 657,37 (M+H)⁺, найдено 658,04.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-амино-N,3-диметилпентанамидо)-1-(бутирилокси)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (124). Промежуточное соединение 119 Fmoc-Ile-Tuv-Тур (23 мг, 26 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 15 мг (86%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=1,24$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 671,39 (M+H)⁺, найдено 671,48.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-амино-N,3-диметилпентанамидо)-1-(изобутирилокси)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (125). Промежуточное соединение 120 Fmoc-Ile-Tuv-Тур (26 мг, 29 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 20 мг (колич.) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS(система 1): $t_r=1,33$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 671,39 (M+H)⁺, найдено 671,33.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-амино-N,3-диметилпентанамидо)-4-метил-1-((3-метилбутилокси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (126). Промежуточное соединение 121 Fmoc-Ile-Tuv-Тур (54 мг, 60 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 41 мг (колич.) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=1,31$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 685,40 (M+H)⁺, найдено 685,49.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-амино-N,3-диметилпентанамидо)-1-((3,3-диметилбутаноил)окси)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (127). Промежуточное соединение 122 Fmoc-Pe-Tuv-Typ (55 мг, 60 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 36 мг (86%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS(система 2): $t_r=1,30$ мин, m/z (ES+) вычислено 699,42 (M+H)⁺, найдено 699,51.

Общий метод амидной конденсации трипептидов изолейцин-тубувалин(О-сложный эфир)-тубуфенилаланин с (R)-N-метил-пипеколиновой кислотой. Коммерчески доступную (R)-N-метил-пипеколиновую кислоту (D-Мер) 36 (2 эквивалента) растворяли в безводном диметилформамиде (20-25 мМ) и предварительно активировали с помощью HATU (2 эквивалента) и DIPEA (4 эквивалентов); смесь перемешивали в течение 10 мин при комнатной температуре в атмосфере азота. Активированную кислоту затем добавляли к трипептидам Pe-Tuv(О-сложный эфир)-Typ 123-127; реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере азота и протекание реакции отслеживали с помощью данных СВЭЖХ/МС. Затем после завершения реакции добавляли ледяную уксусную кислоту (14 эквивалентов) и продукт очищали путем препаративной ВЭЖХ.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метил-1-(пропионилокси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (128). Промежуточное соединение 123 Pe-Tuv-Typ (5 мг, 8 мкмоль) присоединяли к D-Мер 36, как описано выше, с получением 6 мг (97%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS(система 1): $t_r=1,33$ мин, m/z (ES+) вычислено 782,45 (M+H)⁺, найдено 781,82.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-1-(бутирилокси)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (129). Промежуточное соединение 124 Pe-Tuv-Typ (6 мг, 9 мкмоль) присоединяли к D-Мер 36, как описано выше, с получением 7 мг (98%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS(система 2): $t_r=1,31$ мин, m/z (ES+) вычислено 796,47 (M+H)⁺, найдено 796,57.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-1-(изобутирилокси)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (130). Промежуточное соединение 125 Pe-Tuv-Typ (5 мг, 8 мкмоль) присоединяли к D-Мер 36, как описано выше, с получением 6 мг (94%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS(система 1): $t_r=1,37$ мин, m/z (ES+) вычислено 796,47 (M+H)⁺, найдено 795,78.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метил-1-((3-метилбутаноил)окси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (131). Промежуточное соединение 126 Pe-Tuv-Typ (7 мг, 10 мкмоль) присоединяли к D-Мер 36, как описано выше, с получением 6 мг (94%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS(система 2): $t_r=1,35$ мин, m/z (ES+) вычислено 810,49 (M+H)⁺, найдено 810,59.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-1-((3,3-диметилбутаноил)окси)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (132). Промежуточное соединение 127 Pe-Tuv-Typ (7 мг, 10 мкмоль) присоединяли к D-Мер 36, как описано выше, с получением 6 мг (94%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=1,38$ мин, m/z (ES+) вычислено 824,50 (M+H)⁺, найдено 824,60.

Общий метод удаления аллилового эфира из промежуточных соединений D-метилпипеколиновая кислота-изолейцин-тубувалин(О-сложный эфир)-тубуфенилаланин. Промежуточное соединение (128-132) аллиловый эфир-защищенный тубулизин растворяли в безводном дихлорметане (20 мМ) обрабатывали тетракис(трифенилфосфин) палладием (0,1 эквив.), трифенилфосфином (0,2 эквивалента) и безводным пирролидином (8 эквивалентов), и реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в атмосфере азота. После того, как данные СВЭЖХ/МС показывали превращение в продукт свободной кислоты, реакционную смесь гасили ледяной уксусной кислотой (22 эквивалента), разбавляли ацетонитрилом и диметилформамидом, и затем концентрировали упариванием на роторе. Сырой эфир тубулизина затем очищали путем препаративной ВЭЖХ.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-Диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метил-1-(пропионилокси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (133). Промежуточное соединение 128 аллиловый эфир-защищенный тубулизин (6 мг, 8 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 3,8 мг (67%) тубулизина 133 (Tub пропионат). СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=1,11$ мин, m/z (ES+) вычислено 742,42 (M+H)⁺, найдено 742,51.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-(Бутирилокси)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (134). Промежуточное соединение 129 аллиловый эфир-защищенный тубулизин (7 мг, 9 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 6 мг (88%) тубулизина 134 (Tub бутират). СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=1,16$ мин, m/z (ES+) вычислено 756,44 (M+H)⁺, найдено 756,54.

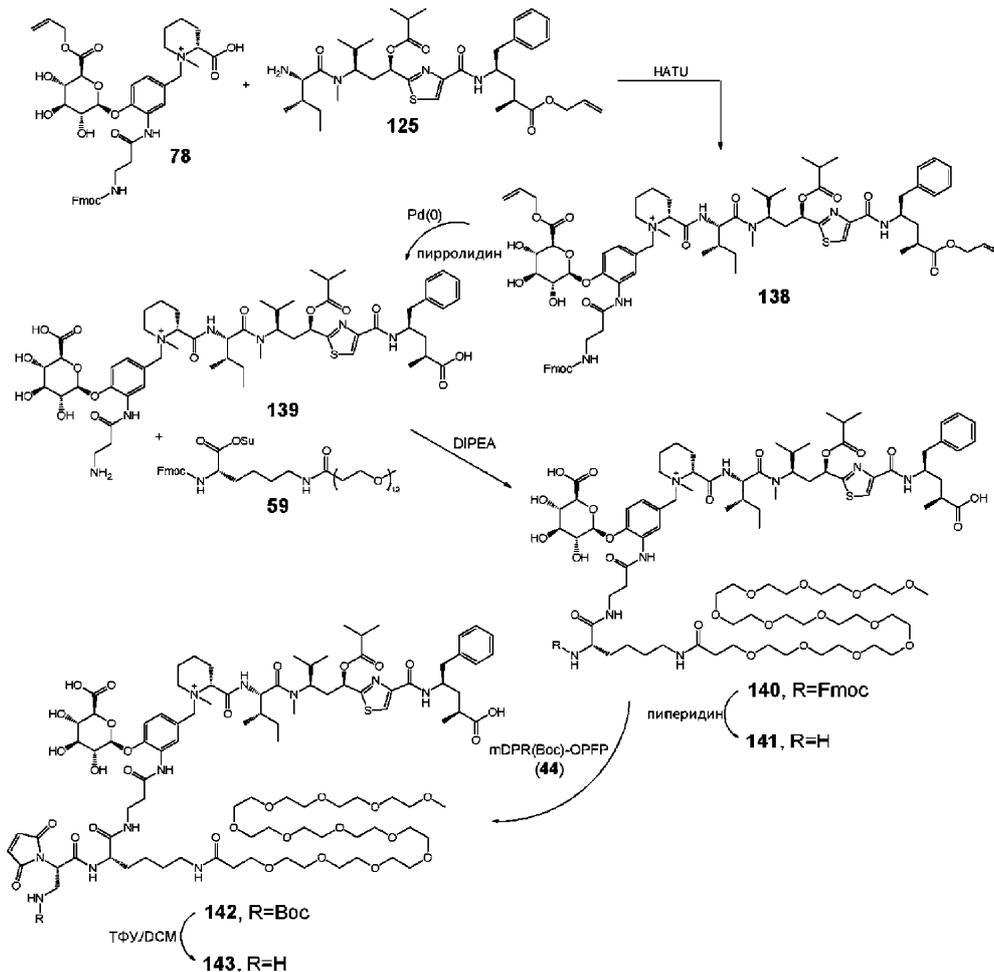
(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-Диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-1-(изобутирилокси)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (135). Промежуточное соединение 130 аллиловый эфир-защищенный тубулизин (6 мг, 8 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 3 мг (50%) тубулизина 135 (Tub изобу-

тират). СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,23$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 756,44 (M+H)⁺, найдено 756,82.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метил-1-((3-метилбутаноил)окси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (136). Промежуточное соединение 131 аллиловый эфир-защищенный тубулизин (7 мг, 9 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 7 мг (колич.) тубулизина 136 (Tub изовалерат). СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,22$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 770,45 (M+H)⁺, найдено 770,55.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-Диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-1-((3,3-диметилбутаноил)окси)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (137). Промежуточное соединение 132 аллиловый эфир-защищенный тубулизин (7 мг, 8,5 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 8 мг (колич.) тубулизина 137 (Tub гем- диметилбутират). СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,23$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 784,47 (M+H)⁺, найдено 784,57.

Схема 15



(2R)-1-(3-(3-(((9H-Флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)пропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-((аллилокси)карбонил)-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-4-(((2R,4S)-5-(аллилокси)-4-метил-5-оксо-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-1-(изобутирилокси)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (138). В колбу, содержащую N-Пе-Tuv(O-изобутират)-Tup-OАллил (125, 15 мг, 22 мкмоль), добавляли Fmoc-Gluc(Аллил)Q-Мер-ОН (78, 17 мг, 22 мкмоль) и HATU (9 мг, 22 мкмоль) в виде твердых веществ, затем ДМФ (0,9 мл). Добавляли N, N-диизопропилэтиламин (15 мкл, 88 мкмоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре и протекание реакции отслеживали с помощью данных СВЭЖХ/МС. Реакционную смесь затем помещали в ДМСО и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 138 (4 мг, 13%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,53$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 1426,69 (M)⁺, найдено 1426,17.

(2R)-1-(3-(3-Аминопропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокси-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-4-(((2R,4S)-4-карбокси-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-1-(изобутирилокси)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (139). Fmoc-Gluc(Аллил)Q-Tub(изо-О-Аллил) (138, 4 мг, 3 мкмоль) помещали в DCM (0,3 мл), перемешивая в атмосфере N₂. Pd(PPh₃)₄ (0,4 мг, 0,3 мкмоль) и PPh₃ (0,2 мг, 0,6

мкмоль) were добавляли в виде твердых веществ, затем пирролидин (2 мкл, 2 4 мкмоль). Реакционную смесь перемешивали to 2 часов при комнатной температуре, затем помещали в ДМСО, конденсировали при пониженном давлении, и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 139 (3 мг, 8 8%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,04$ мин, m/z (ES+) вычислено 1124,56 (M)⁺, найдено 1124,69.

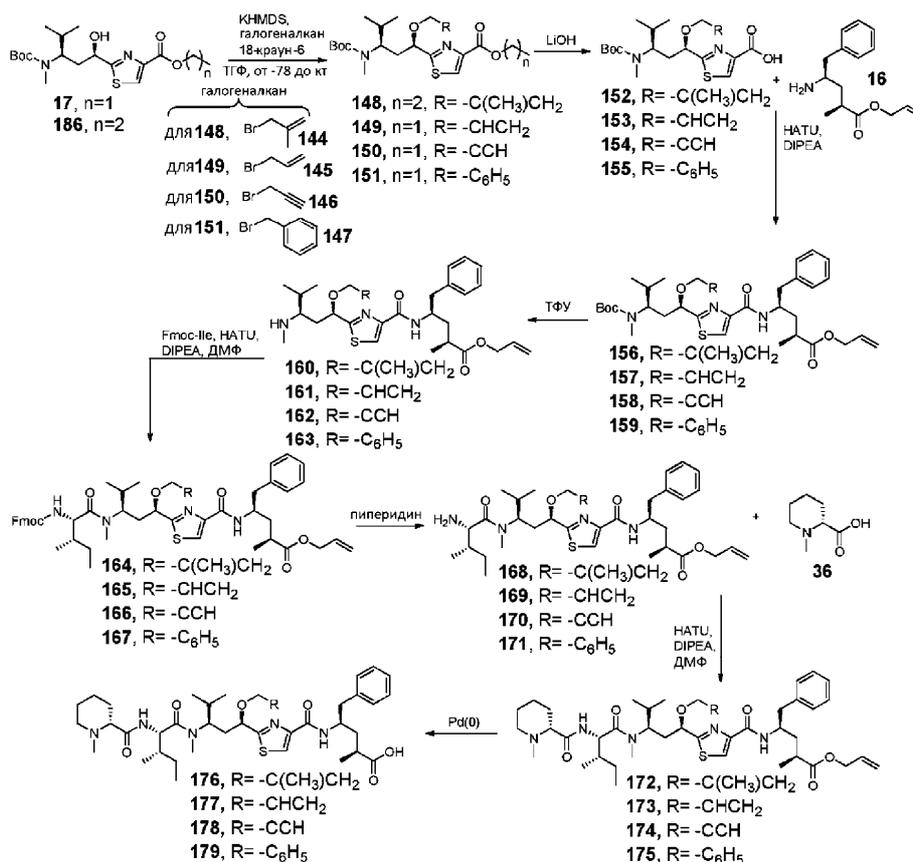
(2R)-1-(3-((S)-44-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-диазанонатетраконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбоксо-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбоксо-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-1-(изобутирилокси)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (140). Fmoc-Lys(PEG12)-OSu (59, 10 мг, 9 мкмоль) добавляли в колбу, содержащую H-GlucQ-Tub(изо-О-аллил) (139, 3 мг, 3 мкмоль) в виде раствора в безводном ДМФ (0,3 мл) в атмосфере N₂. Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (2 мкл, 9 мкмоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь затем гасили уксусной кислотой и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 140 (0,8 мг, 13%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,35$ мин, m/z (ES+) вычислено 1023,03 (M+H)²⁺, найдено 1023,15.

(2R)-1-(3-((S)-44-Амино-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-диазанонатетраконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбоксо-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбоксо-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-1-(изобутирилокси)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (141). В колбу, содержащую Fmoc-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub-(О-изо-аллил) (140, 0,8 мг, 0,4 мкмоль), добавляли 20% пиперидин в ДМФ (0,2 мл). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере N₂ при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь затем разбавляли смесью ДМСО/Н₂O и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 141 (3,6 мг, 82%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,07$ мин, m/z (ES+) вычислено 1822,98 (M)⁺, найдено 1823,15.

(2R)-1-(3-((S)-44-((S)-3-((трет-Бутоксикарбонил)амино)-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-диазанонатетраконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбоксо-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбоксо-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-1-(изобутирилокси)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (142). В колбу помещали H-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub-(О-изо-аллил) (141, 0,5 мг, 0,4 мкмоль) в безводном ДМФ (0,212 мл), к которому в виде твердого вещества в атмосфере добавляли N₂mDPR(Вос)-OPFP (44, 1,4 мг, 3,2 мкмоль). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,74 мкл, 4,2 мкмоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь затем гасили уксусной кислотой, разбавляли ДМСО и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 142 (0,5 мг, 61%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,25$ мин, m/z (ES+) вычислено 1045,04 (M+H)²⁺, найдено 1045,16.

(2R)-1-(3-((S)-44-((S)-3-Амино-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-диазанонатетраконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбоксо-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбоксо-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-1-(изобутирилокси)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (143). Колбу, содержащую mDPR(Вос)-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(О-изо-аллил)(142, 0,5 мг, 0,24 мкмоль), охлаждали до температуры 0°C в атмосфере N₂. Добавляли по каплям раствор 10% ТФУ в CH₂Cl₂ (0,26 мл) и перемешивали в течение 2 ч. Реакционную смесь затем помещали в ДМСО, конденсировали при пониженном давлении и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением 143 (0,7 мг, колич.). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,06$ мин, m/z (ES+) вычислено 1989,02 (M)⁺, найдено 1989,20.

Схема 16



Общий метод этерификации тубувалина. В высушенную на пламени колбу помещали промежуточное соединение 17 (или 186) Вос-защищенный известный тубувалин (J. Отд. Chem., 2008, 13, 4362-4369) в безводном тетрагидрофуране (50 мМ), к которому добавляли 18-краун-6 (2,0 эквивалента) и охлаждали до температуры -7 8°C. Добавляли по каплям гексаметилдисилазид калия (1,5 эквивалентов) в виде 1М раствора в тетрагидрофуране, и затем реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при температуре -78°C в атмосфере азота. Затем добавляли ненасыщенный бромалкан (2 эквивалента), и реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и протекание реакции протекание реакции отслеживали с помощью данных СВЭЖХ/МС. После того, как исходное вещество было израсходовано, реакционную смесь охлаждали на льду и гасили насыщенным хлоридом аммония и разбавляли дихлорметаном (10 объемов). Органический слой промывали 0,1М HCl, и полученную водную фазу два раза экстрагировали дихлорметаном. Объединенные органические продукты затем сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали досуха. Очистка сырых О-алкилированных продуктов достигалась флэш-хроматографией на силикагеле или препаративной ВЭЖХ.

Этил 2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-4-метил-1-((2-метилаллил)окси)пентил)тиазол-4-карбоксилат (148). Промежуточное соединение 186 пропиловый сложный эфир защищенного тубувалина (299 мг, 750 мкмоль) О-алкилировали, как описано выше, 3-бром-2-метилпроп-1-еном (151 мкл, 1,5 ммоль) с получением после очистки на силикагеле, элюируя смесями метанола и дихлорметана, 243 мг (71%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,77$ МНН, m/z (ES+) вычислено 455,26 (M+H)⁺, найдено 455,32.

Этил 2-((1R,3R)-1-(аллилокси)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (149). Промежуточное соединение 17 тубувалин (84 мг, 218 мкмоль) О-аллилировали, как описано выше, аллилбромидом (40 мкл, 43 6 мкмоль) с получением после очистки на силикагеле, элюируя смесями метанола и дихлорметана, 77 мг (83%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,69$ мин, m/z (ES+) вычислено 427,23 (M+H)⁺, найдено 427,30.

Этил 2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-4-метил-1-(проп-2-ин-1-илокси)пентил)тиазол-4-карбоксилат (150). Промежуточное соединение 17 тубувалин (101 мг, 2 62 мкмоль) О-пропаргилировали, как описано выше, пропаргилбромидом (56 мкл, 524 мкмоль) с получением после очистки 7 6 мг (68%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,63$ мин, m/z (ES+) вычислено 425,21 (M+H)⁺, найдено 425,28.

Этил 2-((1R,3R)-1-(бензилокси)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилат (151). Промежуточное соединение 17 тубувалин (90 мг, 230 мкмоль) О-бензилировали, как описано выше, бензилбромидом (55 мкл, 460 мкмоль) с получением после очистки 21 мг (19%) указанно-

го в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 1): $t_r=1,95$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 477,24 (M+H)⁺, найдено 477,22.

Общий метод омыления О-алкилированных тубувалиновых сложных эфиров. Реакции омыления проводили при концентрации реакционной смеси 20 мМ с использованием смеси 1:1:1 растворителей тетрагидрофуран:метанол:вода. О-Алкилированное тубувалиновое промежуточное соединение 148-151 растворяли в тетрагидрофуране и метаноле, по 1 объему каждого. Смесь затем охлаждали на ледяной бане при температуре 0°C. Моногидрат гидроксида лития (2-3 эквивалента) растворяли в 1 объеме дистиллированной воды и добавляли по каплям в реакционную колбу с перемешиванием при температуре 0°C. Затем реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и протекание реакции отслеживали с помощью данных СВЭЖХ/МС. Как только исходное вещество было преобразовывалось в свободную кислоту, реакционную смесь гасили ледяной уксусной кислотой (2-3 эквивалентов) и концентрировали упариванием на роторе. Сырые карбоновые кислоты затем очищали путем препаративной ВЭЖХ.

2-((1R,3R)-3-((трет-Бутоксикарбонил)(метил)амино)-4-метил-1-((2-метилаллил)окси)пентил)тиазол-4-карбоновая кислота (152). Промежуточное соединение 148 эфир тубувалина (143 мг, 315 мкмоль) омыляли, как описано выше, моногидратом гидроксида лития (27 мг, 63 0 мкмоль) с получением 114 мг (88%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 1): $t_r=1,57$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 413,21, найдено 413,28.

2-((1R,3R)-1-(Аллилокси)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоновая кислота (153). Промежуточное соединение 149 аллиловый эфир тубувалина (77 мг, 181 мкмоль) омыляли, как описано выше, моногидратом гидроксида лития (15 мг, 3 60 мкмоль) с получением 51 мг (71%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=1,51$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 399,20 (M+H)⁺, найдено 399,26.

2-((1R,3R)-3-((трет-Бутоксикарбонил)(метил)амино)-4-метил-1-(проп-2-ин-1-илокси)пентил)тиазол-4-карбоновая кислота (154). Промежуточное соединение 150 пропаргиловый эфир тубувалина (76 мг, 180 мкмоль) омыляли, как описано выше, моногидратом гидроксида лития (15 мг, 360 мкмоль) с получением 50 мг (69%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=1,47$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 397,18 (M+H)⁺, найдено 397,25.

2-((1R,3R)-1-(Бензилокси)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоновая кислота (155). Промежуточное соединение 151 бензиловый эфир тубувалина (21 мг, 44 мкмоль) омыляли, как описано выше, моногидратом гидроксида лития (5,5 мг, 132 мкмоль) с получением указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 1): $t_r=1,72$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 449,21 (M+H)⁺, найдено 449,18.

Общий метод амидной конденсации аллиловых эфиров свободных кислот О-алкилированных тубувалина и тубуфенилаланина. Свободные кислоты О-алкилированного тубувалина 152-155 предварительно активировали путем растворения в безводном диметилформамиде (25-50 мМ) и добавления НАТУ (2,4 эквивалентов) и DIPEA (5 эквивалентов); смесь затем перемешивали в атмосфере азота при комнатной температуре в течение 10 мин. Активированную кислоту затем добавляли к известному (Org. Lett., 2007, 9, 1605-1607) аллиловому эфиру тубуфенилаланина 16, и затем реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в атмосфере азота, протекание реакции отслеживали с помощью СВЭЖХ/МС. Затем после завершения реакции добавляли ледяную уксусную кислоту (14 эквивалентов) и продукт очищали путем препаративной ВЭЖХ.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-4-метил-1-((2-метилаллил)окси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (156). Промежуточное соединение 152 эфир тубувалина (114 мг, 277 мкмоль) присоединяли к аллиловому эфиру тубуфенилаланина (Tup) 16 (137 мг, 554 мкмоль) с получением 159 мг (90%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 1): $t_r=1,97$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 642,36 (M+H)⁺, найдено 642,44.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-1-(аллилокси)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (157): промежуточное соединение 153 аллиловый эфир тубувалина (44 мг, 100 мкмоль) присоединяли к аллиловому эфиру тубуфенилаланина (Tup) 16 (37 мг, 150 мкмоль) с получением 60 мг (95%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS(система 1): $t_r=2,06$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 628,34 (M+H)⁺, найдено 628,26.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-4-метил-1-(проп-2-ин-1-илокси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (158): промежуточное соединение 154 пропаргиловый эфир тубувалина (42 мг, 106 мкмоль) присоединяли к аллиловому эфиру тубуфенилаланина (Tup) 16 (52 мг, 212 мкмоль) с получением 48 мг (73%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=1,73$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 626,33 (M+H)⁺, найдено 626,41.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-1-(бензилокси)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (159): промежуточное соединение 155 бензиловый эфир тубувалина (50 мг, 110 мкмоль) присоединяли к аллиловому эфиру тубуфенилаланина (Tup) 16 (60 мг, 165 мкмоль) с получением 43 мг (58%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS(система 2): $t_r=1,93$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 678,36 (M+H)⁺, найдено 678,45.

Общий метод удаления защитной группы Вос Tuv(OAlk)-Tур у промежуточных соединений. Промежуточные соединения 156-159 О-алкилированные тубувалин-тубуфенилаланин подвергали удалению защитных групп для открытия функциональной группы вторичного амина в кислотных условиях с 10% ТФУ в дихлорметане (25 мМ). Конкретно, исходное вещество растворяли в безводном дихлорметане (9 объемов) и перемешивали в атмосфере азота при температуре 0°C. Затем к перемешиваемому раствору добавляли по каплям трифторуксусную кислоту (1 объем). Реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры, и протекание реакции отслеживали с помощью данных СВЭЖХ/МС. После завершения реакции реакционную смесь концентрировали упариванием на роторе и откачивали в вакуумной линии в течение ночи. Свободные амины 160-163 использовали далее без дополнительной очистки.

(2S,4R)-Аллил 2-метил-4-(2-((1R,3R)-4-метил-1-((2-метилаллил)окси)-3-(метиламино)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-фенилпентаноат (160): промежуточное соединение 156 Вос-защищенный Tuv-Tур (159 мг, 248 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 127 мг (95%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 1): $t_r=1,18$ мин, m/z (ES+) вычислено 542,31 (M+H)⁺, найдено 542,38.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-1-(аллилокси)-4-метил-3-(метиламино)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (161): промежуточное соединение 157 Вос-защищенный Tuv(O-аллил)-Tур (60 мг, 96 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 52 мг (колич.) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS(система 1): $t_r=1,16$ мин, m/z (ES+) вычислено 528,29 (M+H)⁺, найдено 528,05.

(2S,4R)-Аллил 2-метил-4-(2-((1R,3R)-4-метил-3-(метиламино)-1-(проп-2-ин-1-илокси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-фенилпентаноат (162): промежуточное соединение 158 Вос-защищенный Tuv(O-пропаргил)-Tур (39 мг, 62 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 45 мг (колич.) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS(система 2): $t_r=1,08$ мин, m/z (ES+) вычислено 526,28 (M+H)⁺, найдено 526,35.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-1-(бензилокси)-4-метил-3-(метиламино)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (163): промежуточное соединение 159 Вос-защищенный Tuv(O-бензил)-Tур (38 мг, 56 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением указанного в заголовке соединения с количественным выходом. СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=1,20$ мин, m/z (ES+) вычислено 578,31 (M+H)⁺, найдено 578,38.

Общий метод амидной конденсации дипептидов О-алкилированных тубувалин-тубуфенилаланин с Fмос-защищенным L-изолейцином. Коммерчески доступный Fмос-L-изолейцин (1,3-2 эквивалента) растворяли в безводном диметилформамиде (50-200 мМ) и предварительно активировали с помощью HATU (1,5-2 эквивалента) и DIPEA (2 эквивалента); смесь перемешивали в течение 10 мин при комнатной температуре в атмосфере азота. Активированную кислоту затем добавляли к дипептидам Tuv(O-эфир)-Tур 160-163; реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере азота, и протекание реакции отслеживали с помощью данных СВЭЖХ/МС. После того, как реакция останавливалась или полностью завершалась, добавляли ледяную уксусную кислоту (13 эквивалентов), и реакционную смесь очищали с помощью преп. ВЭЖХ.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((5S,8R,10R)-5-((S)-втор-бутил)-1-(9H-флуорен-9-ил)-8-изопропил-7,13-диметил-3,6-диоксо-2,11-диокса-4,7-диазатетрадец-13-ен-10-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (164): Tuv-Tур промежуточное соединение 160 (127 мг, 235 мкмоль) присоединяли к Fмос-L-Иле, как описано выше, с получением 90 мг (44%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 1): $t_r=2,14$ мин, m/z (ES+) вычислено 877,46 (M+H)⁺, найдено 877,56.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((5S,8R,10R)-5-((S)-втор-бутил)-1-(9H-флуорен-9-ил)-8-изопропил-7-метил-3,6-диоксо-2,11-диокса-4,7-диазатетрадец-13-ен-10-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (165). Промежуточное соединение 161 Tuv(O-аллил)-Tур (52 мг, 100 мкмоль) присоединяли к Fмос-L-Иле, как описано выше, с получением 38 мг (44%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=1,94$ мин, m/z (ES+) вычислено 863,44 (M+H)⁺, найдено 863,54.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((5S,8R,10R)-5-((S)-втор-бутил)-1-(9H-флуорен-9-ил)-8-изопропил-7-метил-3,6-диоксо-2,11-диокса-4,7-диазатетрадец-13-ин-10-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (166). Промежуточное соединение 162 Tuv(O-пропаргил)-Tур (62 мкмоль) присоединяли к Fмос-L-Иле, как описано выше, с получением 33 мг (62%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS (система 2): $t_r=1,83$ мин, m/z (ES+) вычислено 861,43 (M+H)⁺, найдено 861,53.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((5S,8R,10R)-5-((S)-втор-бутил)-1-(9H-флуорен-9-ил)-8-изопропил-7-метил-3,6-диоксо-12-фенил-2,11-диокса-4,7-диазадодекан-10-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (167). Промежуточное соединение 163 Tuv(O-бензил)-Tур (56 мкмоль) присоединяли к Fмос-L-Иле, как описано выше, с получением 23 мг (45%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-MS(система 2): $t_r=2,04$ мин, m/z (ES+) вычислено 913,46 (M+H)⁺, найдено 913,56.

Общий метод удаления защитных групп трипептидов Fмос изолейцин-О-алкилированный тубувалин-тубуфенилаланин: Fмос-Иле-Tuv(O-эфир)-Tур аллиловый эфир (164-167) при перемешивании в атмосфере азота при комнатной температуре обрабатывали 20% пиперидином в диметилформамиде (20 мМ).

Как только достигалось полное удаление защитных групп, что отслеживалось с помощью СВЭЖХ/МС, реакционную смесь концентрировали упариванием на роторе. Сырой продукт затем очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением трипептидов со свободными аминами 168-171.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-амино-N,3-диметилпентанамидо)-4-метил-1-((2-метилаллил)окси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (168). Промежуточное соединение 164 Fmoc-Phe-Tuv-Tyr (90 мг, 103 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 29 мг (43%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,29$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 655,39 (M+H)⁺, найдено 655,48.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-1-(аллилокси)-3-((2S,3S)-2-амино-N,3-диметилпентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (169). Промежуточное соединение 165 Fmoc-Phe-Tuv(O-аллил)-Tyr (38 мг, 44 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 25 мг (89%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС(система 2): $t_r=1,20$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 641,38 (M+H)⁺, найдено 641,46.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-амино-N,3-диметилпентанамидо)-4-метил-1-(проп-2-ин-1-илокси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (170). Промежуточное соединение 166 Fmoc-Phe-Tuv(O-пропаргил)-Tyr (33 мг, 38 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 25 мг (колич.) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,15$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 639,36 (M+H)⁺, найдено 639,44.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-амино-N,3-диметилпентанамидо)-1-(бензилокси)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (171). Промежуточное соединение 167 Fmoc-Phe-Tuv(O-бензил)-Tyr (23 мг, 25 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением указанного в заголовке соединения с количественным выходом. СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,30$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 691,39 (M+H)⁺, найдено 691,48.

Общий метод амидной конденсации трипептидов изолейцин-тубувалин(эфир)-тубуфенилаланин с (R)-N-метилпипеколиновой кислотой. Коммерчески доступную (R)-N-метилпипеколиновую кислоту (D-Мер) 36 (1,5-2 эквивалента) растворяли в безводном диметилформамиде (25-50 мМ) и предварительно активировали с помощью HATU (2 эквивалента) и DIPEA (4 эквивалентов); смесь перемешивали в течение 10 мин при комнатной температуре в атмосфере азота. Активированную кислоту затем добавляли к Phe-Tuv(O-эфир)-Tyr трипептидам 168-171; реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере азота, и протекание реакции отслеживали с помощью данных СВЭЖХ/МС. Затем после завершения реакции добавляли ледяную уксусную кислоту (14 эквивалентов) и продукт очищали путем препаративной ВЭЖХ.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метил-1-((2-метилаллил)окси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (172). Промежуточное соединение 168 Phe-Tuv-Tyr (55 мг, 84 мкмоль) присоединяли к D-Мер 36, как описано выше, с получением 40 мг (62%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,27$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 780,48 (M+H)⁺, найдено 780,58.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-1-(аллилокси)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (173). Промежуточное соединение 169 Phe-Tuv(O-аллил)-Tyr (5 мг, 7,8 мкмоль) присоединяли к D-Мер 36, как описано выше, с получением 6 мг (колич.) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,28$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 766,46 (M+H)⁺, найдено 766,54.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метил-1-(проп-2-ин-1-илокси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (174). Промежуточное соединение 170 Phe-Tuv(O-пропаргил)-Tyr (18 мг, 28 мкмоль) присоединяли к D-Мер 36, как описано выше, с получением 20 мг (93%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,23$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 764,44 (M+H)⁺, найдено 764,53.

(2S,4R)-Аллил 4-(2-((1R,3R)-1-(бензилокси)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат (175). Промежуточное соединение 171 Phe-Tuv(O-бензил)-Tyr (5 мг, 7 мкмоль) присоединяли к D-Мер 36, как описано выше, с получением 4,4 мг (75%) указанного в заголовке соединения. СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,42$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 816,48 (M+H)⁺, найдено 816,64.

Общий метод удаления аллилового эфира из промежуточных соединений D-метилпипеколиновая кислота-изолейцин-тубувалин(эфир)-тубуфенилаланин тубулизин. Промежуточное соединение (172-175) аллиловый эфир-защищенный эфир тубулизина растворяли в безводном дихлорметане (20 мМ) обрабатывали тетраakis(трифенилфосфин)палладием (0,1 эквив.), трифенилфосфином (0,2 эквивалента) и безводным пирролидином (8 эквивалентов) и реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в атмосфере азота. После того как данные СВЭЖХ/МС показывали превращение в продукт свободной кислоты, реакционную смесь гасили ледяной уксусной кислотой (22 эквивалента), добавляли ацетонитрил и диметилформамидом и затем концентрировали упариванием на роторе. Сырой эфир тубулизина затем очищали путем препаративной ВЭЖХ.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-Диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метил-1-((2-метилаллил)окси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентаноат

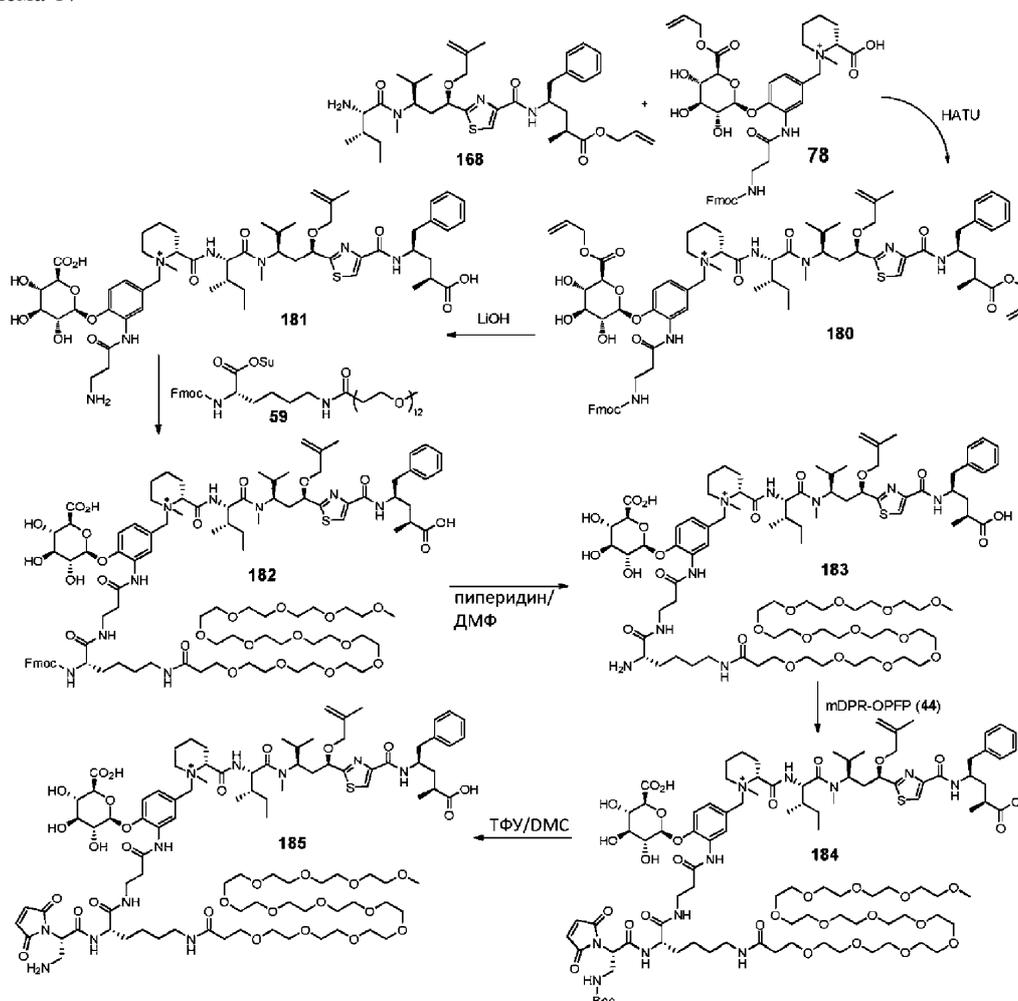
до)-4-метил-1-((2-метилаллил)окси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (176). Промежуточное соединение 172 аллиловый эфир-защищенный тубулизин метилаллиловый эфир (19 мг, 24 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 14 мг (93%) эфира тубулизина 176. СВЭЖХ-МС(система 2): $t_r=1,16$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 740,44 (M+H)⁺, найдено 740,54.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-(Аллилокси)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (177). Промежуточное соединение 173 аллиловый эфир-защищенный аллиловый эфир тубулизина (7 мг, 9 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 6 мг (92%) аллилового эфира тубулизина 177. СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,20$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 726,43 (M+H)⁺, найдено 726,33.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-Диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метил-1-(проп-2-ин-1-илокси)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (178). Промежуточное соединение 174 аллиловый эфир-защищенный пропаргиловый эфир тубулизина (5,2 мг, 6,8 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 2,7 мг (55%) пропаргилового эфира тубулизина 178. СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,09$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 724,41 (M+H)⁺, найдено 724,50.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-(Бензилокси)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (179). Промежуточное соединение 175 аллиловый эфир-защищенный бензиловый эфир тубулизина (5 мг, 6 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, с получением 4,5 мг (96%) тубулизина бензиловый эфир 179. СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,26$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 776,44 (M+H)⁺, найдено 776,58.

Схема 17



(2R)-1-(3-(3-(((9H-Флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)пропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-((аллилокси)карбонил)-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-5-(аллилокси)-4-метил-5-оксо-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метил-1-((2-метилаллил)окси)пентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (180). В колбу, содержащую Н-Пе-Тув(О-метилпропен)-Тур-ОАллил (168, 24 мг, 31 мкмоль) в виде

твердых веществ добавляли Fmoc-Gluc (Аллил) Q-Мер-ОН (78, 28 мг, 31 мкмоль) и HATU (18 мг, 45 мкмоль), затем ТГФ (1,2 мл). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (19 мкл, 109 мкмоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь затем помещали в ДМСО и очищали путем препаративной LC с получением 180 (21 мг, 49%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,46$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 1410,69 (M)⁺, найдено 1410,84.

(2R)-1-(3-(3-Аминопропанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокسي-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокسي-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метил-1-((2-метилаллил)окси)пентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (181). Fmoc-GlucQ-Tub(О-метилпропен)-ОАллил 180 (12 мг, 8 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, (см.: Общий метод полного удаления защитных групп Fmoc-GlucQ-Tub(OR)-ОАллил) с получением 181 (8,6 мг, 97%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,02$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 1108,56 (M)⁺, найдено 1108,69.

(2R)-1-(3-((S)-44-(((9Н-Флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-диазанонатетраконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокسي-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокسي-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метил-1-((2-метилаллил)окси)пентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (182). H-GlucQ-Tub(О-метилпропен) 181 (12,5 мг, 11 мкмоль) присоединяли к Fmoc-Lys(PEG12)-OSu 59 (14 мг, 13,5 мкмоль), как описано выше, (смотри: Общий метод конденсации H-GlucQ-Tub(OR) с Fmoc-Lys(PEG12)-OSu) с получением 182 (13 мг, 56%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,32$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 2029,05 (M)⁺, найдено 2029,24.

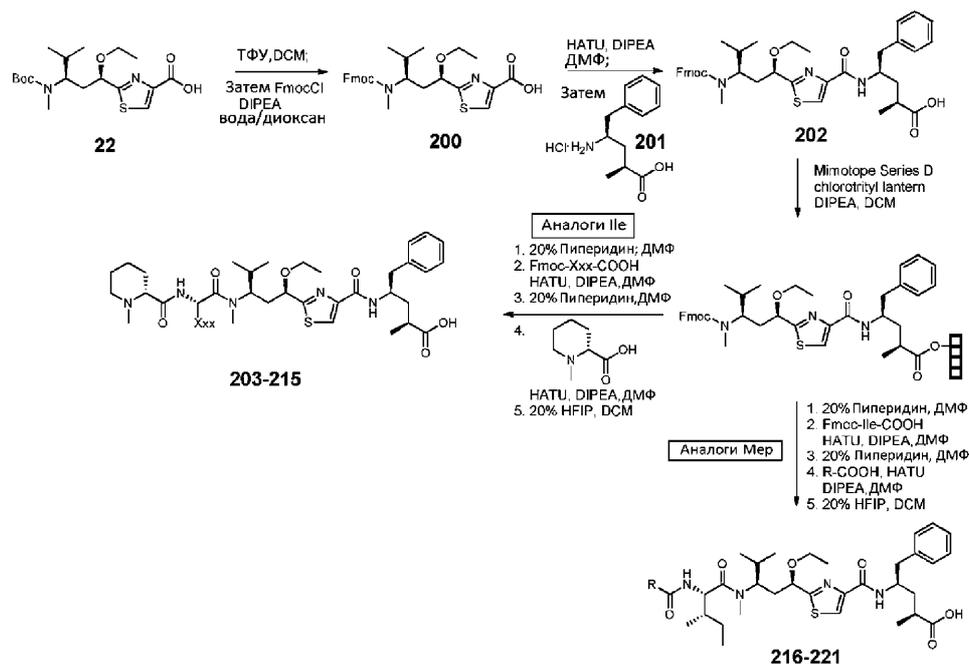
(2R)-1-(3-((S)-44-Амино-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-диазанонатетраконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокسي-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокسي-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метил-1-((2-метилаллил)окси)пентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (183). Fmoc-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(О-метилпропен) 182 (13 мг, 6 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, (смотри: Общий метод удаления защитных групп Fmoc-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(OR)) с получением 183 (11 мг, колич.). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,04$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 1806,98 (M)⁺, найдено 1807,16.

(2R)-1-(3-((S)-44-((S)-3-((трет-Бутоксикарбонил)амино)-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-диазанонатетраконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокسي-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокسي-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метил-1-((2-метилаллил)окси)пентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (184). H-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(О-метилпропен) 183 (11,5 мг, 6,4 мкмоль) присоединяли к mDPR-OPFP 44 (4,3 мг, 9,5 мкмоль), как описано выше, (смотри: Общий метод конденсации H-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(OR) с mDPR-OPFP) с получением 184 (8,3 мг, 63%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,24$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 2073,07 (M)⁺, найдено 2073,25.

(2R)-1-(3-((S)-44-((S)-3-Амино-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)-38,45-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-додекаокса-39,46-диазанонатетраконтанамидо)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-карбокسي-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)бензил)-2-(((2S,3S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(((2R,4S)-4-карбокسي-1-фенилпентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метил-1-((2-метилаллил)окси)пентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)карбамоил)-1-метилпиперидин-1-ий (185). mDPR(Вос)-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(О-метилпропен) 184 (8,3 мг, 4 мкмоль) подвергали удалению защитных групп, как описано выше, (смотри: Общий метод удаления защитных групп mDPR(Вос)-Lys(PEG12)-GlucQ-Tub(OR)) с получением 185 (7,4 мг, 94%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 2): $t_r=1,05$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 1973,02 (M)⁺, найдено 1973,21.

Твердофазный синтез аналогов TubOEt путем замены остатков Тубулизина Pe или D-Мер.

Схема 18



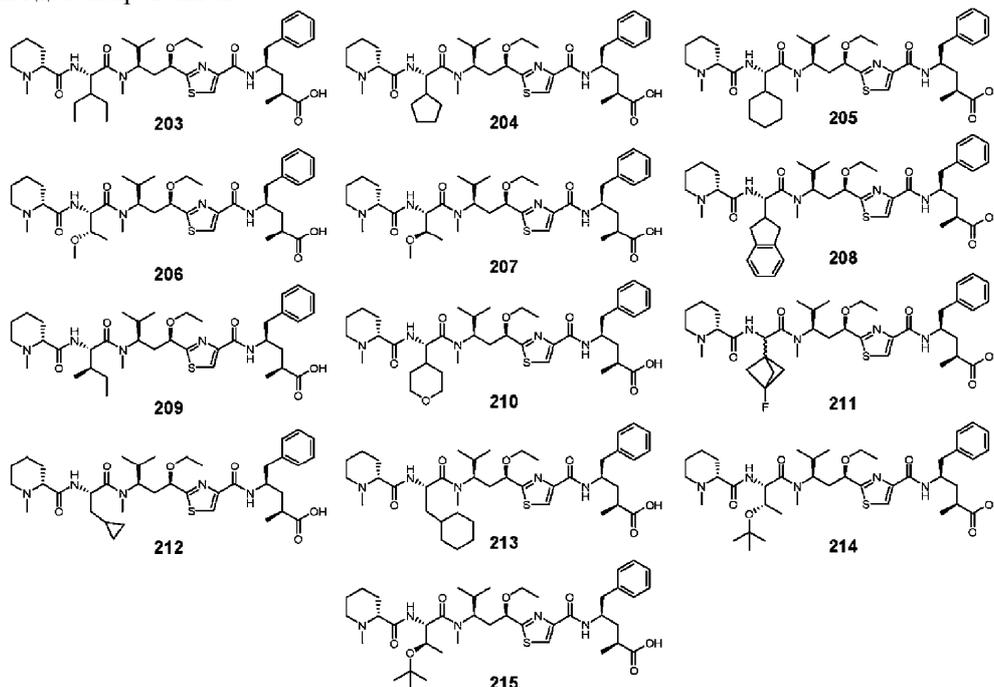
2-((1R,3R)-3-(((9H-Флуорен-9-ил)метокси)карбонил)(метил)амино)-1-этокси-4-метилпентилтиазол-4-карбоновая кислота (200): В сосуд помещали Boc-MeN-TuvOEt-COOH (22, 153 мг, 0,40 ммоль) и растворяли в безводном DCM (4 мл). Раствор охлаждали до температуры 0°C, затем добавляли по каплям ТФУ (0,40 мл, 5,22 ммоль). После добавления ТФУ реакционной смеси давали медленно нагреться до комнатной температуры. Через 4 ч наблюдалось полное удаление защитной группы Boc. Реакционную смесь разбавляли 5 мл толуола и концентрировали досуха. Промежуточный амин использовали без дополнительной очистки. Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=0,86$ мин, m/z (ES+) вычислено 287,1 (M+H)⁺, найдено 287,2. Промежуточный амин-соль трифторуксусной кислоты растворяли в 1,4-диоксане (2,0 мл), затем добавляли воду (2,0 мл) и DIPEA (0,41 мл, 2,4 ммоль). Затем добавляли по каплям раствор FmocCl (122 мг, 0,47 ммоль) в 1,4-диоксане. Спустя 8 ч реакционную смесь разбавляли 10% ДМСО в MeCN и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением FmocMeN-TuvOEt-COOH (200, 88 мг, 44%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=2,35$ мин, m/z (ES+) вычислено 509,2 (M+H)⁺, найдено 509,2; вычислено 531,2 (M+Na)⁺, найдено 531,1.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-(((9H-Флуорен-9-ил)метокси)карбонил)(метил)амино)-1-этокси-4-метилпентилтиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (202): FmocMeN-TuvOEt-COOH (200, 80 мг, 0,16 ммоль) растворяли в безводном ДМФ (0,8 мл) и затем добавляли раствор HATU (60 мг, 0,16 ммоль) в безводном ДМФ (0,8 мл), затем DIPEA (0,21 мл, 1,2 ммоль). Через 5 мин одной порцией добавляли гидрохлоридную соль (2S,4R)-4-амино-2-метил-5-фенилпентановой кислоты (201, HCl·Tyr-COOH, 96 мг, 0,39 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 5 ч при комнатной температуре, затем разбавляли 10% ДМСО в MeCN и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением FmocMeN-TuvOEt-Tyr-COOH (202, 95 мг, 87%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=2,40$ мин, m/z (ES+) вычислено 698,3(M+H)⁺, найдено 698,3.

Общая процедура загрузки хлортритильной смолы: шесть SynPhase™ полиакриламидных смол серии D, функционализированных линкером тритилового спирта и с номинальной загрузкой 8 мкмоль (Mimotopes, Victoria, Australia), помещали в сухой флакон и преобразовывали в линкер тритилхлорида обработкой 3 мл 10%-ного раствора AcCl в безводном растворе DCM. После 3 ч аккуратного перемешивания при комнатной температуре раствор удаляли и смолы промывали 3 раза 5 мл безводного DCM. Затем к смолам добавили раствор 202 (57 мг, 81,7 мкмоль) и DIPEA (57 мкл, 327 мкмоль) в 3 мл безводного DCM. После 5 ч аккуратного перемешивания при комнатной температуре раствор отделяли от смол и смолы промывали 3 раза 5 мл ДМФА, 3 раза 5 мл DCM, затем сушили в течение ночи в потоке аргона для получения смол, нагруженных FmocMeN-TuvOEt-Tyr.

Общая методика получения аналогов Ile замены TuvOEt (203-215): стадия 1: удаление Fmoc. Смолу, нагруженную FmocMeN-TuvOEt-Tyr, как приготовлено выше, обрабатывали 1 мл 20% пиперидина в ДМФА в течение 30 мин. Раствор удаляли и затем смолу 3 раза промывали 1,5 мл ДМФА. Стадия 2. Присоединение аминокислоты. В отдельном флаконе объединяли 0,5 мл 240 мМ раствора подходящей Fmoc-защитенной аминокислоты (FmocHN-Xxx-COOH) в ДМФА и 0,5 мл 200 мМ раствора HATU в ДМФА и добавляли DIPEA (45 мкл, 0,24 ммоль). Через 2 мин активированный раствор аминокислоты добавляли к смоле и осторожно перемешивали в течение 2 ч. Смолу обрабатывали второй раз раствором активированной Fmoc аминокислоты в течение 2 ч. Затем раствор удаляли и смолу промывали 3 раза по

1,5 мл ДМФА. Стадия 3. Удаление Fmoc. Смолу, нагруженную FmocHNXxx-TubOEt-Tyr, обрабатывали 1 мл 20% пиперидина в ДМФА в течение 30 мин. Раствор удаляли и затем смолу 3 раза промывали по 1,5 мл ДМФА. Стадия 4. Присоединение Мер. В отдельном флаконе объединяли 0,5 мл 240 мМ раствора (R)-1-метилпиперидин-2-карбоновой кислоты (Мер) в ДМФА и 0,5 мл 200 мМ раствора НАТУ в ДМФА и добавляли DIPEA (45 мкл, 0,24 ммоль). Через 2 минуты активированный Мер раствор добавляли к смоле и осторожно перемешивали в течение 1,5 ч. Раствор удаляли и смолу затем промывали 3 раза по 1,5 мл ДМФА и 3 раза по 1,5 мл DCM. Стадия 5. Отщепление от смолы. Каждую смолу обрабатывали в течение 90 мин раствором 20% HFIP в DCM. Раствор удаляли и смолу промывали дополнительными 0,5 мл 20% HFIP в DCM. Объединенные растворы фильтровали через 45-микронный шприцевой фильтр и концентрировали досуха, чтобы получить аналоги 203-215 (как показано непосредственно ниже). Аналоги были получены с чистотой \geq 85% по данным анализа УРЖХ-МС и хроматографии с диодно-матричным детектированием.



(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-Этоксид-3-((S)-3-этил-N-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (203): Аналог TubOEt в положении Ile получали в соответствии с общим способом, описанным выше, используя (S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-этилпентановую кислоту на стадии 2, с получением 203 (1,17 мг). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,77$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 728,4 (M+H)⁺, найдено 728,4.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((S)-2-Циклопентил-N-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)ацетамидо)-1-этоксид-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (204): Аналог TubOEt в положении Ile получали в соответствии с общим способом, описанным выше, используя (S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-2-циклопентилуксусную кислоту на стадии 2, с получением 204 (1,71 мг). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,72$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 726,4 (M+H)⁺, найдено 726,4.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((S)-2-Циклогексил-N-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)ацетамидо)-1-этоксид-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (205): Аналог TubOEt в положении Ile получали в соответствии с общим способом, описанным выше, используя (S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-2-циклогексилуксусную кислоту на стадии 2, с получением 205 (1,59 мг). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,77$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 740,4 (M+H)⁺, найдено 740,4.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-Этоксид-3-((2S,3S)-3-метокси-N-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)бутанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (206): Аналог TubOEt в положении Ile получали в соответствии с общим способом, описанным выше, используя N-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)-O-метил-L-аллотреонин на стадии 2, с получением 206 (1,50 мг). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,58$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 716,4 (M+H)⁺, найдено 716,4.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-Этоксид-3-((2S,3R)-3-метокси-N-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)бутанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (207): Аналог TubOEt в положении Ile получали в соответствии с общим способом, описанным выше, исполь-

зую N-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)-O-метил-L-треонин на стадии 2, с получением 207 (1,44 мг). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,59$ мин, m/z (ES+) вычислено 716,4 (M+H)⁺, найдено 716,4. (2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((S)-2-(2,3-дигидро-1H-инден-2-ил)-N-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)ацетамидо)-1-этокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (208). Аналог TubOEt в положении Пе получали в соответствии с общим способом, описанным выше, используя (S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-2-(2,3-дигидро-1H-инден-2-ил)уксусную кислоту на стадии 2, с получением 208 (1,15 мг). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,84$ мин, m/z (ES+) вычислено 774,4 (M+H)⁺, найдено 774,4.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-N,3-Диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-1-этокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (209). Аналог TubOEt в положении Пе получали в соответствии с общим способом, описанным выше, используя (((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)-L-аллоизолейцин на стадии 2, с получением 209 (1,33 мг). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,78$ мин, m/z (ES+) вычислено 714,4 (M+H)⁺, найдено 714,4.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-Этокси-4-метил-3-((S)-N-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)-2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)ацетамидо)пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (210): Аналог TubOEt в положении Пе получали в соответствии с общим способом, описанным выше, используя (S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)уксусную кислоту на стадии 2, с получением 210 (1,07 мг). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,20$ мин, m/z (ES+) вычислено 742,4 (M+H)⁺, найдено 742,4.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-Этокси-3-(2-(3-фторбицикло[1,1,1]пентан-1-ил)-N-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)ацетамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (211): Аналог TubOEt в положении Пе получали в соответствии с общим способом, описанным выше, используя рацемическую 2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-2-(3-фторбицикло[1,1,1]пентан-1-ил)уксусную кислоту на стадии 2, с получением 211 (2,69 мг) в виде смеси эписмеров. Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): Эпиимер 1: $t_r=1,67$ мин, m/z (ES+) вычислено 742,4 (M+H)⁺, найдено 742,3; Эпиимер 2: $t_r=1,83$ мин, m/z (ES+) вычислено 742,4 (M+H)⁺, найдено 742,3.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((S)-3-Циклопропил-N-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пропанамидо)-1-этокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (212): Аналог TubOEt в положении Пе получали в соответствии с общим способом, описанным выше, используя (S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-циклопропилпропановую кислоту на стадии 2, с получением 212 (3,21 мг). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,66$ мин, m/z (ES+) вычислено 712,4 (M+H)⁺, найдено 712,3.

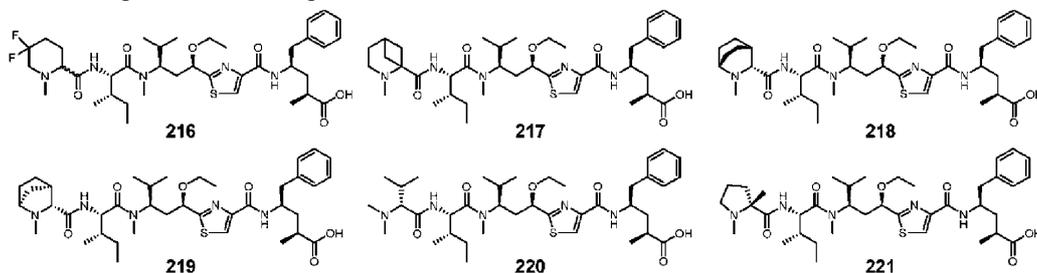
(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((S)-3-Циклогексил-N-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пропанамидо)-1-этокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (213): Аналог TubOEt в положении Пе получали в соответствии с общим способом, описанным выше, используя (S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-циклогексилпропановую кислоту на стадии 2, с получением 213 (1,72 мг). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,87$ мин, m/z (ES+) вычислено 754,5 (M+H)⁺, найдено 754,4.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-3-(трет-Бутокси)-N-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)бутанамидо)-1-этокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (214): Аналог TubOEt в положении Пе получали в соответствии с общим способом, описанным выше, используя N-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)-O-(трет-бутил)-L-аллотреонин на стадии 2, с получением 214 (2,31 мг). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,77$ мин, m/z (ES+) вычислено 758,5 (M+H)⁺, найдено 758,4.

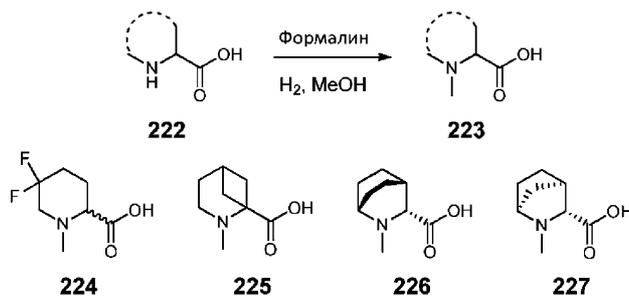
(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3R)-3-(трет-Бутокси)-N-метил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)бутанамидо)-1-этокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (215): Аналог TubOEt в положении Пе получали в соответствии с общим способом, описанным выше, используя N-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)-O-(трет-бутил)-L-треонин на стадии 2, с получением 215 (2,35 мг). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,76$ мин, m/z (ES+) вычислено 758,5 (M+H)⁺, найдено 758,4.

Общая процедура получения D-Мер заменяющих аналогов T-Мер: стадия 1: удаление Fmoc. Смолу, нагруженную Fmoc-MeN-TuvOEt-Tур, как приготовлено выше, обрабатывали 1 мл 20% пиперидина в ДМФА в течение 30 мин. Раствор удаляли и затем смолу 3 раза промывали 1,5 мл ДМФА. Стадия 2. Присоединение аминокислоты. В отдельном флаконе объединяли 0,5 мл 240 мМ раствора FmocHN-Пе-СООН в ДМФА и 0,5 мл 200 мМ раствора НАТУ в ДМФА и добавляли DIPEA (45 мкл, 0,24 ммоль). Через 2 мин активированный Fmoc-Пе раствор добавляли к смоле и осторожно перемешивали в течение 2 ч. Смолу обрабатывали второй раз раствором активированной Fmoc-Пе аминокислоты в течение 2 ч. Затем раствор удаляли и смолу промывали 3 раза по 1,5 мл ДМФА. Стадия 3. Удаление Fmoc. Смолу, нагруженную FmocHN-Пе-TuvOEt-Tур, обрабатывали 1 мл 20% пиперидина в ДМФА в течение 30 мин. Раствор удаляли и затем смолу 3 раза промывали по 1,5 мл ДМФА. Стадия 4. Присоединение Мер аналога. В отдельном флаконе объединяли 0,5 мл 240 мМ раствора Мер аналога в ДМФА и 0,5 мл 200 мМ раствора НАТУ в ДМФА и добавляли DIPEA (45 мкл, 0,24 ммоль). Через 2 мин активированный Мер аналогом

раствор добавляли к смоле и осторожно перемешивали в течение 2 ч. Смолу обрабатывали во второй раз активированным Мер аналогом раствором в течение 2 ч. Раствор удаляли и смолу промывали 3 раза по 1,5 мл ДМФА, а затем 3 раза промывали по 1,5 мл DCM. Стадия 5. Отщепление от смолы. Каждую смолу обрабатывали в течение 90 мин 20%-ным раствором HFIP в DCM. Раствор удаляли и смолу промывали дополнительными 0,5 мл 20% HFIP в DCM. Объединенные растворы фильтровали через 45-микронный шприцевой фильтр и концентрировали досуха, чтобы получить аналоги 216-221 (как показано непосредственно ниже). Аналоги были получены с чистотой >85% по данным анализа УРЖХ-МС и хроматографии с диодно-матричным детектированием.



Общая методика N-метилирования D-Мер аналогов (224-227). Коммерчески доступные аналоги пипекониновой кислоты (см. 222, 0,30 ммоль) растворяли в смеси 0,4 мл метанола и раствора 37% формальдегида в воде (0,23 мл, 3,0 ммоль). добавляли Pd/C (10 мас.%, 10 мг), колбу снабжали баллоном, заполненным водородом, и реакционную смесь перемешивали в течение ночи. Pd удаляли фильтрованием через слой из целита и концентрировали с помощью упаривания на роторе. Полученный остаток концентрировали из 2,0 мл метанола еще 5 раз с получением желаемых N-метилированных аналогов пипекониновой кислоты 224-227.



5,5-Дифтор-1-метилпиперидин-2-карбоновая кислота (224): 5,5-дифторпиперидин-2-карбоновую кислоту (50 мг, 0,30 ммоль) метилировали с использованием способа, описанного выше, с получением 5,5-дифтор-1-метилпиперидин-2-карбоновой кислоты (224, 47 мг, 87%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=0,32$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 180,1 (M+H)⁺, найдено 180,0.

2-Метил-2-азабицикло[3.1.1]гептан-1-карбоновая кислота (225): гидроклорид 2-азабицикло[3.1.1]гептан-1-карбоновой кислоты (53 мг, 0,30 ммоль) метилировали с использованием способа, описанного выше, с получением 2-метил-2-азабицикло[3.1.1]гептан-1-карбоновой кислоты (225, 60 мг, количественный выход). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=0,39$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 156,1 (M+H)⁺, найдено 156,1.

(1S,3R,4S)-2-Метил-2-азабицикло[2,2,2]октан-3-карбоновая кислота (226): (1S,3R,4S)-2-азабицикло[2,2,2]октан-3-карбоновую кислоту (47 мг, 0,30 ммоль) метилировали с использованием способа, описанного выше, с получением (1S,3R,4S)-2-метил-2-азабицикло[2,2,2]октан-3-карбоновой кислоты (226, 53 мг, количественный выход). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=0,40$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 170,1 (M+H)⁺, найдено 170,0.

(1S,3R,4R)-2-Метил-2-азабицикло[2,2,1]гептан-3-карбоновая кислота (227): (1S,3R,4R)-2-(трет-бутоксикарбонил)-2-азабицикло[2,2,1]гептан-3-карбоновую кислоту (73 мг, 0,30 ммоль) растворяли в 1,0 мл DCM, затем добавляли 0,30 мл ТФУ и реакционную смесь перемешивали в течение 1,5 ч для удаления защитной группы Boc. Реакционную смесь разбавляли 3 мл толуола и концентрировали досуха с получением (1S,3R,4R)-2-азабицикло[2,2,1]гептан-3-карбоновой кислоты. Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=0,85$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 142,1 (M+H)⁺, найдено 142,1. Промежуточное соединение (1S,3R,4R)-2-азабицикло[2,2,1]гептан-3-карбоновую кислоту затем метилировали с использованием способа, описанного выше, с получением соли трифторуксусной кислоты (1S,3R,4R)-2-метил-2-азабицикло[2,2,1]гептан-3-карбоновой кислоты (227, 66 мг, 83%). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=0,89$ мин, m/z (ES⁺) вычислено 156,1 (M+H)⁺, найдено 156,1.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-(5,5-Дифтор-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)-N,3-диметилпентанамидо)-1-этокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (216). Аналог TubOEt в положении Мер получали в соответствии с общим способом, описанным выше, используя рацемическую 5,5-дифтор-1-метилпиперидин-2-карбоновую кислоту (224, полученную выше)

на стадии 4, с получением 216 (3,05 мг) в виде смеси эимеров. Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): Эимер 1: $t_r=2,06$ мин, m/z (ES+) вычислено 750,4 (M+H)⁺, найдено 750,3; Эимер 2: $t_r=2,10$ мин, m/z (ES+) вычислено 750,4 (M+H)⁺, найдено 750,4.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-Диметил-2-(2-метил-2-азабицикло[3.1.1]гептан-1-карбоксамидо)пентанамидо)-1-этокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (217): Аналог TubOEt в положении Мер получали в соответствии с общим способом, описанным выше, используя 2-метил-2-азабицикло[3.1.1]гептан-1-карбоновую кислоту (225, полученную выше) на стадии 4, с получением 217 (4,44 мг). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,69$ мин, m/z (ES+) вычислено 726,4 (M+H)⁺, найдено 726,3.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-Диметил-2-((1S,3R,4S)-2-метил-2-азабицикло[2,2,2]октан-3-карбоксамидо)пентанамидо)-1-этокси-4-метил-пентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (218). Аналог TubOEt в положении Мер получали в соответствии с общим способом, описанным выше, используя (1S,3R,4S)-2-метил-2-азабицикло[2,2,2]октан-3-карбоновую кислоту (226, полученную выше) на стадии 4, с получением 218 (3,35 мг). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,74$ мин, m/z (ES+) вычислено 740,4 (M+H)⁺, найдено 740,6.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-Диметил-2-((1S,3R,4R)-2-метил-2-азабицикло[2,2,1]гептан-3-карбоксамидо)пентанамидо)-1-этокси-4-метилпентил)-тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (219). Аналог TubOEt в положении Мер получали в соответствии с общим способом, описанным выше, используя (1S,3R,4R)-2-метил-2-азабицикло[2,2,1]гептан-3-карбоновую кислоту (227, полученную выше) на стадии 4, с получением 219 (2,82 мг). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,70$ мин, m/z (ES+) вычислено 726,4 (M+H)⁺, найдено 726,4.

(2S,4R)-4-(2-((3R,6S,9R,11R)-6-((S)-Втор-бутил)-3,9-диизопропил-2,8-диметил-4,7-диоксо-12-окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (220). Аналог TubOEt в положении Мер получали в соответствии с общим способом, описанным выше, используя N,N-диметил-D-валин на стадии 4, с получением 220 (3,51 мг). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,72$ мин, m/z (ES+) вычислено 716,4 (M+H)⁺, найдено 716,3.

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-((R)-1,2-Диметилпирролидин-2-карбоксамидо)-N,3-диметилпентанамидо)-1-этокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (221): Аналог TubOEt в положении Мер получали в соответствии с общим способом, описанным выше, используя (R)-1,2-диметилпирролидин-2-карбоновую кислоту на стадии 4, с получением 221 (2,90 мг). Аналитическая СВЭЖХ-МС (система 1): $t_r=1,67$ мин, m/z (ES+) вычислено 714,4 (M+H)⁺, найдено 714,4.

In vitro анализы. Клетки, культивируемые в log-фазе роста, высевали в течение 24 ч в 96-луночные планшеты, содержащие 150 мкл RPMI 1640, дополненной 20% FBS. Серийные разведения конъюгатов лекарственных соединений с антителом в среде для культивирования клеток готовили в 4× рабочих концентрациях; 50 мкл каждого разведения добавляли в 96-луночные планшеты. После добавления ADC клетки инкубировали с исследуемыми препаратами в течение 4 дней при 37°C. Через 96 ч ингибирование роста оценивали с помощью CellTiter-Glo® (Promega, Madison, WI) и люминесценцию измеряли на планшет-ридере. Значение IC₅₀, определенное трехкратно, определяется в настоящем документе как концентрация, которая приводит к 50% снижению роста клеток по сравнению с необработанными контролями.

In vivo ксенотрансплантатные модели. Все эксперименты проводились в соответствии с требованиями Комитета по уходу и использованию животных в учреждении, полностью контролируемым Ассоциацией по оценке и аккредитации содержания лабораторных животных. Эксперименты по оценке эффективности были проведены на лимфоме Ходжкина L540cy, Karpas:KarpasBVR анапластическая крупноклеточная лимфома, MDR+DELBVR анапластическая крупноклеточная лимфома и MDR+786-O ксенотрансплантатная модель почечно-клеточного рака. Опухолевые клетки имплантировали подкожно SCID мышам с иммунодефицитом. Опухолевые клетки в виде клеточной суспензии имплантировали подкожно SCID мышам с иммунодефицитом. После приживления опухоли мышей случайным образом распределяли в исследуемые группы, когда средний объем опухоли достигал около 100 мм³. ADC или контроли вводили однократно посредством внутрибрюшинной инъекции. Объем опухоли как функцию времени определяли по формуле $(L \times W^2)/2$. Животных умерщвляли, когда объемы опухолей достигали 1000 мм³. Мыши, показывающие длительную регрессию были умерщвлены около на 100 день после имплантации.

ADC Фармакокинетические (PK) эксперименты. Фармакокинетические (PK) эксперименты проводили с использованием радиоактивно меченного антитела или ADC. Исследуемые на PK препараты помечали радиоактивным изотопом с использованием следующей процедуры. К раствору антитела или ADC в PBS, дополненном еще 50 mM фосфатом калия (pH 8,0) и 50 mM хлорида натрия, добавляли 55 мкКи N10 сукцинимидилпропионата, [пропионат-2,3-3H]- (Moravek Biochemicals, Cat. №: MT 919, 80 Ки/ммоль, 1 мКи/мл, раствор 9:1 гексан:этилацетат) на мг антитела или ADC. Полученную смесь встряхивали и оставляли при комнатной температуре на 2 ч. Смесь центрифугировали при 4000 g в течение 5 мин и нижний водный слой удаляли и разделяли на центробежных фильтр блоках Amicon Ultra-15 (Milli-

porc, Cat. №: UFC903024, 30 кДа, MWCO). Неконъюгированную радиоактивность удаляли 4 раундами разбавления и центрифугирования при 4000×g. Полученные продукты фильтровали через стерильные центробежные фильтр блоки Ultrafree-MC 0,22 мкм (Millipore, Cat. №: UFC30GV0S) и конечную концентрацию антитела или ADC измеряли спектрофотометрически. Специфическую активность (мкКи/мг) каждого продукта определяли с помощью жидкостной сцинтилляционной детекции.

Фармакокинетические свойства неконъюгированного антитела или ADC были исследованы на нескольких моделях грызунов. В каждом эксперименте через хвостовую вену вводили 1-3 мг радиоактивно меченного антитела или ADC на кг массы животного. Каждый исследуемый препарат дозировали однократно животным с повторением эксперимента. Кровь забирали в пробирки K2EDTA через подкожную вену или пункцию сердца для терминальной крови в различные моменты времени. Плазму выделяли центрифугированием в течение 10 мин при 10000×g. 10-20 мкл образца плазмы из каждой временной точки добавляли к 4 мл жидкого сцинтилляционного коктейля Ecoscint-A (National Diagnostics) и общую радиоактивность измеряли путем 5 подсчетов сцинтилляций в жидкости. Полученные значения распадаемости в минуту были преобразованы в мкКи, и специфическая активность радиоактивно меченных исследуемых препаратов была использована для расчета концентрации антител или ADC, остающихся в плазме в каждый момент времени.

In vitro анализы - лекарственные соединения без тубулизина. Клетки обрабатывали в течение 96 ч аналогами тубулизинового эфира (40-42) или тубулизином М (7), затем оценивали на жизнеспособность, как описано в методах.

Таблица 1

соед	лекарственное вещество	Karpas299, ALCL	L540cy, HL	L428, MDR+HL	HL60, AML	HL60/RV, MDR+ ML
7	TubM	0,17	0,14	0,11	0,3	2,2
40	TubOMe	0,19	0,12	0,5	0,13	29
41	TubOEt	0,05	0,05	0,14	0,05	5
42	TubOPr	0,15	0,13	0,4	0,17	14

Значения IC₅₀ (нМ) в табл. 1 показывают, что все четыре исследуемые препарата были высокоэффективными для каждой линии клеток. Этиловый эфир тубулизина (41) имеет тенденцию проявлять большую активность, чем метиловый (40) и пропиловый (42) аналоги. Этиловый эфир и тубулизин М поддерживали наивысший уровень активности в отношении клеточных линий MDR+L428 и HL60/RV.

Таблица 2

соед	лекарственное вещество	Karpas299, ALCL	L540cy, HL	L428, MDR+HL	HL60, AML	HL60/RV, MDR+AML
7	TubM	0,04	0,08	0,04	0,15	1
133	Tub-пропионат	0,02	0,06	0,04	0,1	1
135	Tub-изобутират	0,02	0,1	0,12	0,1	6
134	Tub-бутират	0,011	0,04	0,05	0,08	3
136	Tub-изовалерат	0,02	0,06	0,11	0,04	6
137	Tub-3,3-ди-Метилбутират	0,18	0,7	0,93	0,7	47
176	Tub-метил-(пропен-2-ил)	0,12	0,06	0,12	0,07	6
177	Tub аллиловый эфир	0,02	0,12	0,15	0,1	9
178	Tub пропаргиловый эфир	0,05	0,17	0,41	0,2	27
179	Tub бензиловый эфир	0,08	0,4	0,57	0,4	24

Аналоги сложного эфира тубулизина (133-137) и аналоги ненасыщенного простого эфира (176-179) исследовали *in vitro* на активность в отношении тубулизина М (7) после 96-часового воздействия. Как показывают значения IC_{50} (нМ) в табл. 2, сложные эфиры тубулизина 133-136 действовали сравнимо с тубулизином М с аналогичной эффективностью в клеточных линиях. Наиболее затрудненный, объемный аналог тубулизина (137) показал пониженную активность по сравнению с тубулизином М, при этом потери эффективности варьировались от 5 до 47 раз по сравнению с тубулизином М.

Ненасыщенные простые эфиры тубулизина 176 и 177 показали сравнимую эффективность по сравнению с исходным тубулизином 7. Напротив, пропаргиловый (178) и бензиловый (179) эфиры тубулизина были слабее по эффективности по сравнению с тубулизином 7.

Ряд аналогов соединений этилового эфира тубулизина TubOEt (41) были синтезированы на твердофазных смолах, которые поддерживают замещение этилового эфира, изменяя остаток либо в положении Ile (203-215), либо в положении Met (216-221). После отщепления от твердой фазы получали аналоги с чистотой $\geq 85\%$ и их исследовали без дополнительной очистки. Соединения исследовали *in vitro* на активность в отношении образца TubOEt, синтезированного параллельно на смоле (41-смола), после 96-часового воздействия, со значениями IC_{50} , выраженными в нМ (табл. 3). Хотя во многих случаях наблюдалось ослабление активности относительно 41-смолы, были обнаружены некоторые хорошо переносимые замены. В положении Ile циклические заместители R⁵ циклопентил (204) и циклогексил (205) дают эффективные соединения; однако аналог тетрагидропиранила (210) был неактивен в отношении всех исследованных клеточных линий. Кроме того, при замене Ile на allo-Ile (209) наблюдается потеря эффективности в 25-40 раз. Хотя это стереохимическое предпочтение не наблюдается при замене Ile на O-метилтреонин (207) или O-метилаллотреонин (206), более объемные заместители приводят к большей дифференциации. В частности, замена на O-трет-бутилтреонин (215) ает аналог, значительно более сильный, чем соответствующее O-трет-бутилаллотреониновое соединение 216. Замена остатка Met обычно менее хорошо переносима. Наиболее эффективные соединения, полученные в этой серии (217 и 221), имеют замещение в 4- и 2-положении ядра пиперидина или пирроллидин-2-карбоновой кислоты, соответственно. Замена в 5-положении (216) или 6-положении (218 и 219) приводила к снижению наблюдаемой цитотоксичности, особенно в клеточной линии HL60/RV.

Таблица 3

соединение	Заменный остаток	HepG2, HCC	L540cy, HL	Ramos, NHL	U266 MM	HL60, AML	HL60/RV, MDR+AML
41-lantern	NA	2	0,3	0,3	0,3	4	94
203	Ile	8	1	0,4	0,5	8	604
204	Ile	2	0,4	0,2	0,1	1	40
205	Ile	7	1	0,5	0,5	2	177
206	Ile	41	6	2	3	16	>1000
207	Ile	46	6	2	2	9	>1000
208	Ile	250	58	44	40	221	>1000
209	Ile	50	12	7	8	15	>1000
210	Ile	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
211	Ile	14	2	1	2	5	224
212	Ile	19	2	1	1	8	810
213	Ile	70	20	10	9	42	>1000
214	Ile	91	30	20	22	190	>1000
215	Ile	1	0,2	0,2	0,1	1	33
216	Met	58	12	10	9	61	>1000
217	Met	2	1	0,4	0,4	4	244
218	Met	9	5	6	7	24	>1000
219	Met	19	6	8	8	25	>1000
220	Met	41	13	10	10	299	>1000
221	Met	4	1	1	2	12	522

In vitro анализы - тубулизиновые ADC. ADC были получены путем полного восстановления межцепочечных дисульфидов для выявления 8-конъюгируемых цистеинов/антител, которые были алкилирова-

ны посредством присоединения по Михаэлю, с соединениями малеимид-содержащих лекарственных соединений с линкером. Конъюгаты анти-CD30, содержащие кватернизованные простые эфиры тубулизина с боковой цепью PEG12 и без нее, сравнивали с их аналогами тубулизина М. Клетки обрабатывали конъюгатами сAC10 (анти-CD30), нагруженными при концентрации 8 лекарственное соединение/Ab в течение 96 ч, а затем оценивали на жизнеспособность. Значения IC₅₀ (нг/мл) приведены в табл. 4.

Таблица 4

сAC10 ADC DAR 8 лек. в- во- линкер	описание	Karpas299, ALCL	L540cy, HL	L428, MDR+HL	DEL, ALCL	DEL/BVR, MDR+ALCL
82	glucQ-TubM	0,6	4	0,5	2	3
56	glucQ-TubOMe	3	10	>1000	2	20
57	glucQ-TubOEt	1	5	4	2	5
58	glucQ-TubOPr	2	6	117	2	10
99	PEG12-glucQ-TubM	0,3	2	0,5	1	2
66	PEG12-glucQ-TubOEt	1	5	6	2	6
67	PEG12-glucQ-TubOPr	4	10	>1000	2	12

Конъюгат, содержащий линкер 57 этилового эфира тубулизина, был последовательно более эффективным, чем метиловый (56) или пропиловый (58) аналоги. За исключением L428, линкер 57 этилового эфира тубулизина действовал аналогично аналогу 82 тубулизина М. Наличие боковой цепи PEG12 в линкере оказывало минимальное влияние на активность конъюгата. Все ADC были неактивными (отсутствии эффекта при 1000 нг/мл) в CD30-негативной клеточной линии Ramos NHL, что указывает на высокую степень иммунологической специфичности.

Таблица 5

сAC10 ADCs 8 лекарственное вещество/mAb лекарственное вещество- линкер	MDPR- Линкер- TubM	L540cy, HL	L428 MDR+ HL	DEL, ALCL	DEL/B VR, MDR+ ALCL	Нер3В CD30- HCC
15	ValAlaPABQ	2	1	0,3	4	>1000
82	glucQ	1	0,4	0,3	4	>1000
91	ValGluPABQ	1	0,3	0,1	2	>1000
95	PEG12- ValGluPABQ	0,8	0,2	0,1	2	>1000

Несколько гидрофильных линкерных конструкций, включающих кватернизованный тубулизин М, были получены и оценены *in vitro*; результаты приведены в табл. 5. Данные (значения IC₅₀ в нг/мл) указывают на то, что конъюгаты, полученные из соединений лекарственного соединения с линкером, имеющие кватернизованный тубулизин М, связанные через гидрофильный дипептид ValGlu с (95) или без (91) боковой цепи PEG12 или связанные через гидрофильный глюкуронид (82), предоставляют ADC, которые обладают одинаковой эффективностью по сравнению с ValAla (15). Все конъюгаты демонстрировали высокую степень иммунологической специфичности: IC₅₀s > 1000 нг/мл на антиген-негативных клетках гепатоцеллюлярной карциномы Нер3В.

In vivo ксенотрансплантатные модели - сравнение дипептид- и глюкуронид-связанного тубулизинов. Четвертичный амин-связанный тубулизин М, конъюгированный с дипептидным линкером ValAla

(15) и глюкуронидом (82), сравнивали на модели ксенотрансплантата лимфомы Ходжкина CD30+L540су с этиловым эфиром тубулизина, связанным с глюкуронидом (57). Было показано, что глюкуронидное лекарственное соединение с линкером обладает улучшенными физико-химическими и фармакокинетическими конъюгатными свойствами по сравнению с дипептидными линкерами в отношении для полезных нагрузок ADC (Bioconjugate Chem., 2006, 17, 831-840; Nature Biotech, 2014, 32, 1059-1062). Конъюгаты нагружали при 4 лекарственных соединения/ mAb, чтобы минимизировать эффекты ADC ПК. Результаты исследований представлены на фиг. 1. Мышам с опухолью внутрибрюшинно вводили однократную дозу исследуемого препарата, как только средний объем опухоли достигал 100 мм³ на 7 день. Значительно большую конъюгатную активность наблюдали, когда тубулизин М (7) конъюгировали в кватернизованной форме в виде глюкуронида в сАС10-82. У мышей, получавших однократную дозу 0,6 мг/кг сАС10-82, 5/5 достигался длительный полный регресс. Напротив, в исследуемой группе, обработанной одной дозой 0,6 мг/кг дипептидного конъюгата ValAla, сАС10-15, имелось одно излечение, при этом у остальных мышей наблюдалась временная задержка роста опухоли. Более высокая доза 2 мг/кг дипептидного конъюгата также уступала глюкурониду, и только 2/5 мышей излечивались на 78-й день. Таким образом, конъюгат на основе глюкуронида, несущий тубулизин 7, был более чем в 3 раза более активным, чем соответствующий контрольный дипептид Val-Ala. Аналогично, этиловый эфир тубулизина, связанный с глюкуронидом (41) в форме конъюгата сАС10-57, также был высоко активным. Однократная доза 0,6 мг/кг сАС10-57 вызывала 5/5 длительный полный регресс.

In vivo ксенотрансплантатные модели - эффект ПЭГилирования с конъюгатами DAR 8. Недавно авторами сообщалось, что добавление боковой цепи PEG к лекарственному соединению глюкуронид-монометилауристатина E с линкером обеспечивает улучшенные фармакологические свойства ADC с ADC, нагруженными 8-лекарственных соединений/ mAb (Nature Biotech, 2014, 32, 1059-1062). Боковая цепь PEG12 была включена во фрагмент лекарственного соединения на основе связанного с четвертичными аминогруппами этилового эфира и пропилового эфира тубулизина с линкером с получением конъюгатов сАС10-66 и с-АС10-67, соответственно. Конъюгаты анти-CD30 сАС10, нагруженные в концентрации 8 лекарственных соединений/ mAb, были получены и оценены относительно аналогов не-ПЭГилированных аналогов этилового (сАС10-57) и пропилового (сАС10-58) эфиров на ксенотрансплантатной модели L540су. Результаты показаны на фиг. 2. Для глюкуронидных конструкций с этиловым и пропиловым эфиром включение PEG12 приводило к усилению противоопухолевой активности. В случае этилового эфира, не-ПЭГилированный конъюгат сАС10-57 вызывал задержку роста опухоли у мышей, получавших однократную дозу 0,5 мг/кг; тогда как ПЭГилированный вариант сАС10-66 обеспечивал излечение у 5/5 мышей при той же дозе антитела. Для пропилового эфира, не-ПЭГилированный конъюгат сАС10-58 вызывал задержку роста опухоли с ростом примерн на 40 день у мышей, получавших однократную дозу 0,5 мг/кг; тогда как ПЭГилированный вариант сАС10-67 задерживал далее рост около до 60 дня.

ПЭГилированную версию глюкуронид-тубулизина М, обозначаемую как линкер 99, также исследовали на ксенотрансплантате CD30 + L540су в виде конъюгата DAR 8 сАС10. Как указано выше, мышам с опухолями внутрибрюшинно вводили однократную дозу 0,5 мг/кг исследуемого препарата, как только средний объем опухоли достигал 100 мм³ на 8 день. Подобно конструкции ПЭГилированного этилового эфира (сАС10-66) и конъюгат ПЭГилированного тубулизина М сАС10-99 вызывал 5/5 излечение у мышей, получавших 0,5 мг/кг.

Подмножество конъюгатов лекарственных соединения с антителом оценивали при более низких дозах на L540су ксенотрансплантатной модели. Конъюгаты анти-CD30, несущие ПЭГилированные фрагменты лекарственных соединений с линкером, содержащие кватернизованный тубулизин М (сАС10-99) или этиловый эфир кватернизованного тубулизина (сАС10-66), конъюгировали при концентрации 8 лекарственных соединений/ mAb. Подобным образом, были получены конъюгаты анти-CD30, несущие не-ПЭГилированные фрагменты глюкуронидных лекарственных соединений с линкером, содержащие кватернизованный тубулизин М (сАС10-82) или этиловый эфир кватернизованного тубулизина (сАС10-57), или вариант дипептида Val-Ala, содержащий кватернизованный тубулизин М (сАС10-15) в 4-лекарственными соединениями/ mAb. Мышам с опухолями вводили одну дозу каждого конъюгата в дозе 0,15 или 0,3 мг/кг после того, как опухоль достигла приблизительно 100 мм³. Результаты показаны на фиг. 8. При более низкой дозе 0,15 мг/кг для всех конъюгатов наблюдалась задержка роста опухоли, причем самая длительная задержка наблюдалась у мышей, обработанных конъюгатом (сАС10-66), несущим ПЭГилированные фрагменты лекарственных соединений с линкером, содержащим этиловый эфир кватернизованного тубулизина в кватернизованных лекарственных звеньях. При дозе 0,3 мг/кг длительный полный регресс наблюдался у 2/6 мышей, получавших ADC, несущий не-ПЭГилированные фрагменты глюкуронидных лекарственных соединений с линкером, содержащие этиловый эфир кватернизованного тубулизина (сАС10-57) в лекарственных звеньях, и у 3/6 мышей, обработанных конъюгатами, несущими как ПЭГилированные фрагменты глюкуронидных лекарственных соединений с линкером, содержащие кватернизованный тубулизин М (сАС10-99) или этиловый эфир кватернизованного тубулизина (сАС10-66) в лекарственных звеньях.

In vivo ксенотрансплантатные модели - демонстрация bystander-эффекта. ПЭГилированные конст-

рукции были исследованы на ксенотрансплантатной модели Karpas:KarpasBVR bystander-активности. Равное количество клеток CD30⁺ Karpas299 и CD30:KarpasBVR инъецировали подкожно для установления опухолевой массы с гетерогенной популяцией антиген-положительных и отрицательных клеток. Конъюгаты, несущие заряды, неспособные свободно диффундировать через плазматические мембраны, проявляют минимальную активность. Были оценены конъюгаты анти-CD30 сAC10, нагруженные в концентрации 8 лекарственных соединений/mAb с ПЭГилированными фрагментами глюкуронидных лекарственных средств с линкером, несущие кватернизованный тубулизин M (сAC-10-99), этиловый эфир кватернизованного тубулизина (сAC10-66) и метил-(пропен-2-ил) эфир (сAC10-185) кватернизованного тубулизина. Как указано выше, мышам с опухолями внутрибрюшинно вводили однократную дозу 0,5 мг/кг исследуемого препарата, как только средний объем опухоли достигал 100 мм³ на 6 день. Результаты показаны на фиг. 4. Все мыши, обработанные конъюгатами, содержащими этиловый эфир кватернизованного тубулизина (сAC10-66 и сAC10-185), достигали полного регресса опухоли на 41-й день исследования. Конъюгат кватернизованного тубулизина M (сAC10-99) проявлял более вариабельную активность: у 2/5 мышей был достигнут полный регресс на 41 день, а у остальных 3/5 мышей наблюдался временный регресс опухоли.

In vivo ксенотрансплантатные модели - демонстрация активности на моделях MDR+. Конъюгаты, несущие ПЭГилированные конструкции, были исследованы на моделях почечно-клеточного рака MDR+ 786-О и ксенотрансплантатных моделях анапластической крупноклеточной лимфомы DELBVR. Конъюгаты анти-CD70 (mAb=h1F6) нагружали в концентрации 8 лекарственных соединений/mAb ПЭГилированными фрагментами глюкуронидных лекарственных соединений с линкером, содержащими кватернизованный тубулизин M (сAC10-99), этиловый эфир кватернизованного тубулизина (сAC10-66) или метилпропенового эфира кватернизованного тубулизина (сAC10-185) в лекарственных звеньях. Мышам с опухолями почечно-клеточной карциномы CD70⁺ 786-О вводили однократно исследуемые препараты в дозе 0,5 или 1 мг/кг после того, как опухоль достигла приблизительно 100 мм³. Результаты показаны на фиг. 9. Задержка роста опухоли наблюдалась у мышей, получавших ADC, конъюгированный с кватернизованным тубулизином M (сAC10-99) в дозе 0,5 мг/кг, или с ADC, конъюгированными с этиловым эфиром кватернизованного тубулизина (сAC10-66) в дозе 1,5 мг/кг. Более высокая доза в 1,5 мг/кг конъюгата кватернизованного тубулизина M (сAC10-99) вызывала 5/5 длительного полного регресса. ADC, имеющие подмножество линкеров, также были исследованы на экспрессирующей MDR+, CD30 ксенотрансплантатной модели анапластической крупноклеточной лимфомы DELBVR. Конъюгаты анти-CD30 (mAb=sAC10), несущие ПЭГилированные фрагменты лекарственных соединений с линкером, содержащие кватернизованный тубулизин M (сAC10-99) и этиловый эфир кватернизованного тубулизина (сAC10-66), конъюгировали при 8-лекарственных соединений/mAb. Подобным образом, конъюгаты анти-CD30, несущие неПЭГилированные фрагменты глюкуронидных лекарственных соединений с линкером, содержащие кватернизованный тубулизин M (сAC10-82) и этиловый эфир кватернизованного тубулизина (сAC10-57) и дипептидную версию Val-Ala кватернизованного тубулизина M (сAC10-15) были конъюгированы в дозе 4 лекарственных соединений/mAb. Мышам, несущим опухоли, вводили однократную дозу исследуемых препаратов в дозе 0,3 или 1 мг/кг после того, как опухоль достигла приблизительно 100 мм³. Результаты показаны на фиг. 10. При дозе 0,3 мг/кг конъюгаты, имеющие ПЭГилированные фрагменты глюкуронидных лекарственных соединений с линкером, содержащие этиловый эфир кватернизованного тубулизина (сAC10-66), давали 2/5 длительный полный регресс, и имеющие ПЭГилированные фрагменты глюкуронидных лекарственных соединений с линкером, содержащие кватернизованный тубулизин M (сAC10-99), обеспечивали 5/5 длительного полного регресса. При более высокой дозе в 1 мг/кг длительный полный регресс наблюдался с не-ПЭГилированными конъюгатами глюкуронид этиловый эфир тубулизина (1/5, сAC10-57) и тубулизина M (5/5 мышей излечены, сAC10-82). В ПЭГилированных сериях доза 1 мг/кг обеспечивала 4/5 и 5/5 длительный полный регресс для конъюгатов глюкуронид-этиловый эфир тубулизина (сAC10-66) и тубулизина M (сAC10-99), соответственно.

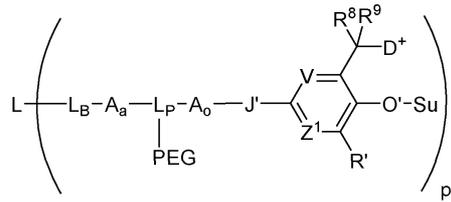
Фармакокинетическая оценка на крысах. На фиг. 5-7 представлены профили клиренса различных конструкций линкера тубулизина с четвертичным амином. Во всех экспериментах крысам вводили однократно внутривенную дозу 1 мг/кг в нулевой момент времени с радиоактивно мечеными ADC. Образцы плазмы собирали в различные моменты времени и анализировали, как описано, для количественной оценки общего антитела как функции времени. На фиг. 5 представлены профили воздействия гуманизированных IgG-конъюгатов, полученных из соединения лекарственного соединения с линкером M DPR-Val-Ala-PAVQ-TubM (15) и гидрофильных соединений лекарственного соединения с линкером M DPR-GluC-TubM (82) M DPR-val-glu-TubM(91) и M DPR-val-glu (PEG12)-TubM (9). Гуманизированный IgG, несущий четыре копии кватернизованного TubM, связанного с дипептидом al-Ala (hIgG 15), имел профиль клиренса, идентичный немодифицированному антителу; однако, при DAR 8 ADC выводился из циркуляции намного быстрее. Замена аланинового остатка hIgG-15 на глутаматный остаток, обеспечивающий IgG-91, не приводила к заметному увеличению воздействия. Добавление боковой цепи PEG12 к линкеру val-glu в hIgG-91, приводящее к hIgG-95, обеспечивало увеличение воздействия ADC. Аналогичным образом, замена дипептида Val-Ala в IgG-15 на глюкуронидное звено, обеспечивающая hIgG-82, действительно приводила к увеличению конъюгатного воздействия на конъюгаты DAR 8.

На фиг. 6 показано воздействия РК на конъюгаты DAR 8 с гуманизированным IgG, несущие фрагменты лекарственных соединений глюкуронид пропиловый эфир тубулизида, связанного с четвертичным амином, с линкером в отсутствие (hIgG-58) и в присутствии (hIgG-67) боковой цепи PEG12. Конъюгат, несущий 8 копий фрагментов кватернизированных лекарственных соединений с линкером из соединения лекарственного соединения с линкером MDPPr-glucQ-TubOPr (58), выводился из циркуляции намного быстрее, чем немодифицированное антитело. Добавление боковой цепи PEG12, обеспечивающей hIgG-67, значительно улучшило воздействие, более близко приближая к РК свойствам голого антитела.

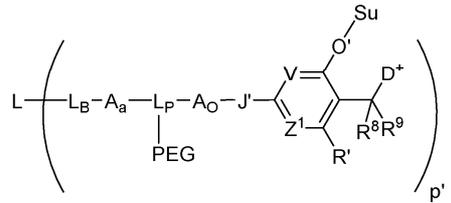
РК воздействие конъюгатов DAR 8 с гуманизированным IgG, содержащих ПЭГилированные фрагменты глюкуронидных лекарственных соединений с линкером, имеющие лекарственные звенья кватернизированного тубулизина М (hIgG-99) и этилового эфира кватернизированного тубулизина (hIgG-66), показаны на фиг. 7. Оба конъюгата демонстрировали длительное воздействие, близко приближающееся к линии, представляющей среднее известное из литературы воздействие для родительского антитела.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

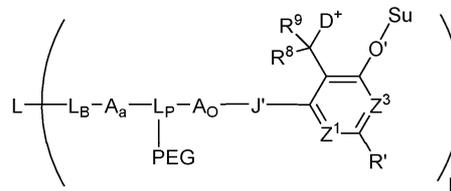
1. Конъюгат лекарственного средства с лигандом, представленный структурой одной из формул 2А-2F



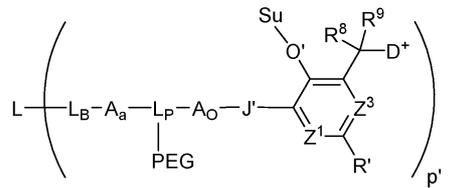
(Формула 2А)



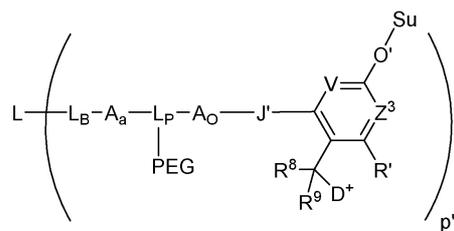
(Формула 2В)



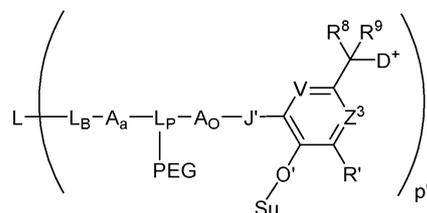
(Формула 2С)



(Формула 2D)



(Формула 2E)



(Формула 2F)

или его соль,

L представляет собой лигандное звено из антитела;

L_B представляет собой звено, ковалентно связывающее лиганд;

L_P представляет собой параллельное соединительное звено, где L_P представляет собой аминокан-дионовую кислоту, диаминоалкановую кислоту, серозамещенную алкандионовую кислоту, серозамещенную аминокан-дионовую кислоту, диаминоалканол, аминокан-диол, гидроксилзамещенную алкандионовую кислоту, гидроксилзамещенную аминокан-дионовую кислоту или серозамещенный остаток аминокан-диола, необязательно замещенные, где заместитель, содержащий серу, находится в восстановленном или окисленном виде или L_P представляет собой аминокислотный остаток лизина, аргинина, аспарагина, глутамина, орнитина, цитруллина, цистеина, гомоцистеина, пеницилламина, треонина, серина, глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, тирозина, гистидина или триптофана, где аминокислота имеет D- или L-конфигурацию;

PEG представляет собой полиэтиленгликолевое звено;

индекс a обозначает 0 или 1;

A представляет собой первое необязательное расширяющее звено, таким образом, когда индекс a обозначает 0, A отсутствует, или, когда индекс a обозначает 1, A присутствует и необязательно включает два, три или четыре независимо выбранных субъединицы (A₁, A₂, A₃, A₄);

A₀ представляет собой второе необязательное расширяющее звено и необязательно включает два, три или четыре субъединицы независимо от A;

Su представляет собой углеводный фрагмент;

-O'- представляет собой атом кислорода O-гликозидной связи, расщепляемой гликозидазой;

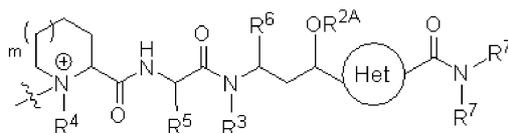
J'- представляет собой -O-, -N(R³³)- или -S-, связанные непосредственно с A₀ или его субзвеном, или с L-L_B-L_P(PEG)- или L_B¹-L_P(PEG)-, когда нет ни одного из A и A₀, через функциональную группу, содержащую J', где R³³ представляет собой -H, необязательно замещенный C₁-C₈-алкил или необязательно замещенный аралкил;

V, Z¹ и Z³ представляют собой =N- или =C(R²⁴)-, где R²⁴ представляет собой водород или C₁-C₆-алкил, C₂-C₆-алкенил или C₂-C₆-алкинил, необязательно замещенные, или галоген, -NO₂, -CN или другую электроноакцепторную группу, или -OCH₃ или другую электронодонорную группу,

R⁸ и R⁹, независимо, представляют собой водород, C₁-C₆-алкил, C₂-C₆-алкенил или C₂-C₆-алкинил, необязательно замещенные, или C₆-C₁₄-арил или C₅-C₁₄-гетероарил, необязательно замещенные;

R¹ представляет собой водород или представляет собой галоген, -NO₂, -CN или другую электроноакцепторную группу;

D⁺ представляет собой звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства, имеющего структуру



где кольцо Het представляет собой 5-членный азотсодержащий гетероарил, содержащий по меньшей мере один гетероатом, выбранный из группы, состоящей из N, O и S, и где указанные обязательные заместители на этом гетероариле находятся в 1,3-положении по отношению друг к другу при необязательном замещении по остальным положениям;

индекс m обозначает 0 или 1;

R^{2A} представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₈-алкил, или R^{2A} вместе с ато-

мом кислорода, к которому он присоединен, обозначает O-связанный заместитель;

R^3 представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил;

R^4 , R^5 и R^6 представляют собой необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил;

один R^7 представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, необязательно замещенный C_6 - C_{18} -арилалкил, необязательно замещенный C_6 - C_{18} -гетероарилалкил и другой R^7 представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил;

индекс p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 24;

где волнистая линия указывает на ковалентное связывание D^+ к остатку соединения структуры конъюгата лекарственного средства с лигандом и где каждый необязательно замещенный алкил выбран независимо;

где расщепление указанной O-гликозидной связи гликозидазой приводит к высвобождению тубулизинового соединения (D) из соединения конъюгата лекарственного средства с лигандом,

где термин "необязательно замещенный" относится к частице, которая может быть незамещена или замещена группой, выбранной из одного или нескольких атомов, выбранных из группы, состоящей из галогена, -CN, -OH, -NH₂, -NH(CH₃), -N(CH₃)₂, C_1 - C_6 -алкила, C_1 - C_6 -фторалкила, C_1 - C_6 -фторалкокси, C_1 - C_6 -гетероалкила, C_3 - C_8 -циклоалкила, C_3 - C_8 -гетероциклоалкила, C_5 - C_{14} -арила, C_5 - C_{14} -гетероарила, C_1 - C_6 -алкокси, C_5 - C_{14} -арилокси, C_1 - C_6 -алкилтио, C_5 - C_{14} -арилтио, C_1 - C_6 -алкилсульфоксида, C_5 - C_{14} -арилсульфоксида, C_1 - C_6 -алкилсульфона, -C(=O)OH, -C(=O)O- C_1 - C_6 -алкила, -C(=O)NH₂, -C(=O)NH(C_1 - C_6 -алкила) и -C(=O)N(C_1 - C_6 -алкил)₂;

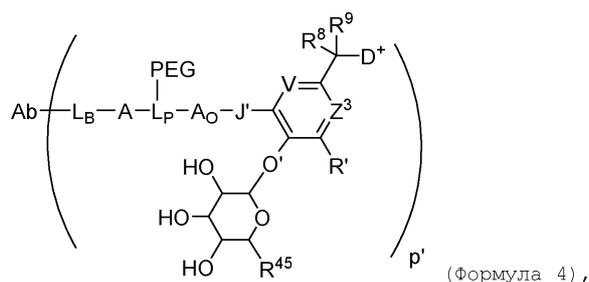
где термин "электроноакцепторная группа" относится к частице, выбранной из группы, состоящей из необязательно замещенного C_2 - C_6 -алкенила, необязательно замещенного C_2 - C_6 -алкинила, -C(=O), -CN, -NO₂, -CX₃, -X, -C(=O)OR', -C(=O)NH₂, -C(=O)N(R')R^{op}, -C(=O)R', -C(=O)X, -S(=O)₂R^{op}, -S(=O)₂OR', -SO₃H₂, -S(=O)₂NH₂, -S(=O)₂N(R')R^{op}, -PO₃H₂, -P(=O)(OR')(OR^{op})₂, -NO, -NH₂, -NH(R^{op}), -N(R')(R^{op}) и -N(R^{op})₃⁺, где X представляет собой -F, -Cl, -Br или -I, и каждый из R и R^{op} независимо выбран из группы необязательных заместителей;

где термин "электронодонорная группа" относится к частице, выбранной из группы, состоящей из -OH, -OR', -NH₂, -NHR', N(R')₂, необязательно замещенного C_5 - C_{14} -арила, необязательно замещенного C_5 - C_{14} -гетероарила, необязательно замещенного C_2 - C_6 -алкенила и необязательно замещенного C_2 - C_6 -алкинила, где каждый R' независимо представляет собой C_1 - C_6 -алкил; и

где термин "O-связанный заместитель" относится к заместителю, выбранному из группы, состоящей из -OH, -OCH₂OCH₂R^{2B}, -OCH₂R^{2B}, -OC(O)R^{2B}, -CH₂OC(O)R^{2B}, -OC(O)N(R^{2B})(R^{2C}) и -OCH₂C(O)N(R^{2B})(R^{2C}), где R^{2B} и R^{2C} независимо выбраны из группы, состоящей из H, C_1 - C_6 -алкила и C_2 - C_8 -алкенила.

2. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.1, где лигандное звено из антитела способно селективно связываться с доступным антигеном клеточной поверхности аномальных клеток, где антиген способен к клеточной интернализации связанного ADC и преимущественно присутствует на аномальных или других нежелательных клетках по сравнению с нормальными клетками.

3. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.1 или 2, представленный структурой формулы 4



в виде фармацевтически приемлемой соли, где

Ab представляет собой лигандное звено из антитела;

J' представляет собой -N(R³³)-, где R³³ представляет собой водород или метил;

V и Z³, независимо, представляют собой =CH- или =N-;

R¹ представляет собой водород или электроноакцепторную группу;

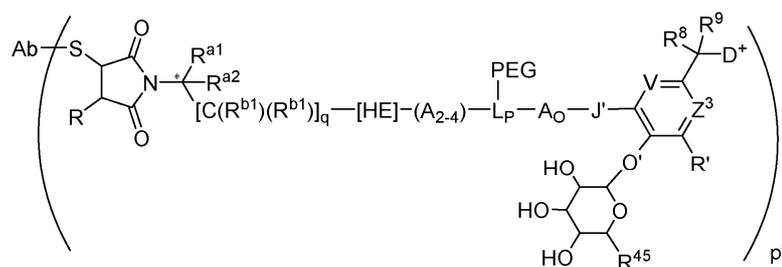
R⁸ представляет собой водород;

R⁹ представляет собой водород, необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил или необязательно замещенный фенил;

R⁴⁵ представляет собой -CO₂H; и

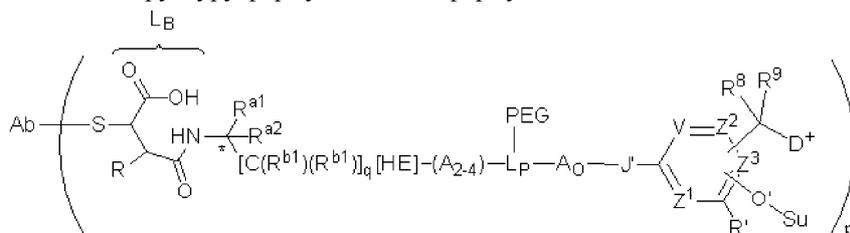
индекс p' обозначает число в диапазоне от 1 до 24.

4. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по любому из пп.1-3, представленный структурой формулы 6

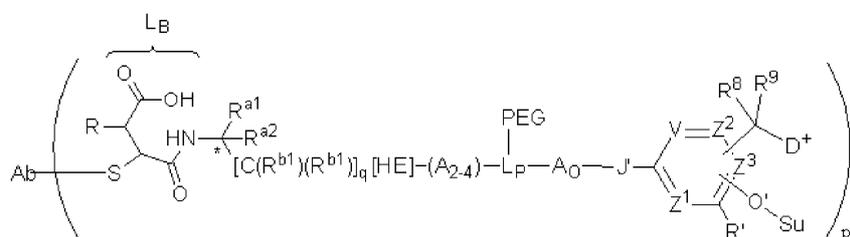


(Формула 6)

где S представляет собой атом серы лигандного звена из антитела (Ab);
 звездочка (*) обозначает хиральность или ее отсутствие у указанного атома углерода;
 A_{2-4} представляют собой независимо выбранные необязательные субзвенья A, где $-[C(R^{b1})(R^{b1})]_q-$
 [HE]- представляет собой A_1 , когда присутствует одна или несколько таких субъединиц;
 R представляет собой водород;
 R' представляет собой водород или электроноакцепторную группу;
 R^{a1} представляет собой водород или основное звено (BU), где BU представляет собой основное звено, имеющее структуру $-CH_2-N(R^{22})(R^{23})$, или его соль присоединения кислоты, где R²² и R²³, независимо, представляют собой водород, метил или этил, или оба вместе с атомом азота, к которому они присоединены, обозначает 5- или 6-членный гетероциклоалкил, или один из R²² и R²³ представляет собой водород, и другой представляет собой кислотно-чувствительную защитную карбаматную группу;
 R^{a2} представляет собой водород;
 индекс q обозначает целое число в диапазоне от 0 до 5, когда HE присутствует, или от 1 до 5, когда HE отсутствует;
 каждый R^{b1} независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;
 HE отсутствует или представляет собой $-C(=O)-$;
 R⁴⁵ представляет собой $-CO_2H$;
 J' представляет собой $-NH-$;
 V и Z³ представляют собой $=CH-$;
 R⁸ представляет собой водород;
 R⁹ представляет собой водород или метил;
 индекс p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 16; и
 где остальные переменные группы имеют значения, определенные для формулы 4, или где конъюгат имеет структуру формулы 9A или формулы 9B



(Формула 9A)



(Формула 9B)

где S представляет собой атом серы лигандного звена из антитела (Ab);
 звездочка (*) обозначает хиральность или ее отсутствие у указанного атома углерода;
 A_{2-4} представляют собой независимо выбранные необязательные субзвенья A, где $-[C(R^{b1})(R^{b1})]_q-$
 [HE]- представляет собой A_1 , когда присутствует одна или несколько таких субъединиц;
 R представляет собой водород;
 R' представляет собой водород или электроноакцепторную группу;
 R^{a1} представляет собой $-H$ или BU, где BU представляет собой основное звено, имеющее структуру $-CH_2-N(R^{22})(R^{23})$, или его соль присоединения кислоты, где R²² и R²³, независимо, представляют собой

водород или метил, или оба вместе с атомом азота, к которому они присоединены, обозначают основной азотсодержащий 5-или 6-членный гетероциклоалкил, или один из R^{22} и R^{23} представляет собой водород, и другой представляет собой кислотнo-чувствительную защитную группу;

R^{a2} представляет собой водород;

индекс q обозначает целое число в диапазоне от 0 до 5, когда HE присутствует, или от 1 до 5, когда HE отсутствует;

каждый R^{b1} независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил;

HE отсутствует или представляет собой $-C(=O)-$;

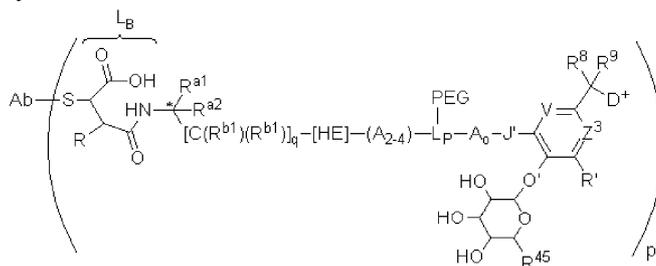
J' представляет собой $-O-$ или $-NH-$;

R^8 и R^9 независимо представляют собой $-H$ или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, или оба вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, обозначают C_3 - C_8 -циклоалкил;

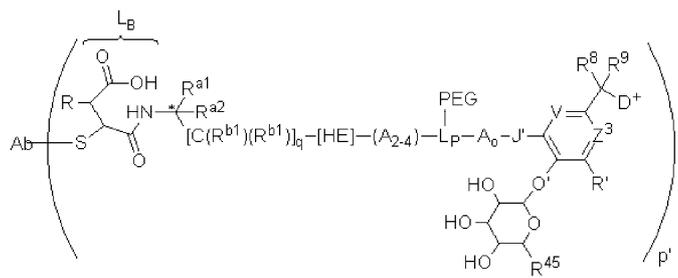
индекс p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 24; и

где остальные переменные группы имеют значения, определенные для формулы 4.

5. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по любому из пп.1-4, представленный структурной формулы 10A или формулы 10B



(Формула 10A)



(Формула 10B)

где R представляет собой водород;

R' представляет собой водород, $-NO_2$, $-Cl$ или $-F$;

HE представляет собой $-C(=O)-$;

R^{45} представляет собой $-CO_2H$;

J' представляет собой $-NH-$;

V и Z^3 , каждый, представляют собой $=CH_2-$;

R^8 представляет собой водород;

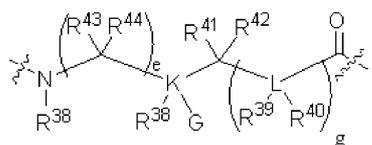
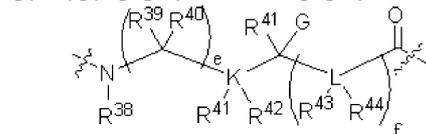
R^9 представляет собой водород или метил;

p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 12; и

где остальные переменные группы имеют значения, определенные для формулы 4.

6. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.4, где указанный отмеченный звездочкой (*) углерод преимущественно имеет ту же абсолютную конфигурацию, что и альфа-углерод L-аминокислоты, когда указанный углерод является хиральным, и/или где

A и A_0 , независимо, имеют структуру формулы 7 или формулы 8



(Формула 7) (Формула 8)

где волнистые линии указывают на ковалентное связывание в структуре конъюгата, где К и L, независимо, представляют собой С, N, О или S, при условии, что, когда К или L представляет собой О или S, R⁴¹ и R⁴²-К или R⁴³ и R⁴⁴-L отсутствуют, и, когда К или L представляет собой N, один из R⁴¹ и R⁴²-К или один из R⁴² и R⁴³-L отсутствуют, и при условии, что два соседних L не являются независимо выбранными в виде N, О или S;

где индексы e и f являются независимо выбранными целыми числами, которые варьируются в диапазоне от 0 до 12, и индекс g обозначает целое число в диапазоне от 1 до 12,

где G представляет собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, -ОН, -OR^{PR}, -CO₂H, CO₂R^{PR}, где R^{PR} представляет собой соответствующую защитную группу,

или G представляет собой -N(R^{PR})(R^{PR}), где каждый R^{PR} представляет собой защитную группу,

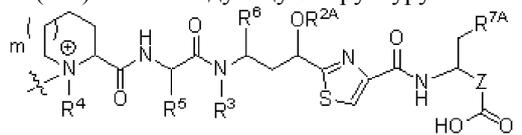
или G представляет собой -N(R⁴⁵)(R⁴⁶), где один из R⁴⁵ и R⁴⁶ представляет собой водород или R^{PR}, где R^{PR} представляет собой соответствующую защитную группу, и другой представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

где R³⁸ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил; R³⁹-R⁴⁴, независимо, представляют собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, необязательно замещенный C₆-C₁₄-арил или необязательно замещенный C₅-C₁₄-гетероарил, или оба R³⁹ и R⁴⁰ вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, включают C₃-C₆-циклоалкил, или R⁴¹ и R⁴² вместе с К, к которому они присоединены, когда К представляет собой С,

или R⁴³ и R⁴⁴ вместе с L, к которому они присоединены, когда L представляет собой атом углерода, включают C₃-C₆-циклоалкил, или R⁴⁰ и R⁴¹, или R⁴⁰ и R⁴³, или R⁴¹ и R⁴³ вместе с атомом углерода или гетероатомом, к которому они присоединены, и атомами, находящимися между этими атомами углерода и/или гетероатомами, образуют 5- или 6-членный циклоалкил или гетероциклоалкил, при условии, что, когда К представляет собой О или S, R⁴¹ и R⁴² отсутствуют, когда К представляет собой N, один из R⁴¹ и R⁴² отсутствует, когда L представляет собой О или S, R⁴³ и R⁴⁴ отсутствуют, и, когда L представляет собой N, один из R⁴³ и R⁴⁴ отсутствует, или

где A₀ обладает структурой, соответствующей альфа-амино, бета-амино или другой аминокислоте.

7. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.1, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства (-D⁺) имеет следующую структуру:

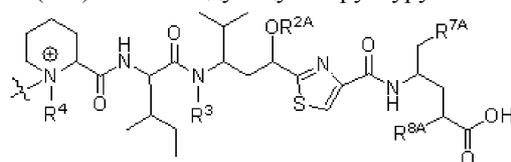


где индекс m обозначает 0 или 1;

Z представляет собой необязательно замещенный C₁-C₆-алкилен или необязательно замещенный C₂-C₈-алкенилен; и

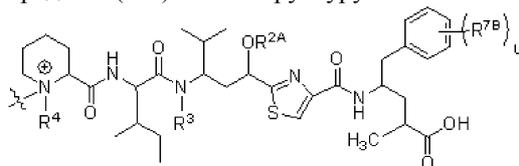
R^{7A} представляет собой необязательно замещенный C₆-C₁₄-арил или необязательно замещенный C₆-C₁₄-гетероарил.

8. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.1, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства (-D⁺) имеет следующую структуру:



где R^{7A} представляет собой необязательно замещенный фенил и R^{8A} представляет собой водород или метил.

9. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.7 или 8, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства (-D⁺) имеет структуру



где R⁴ представляет собой метил;

индекс u обозначает 0, 1 или 2;

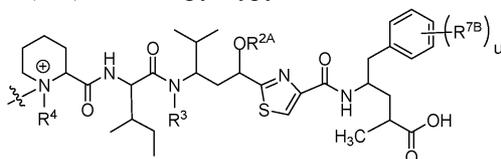
R³ представляет собой H, метил, этил, пропил, -CH₂-OC(O)R^{3A}, -CH₂CH(R^{3B})C(O)R^{3A} или -CH(R^{3B})C(O)NHR^{3A}, где R^{3A} представляет собой C₁-C₆-алкил и R^{3B} представляет собой H или C₁-C₆-алкил, независимо выбранный из R^{3A};

R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, представляет собой O-связанный за-

меститель, выбранный из группы, включающей $-\text{OCH}_2\text{OCH}_2\text{R}^{2\text{B}}$, $-\text{OCH}_2\text{R}^{2\text{B}}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^{2\text{B}}$, $-\text{OCH}_2\text{OC}(\text{O})\text{R}^{2\text{B}}$, $\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{2\text{B}})(\text{R}^{2\text{C}})$ и $-\text{OCH}_2\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{2\text{B}})(\text{R}^{2\text{C}})$, где $\text{R}^{2\text{B}}$ и $\text{R}^{2\text{C}}$ независимо выбраны из группы, включающей H , C_1 - C_6 -алкил и C_2 - C_6 -алкенил; и

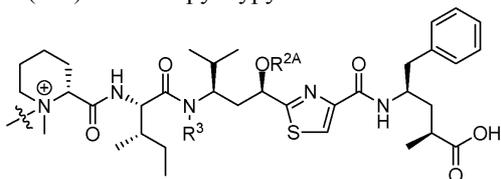
каждый $\text{R}^{7\text{B}}$, когда присутствует, независимо, представляет собой $-\text{OH}$ или $-\text{OCH}_3$.

10. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.9, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-\text{D}^+$) имеет структуру



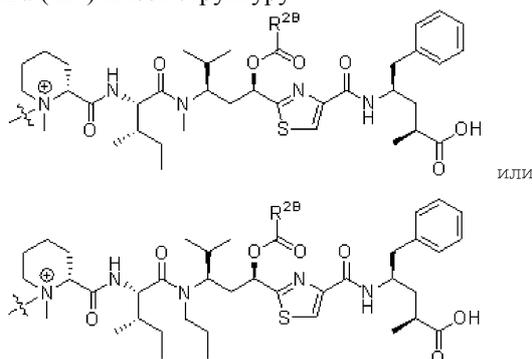
где $\text{R}^{2\text{A}}$ представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ или $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$, R^3 представляет собой $-\text{CH}_3$, индекс u равен 0 или 1, и $\text{R}^{7\text{B}}$ представляет собой $-\text{OH}$.

11. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.9, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-\text{D}^+$) имеет структуру



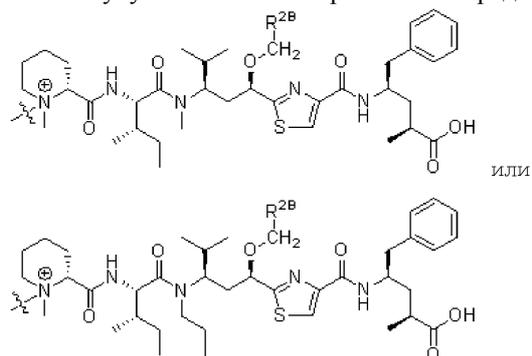
где $\text{R}^{2\text{A}}$ представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ или $-\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$.

12. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.9, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-\text{D}^+$) имеет структуру



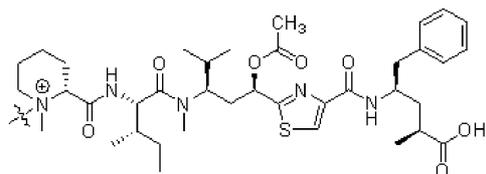
где $\text{R}^{2\text{B}}$ представляет собой $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ или $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$, или

где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-\text{D}^+$) имеет структуру

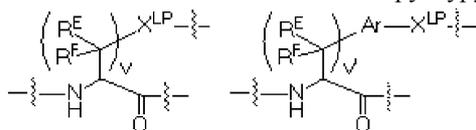


где $\text{R}^{2\text{B}}$ представляет собой водород, метил или $-\text{OCH}_3$, или $-\text{OCH}_2\text{R}^{2\text{B}}$ представляет собой $-\text{OCH}_2\text{CH=CH}_2$ или $-\text{OCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$.

13. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.12, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства $-\text{D}^+$ представляет собой такой тубулизин М, который имеет следующую структуру:



14. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.1, где L_p представляет собой аминокан-диовую кислоту, диаминоалкановую кислоту, серозамещенную алкандиовую кислоту, серозамещенную аминокан-диовую кислоту, диаминоалканол, аминокан-динол, гидроксилзамещенную алкандиовую кислоту, гидроксилзамещенную аминокан-диовую кислоту или серозамещенный остаток аминокан-диола, аминокан-диовая кислота, диаминоалкановая кислота, серозамещенная аминокан-диовая кислота или гидроксилзамещенный остаток аминокан-диовой кислоты имеет структуру формулы А или формулы В



(Формула А) (Формула В)

где индекс v обозначает целое число в диапазоне от 1 до 4;

индекс v' обозначает целое число в диапазоне от 0 до 4;

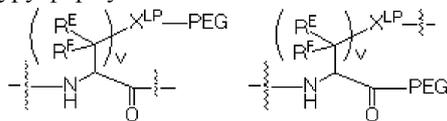
X^{LP} выбран из группы, включающей $-O-$, $-NR^{LP}-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-C(=O)-$, $-C(=O)N(R^{LP})-$, $-N(R^{LP})C(=O)N(R^{LP})-$ и $-N(R^{LP})C(=NR^{LP})N(R^{LP})-$, где каждый R^{LP} независимо выбран из группы, включающей водород и необязательно замещенный C_1-C_6 -алкил, или два R^{LP} вместе со своими промежуточными атомами определяют необязательно замещенный C_5-C_{10} -гетероциклоалкил, и оставшиеся R^{LP} имеют значения, определенные выше;

Ar представляет собой арилен или гетероарил, необязательно замещенные;

каждый R^E и R^F независимо выбраны из группы, включающей $-H$, необязательно замещенный C_1-C_6 -алкил, необязательно замещенный C_6-C_{14} -арил и необязательно замещенный C_5-C_{14} -гетероарил, или R^E и R^F вместе с тем же атомом углерода, к которому они присоединены, или R^E и R^F соседних атомов углерода вместе с этими атомами углерода обозначают необязательно замещенный циклоалкил, при этом остальные заместители R^E и R^F имеют значения, определенные выше; и

где волнистые линии указывают на ковалентное присоединение в структуре формулы А или формулы В в структуре конъюгата, или

где $-L_p(PEG)-$ имеет структуру формулы А1 или А2



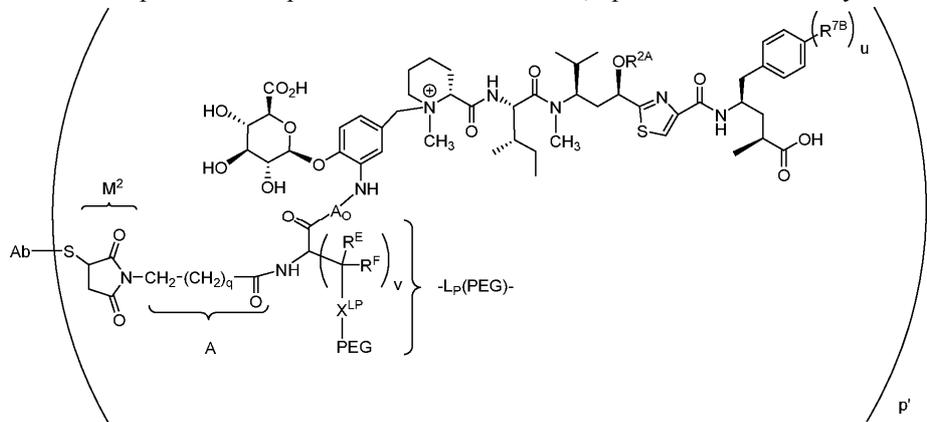
(Формула А1) (Формула А2)

где X^{LP} выбран из группы, включающей $-O-$, $-NH$, $-S-$ и $-C(=O)-$;

R^E и R^F независимо выбраны из группы, включающей $-H$ и $-C_1-C_4$ -алкил; и

где волнистая линия указывает на ковалентное присоединение в формуле А1 или формуле А2 в структуре конъюгата.

15. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.1, представленный следующей структурой:



где Ab представляет собой лигандное звено из антитела;

S представляет собой атом серы лигандного звена из антитела;

R^{2A} представляет собой C_1-C_4 -алкил, C_2-C_4 -алкенил, C_2-C_4 -алкинил или $-C(=O)R^{2B}$, где R^{2B} пред-

ставляет собой C₁-C₄-алкил;

A₀ отсутствует или представляет собой остаток аминокислоты;

индекс p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 8.

индекс q обозначает целое число в диапазоне от 1 до 4;

индекс u равен 0 или 1;

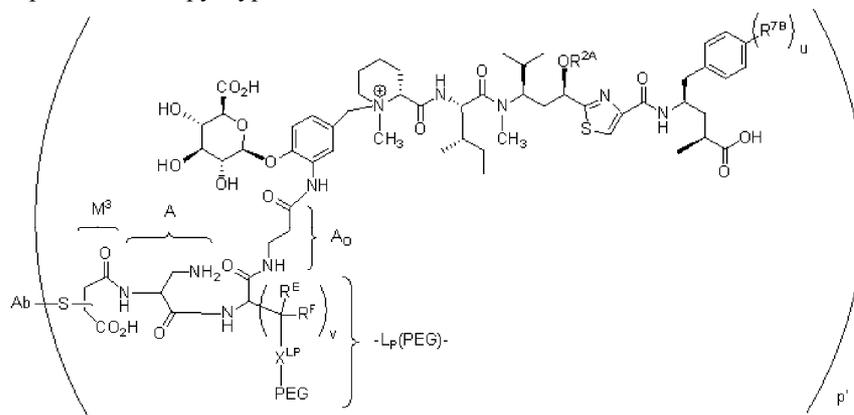
индекс v обозначает целое число в диапазоне от 1 до 4;

R^{7B}, когда присутствует, представляет собой -OH;

X^{LP} выбран из группы, включающей -O-, -NH-, -S- и -C(=O)-;

R^E и R^F независимо выбраны из группы, включающей -H и C₁-C₄-алкил, или

где конъюгат представлен структурой



где Ab представляет собой лигандное звено из антитела;

S представляет собой атом серы лигандного звена из антитела;

фрагмент Ab-S- соединен с α или β углеродом указанной карбоновой кислоты M³;

R^{2A} представляет собой C₁-C₄-алкил, C₂-C₄-алкенил, C₂-C₄-алкинил или -C(=O)R^{2B}, где R^{2B} представляет собой C₁-C₄-алкил;

индекс p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 8;

индекс q обозначает целое число в диапазоне от 1 до 4;

индекс u обозначает 0 или 1;

индекс v обозначает целое число в диапазоне от 1 до 4;

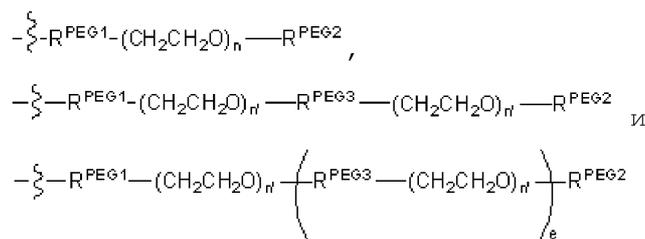
R^{7B}, когда присутствует, представляет собой -OH;

X^{LP} выбран из группы, включающей -O-, -NH-, -S- и -C(=O)-;

R^E и R^F независимо выбраны из группы, включающей -H и C₁-C₄-алкил; и

PEG представляет собой полиэтиленгликолевое звено.

16. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.15, где PEG имеет структуру, выбранную из группы, включающей



где волнистая линия показывает место присоединения к X^{LP} параллельного соединительного звена (L_p),

R^{PEG1} представляет собой необязательное PEG присоединяющее звено,

R^{PEG2} представляет собой PEG ограничивающее звено;

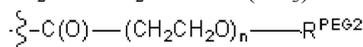
R^{PEG3} представляет собой PEG связывающее звено;

индекс n варьируется от 2 до 72;

каждый индекс n' независимо выбран из 1 до 72; и

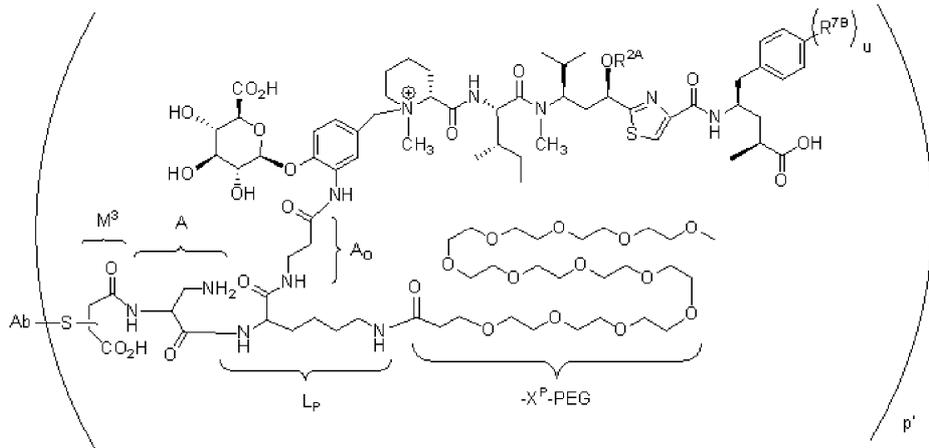
индекс e варьируется от 2 до 5.

17. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.15 или 16, где R^{2A} представляет собой C₁-C₄-алкил или C₃-C₄-алкенил, где C₁-C₄-алкил представляет собой -CH₃, -CH₂CH₃ или -CH₂CH₂CH₃, и C₃-C₄-алкенил представляет собой -CH₂CH=CH₂ или -CH(CH₃)CH=CH₂, и -X^{LP}-PEG имеет структуру



18. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.16, где R^{2A} представляет собой $-C(O)CH_3$, $-CH_2CH_3$ или $-CH_2CH=CH_2$; n обозначает 12 и R^{PEG2} представляет собой водород или $-CH_3$.

19. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.1, представленный структурой



где Ab представляет собой лигандное звено из антитела;

S представляет собой атом серы лигандного звена из антитела;

фрагмент Ab-S- соединен с α или β углеродом указанной карбоновой кислоты M^3 ;

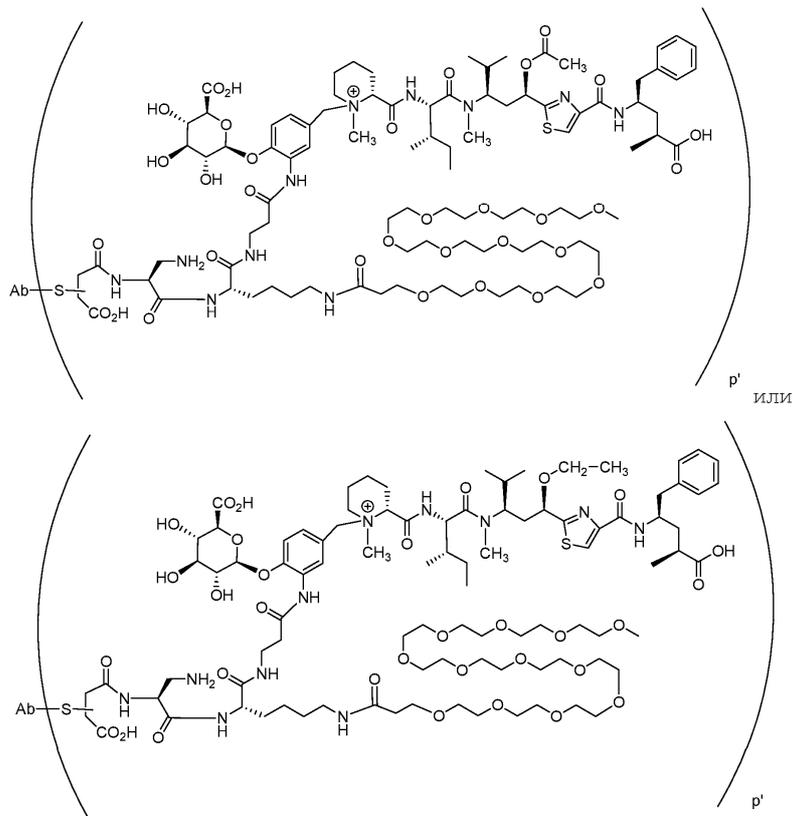
индекс p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 8;

индекс u обозначает 0 или 1;

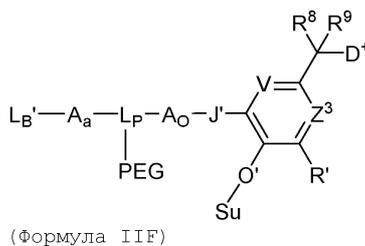
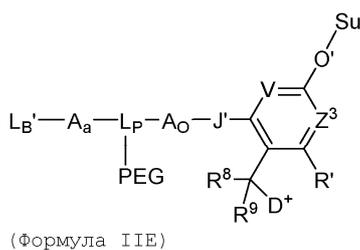
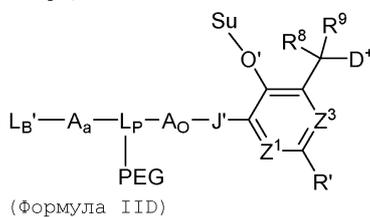
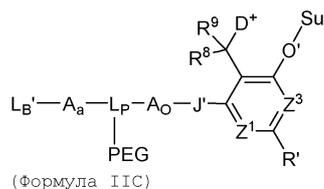
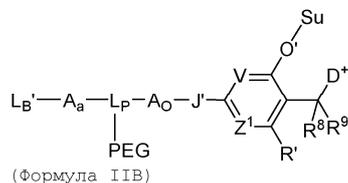
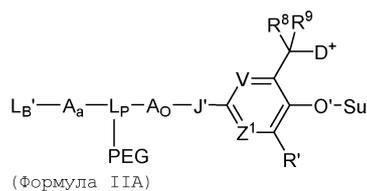
R^{7B} , когда присутствует, представляет собой $-OH$; и

R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, представляет собой $-OC(O)CH_3$, $-OCH_2CH_3$ или $-OCH_2CH=CH_2$.

20. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.19, представленный структурой



21. Соединение лекарственного средства с линкером, имеющее структуру одной из формул ПА-ПФ



или его фармацевтически приемлемая соль, где

L_B' представляет собой предшественник звена ковалентно связывающего лиганда;

L_P представляет собой параллельное соединительное звено, где L_P представляет собой аминокан-дионовую кислоту, диаминоалкановую кислоту, серозамещенную алкандионовую кислоту, серозамещенную аминокан-дионовую кислоту, диаминоалканол, аминокан-диол, гидроксилзамещенную алкандионовую кислоту, гидроксилзамещенную аминокан-дионовую кислоту или серозамещенный остаток аминокан-диола, необязательно замещенные, где заместитель, содержащий серу, находится в восстановленном или окисленном виде или L_P представляет собой аминокислотный остаток лизина, аргинина, аспарагина, глутамина, орнитина, цитруллина, цистеина, гомоцистеина, пеницилламина, треонина, серина, глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, тирозина, гистидина или триптофана, где аминокислота имеет D- или L-конфигурацию;

PEG представляет собой полиэтиленгликолевое звено;

индекс a обозначает 0 или 1;

A представляет собой первое необязательное расширяющее звено, таким образом, когда индекс a обозначает 0, A отсутствует, или, когда индекс a обозначает 1, A присутствует и, необязательно, включает две, три или четыре независимо выбранных субъединицы (A_1, A_2, A_3, A_4);

A_O представляет собой второе необязательное расширяющее звено, и необязательно включает две, три или четыре субъединицы независимо от A;

Su представляет собой углеводный фрагмент;

-O'- представляет собой атом кислорода О-гликозидной связи, расщепляемой гликозидазой;

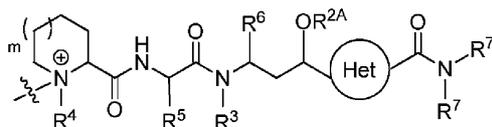
-J'- представляет собой -O-, -N(R³³)- или -S-, связанные непосредственно с A₀ или его субзвеном, или с L-L_B-L_P(PEG)- или L_B'-L_P(PEG)-, когда нет ни одного из A и A₀, через функциональную группу, содержащую J', где R³³ представляет собой -H, необязательно замещенный C₁-C₈-алкил или необязательно замещенный аралкил;

V, Z¹ и Z³ представляют собой =N- или =C(R²⁴)-, где R²⁴ представляет собой водород или C₁-C₆-алкил, C₂-C₈-алкенил или C₂-C₈-алкинил, необязательно замещенные, или галоген, -NO₂, -CN или другую электроноакцепторную группу или электронодонорную группу,

R⁸ и R⁹, независимо, представляют собой водород, C₁-C₆-алкил, C₂-C₈-алкенил или C₂-C₈-алкинил, необязательно замещенные, или C₆-C₁₄-арил или C₅-C₁₄-гетероарил, необязательно замещенные;

R¹ представляет собой водород или представляет собой галоген, -NO₂, -CN или другую электроноакцепторную группу;

D⁺ представляет собой звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства, имеющего структуру



где кольцо Het представляет собой 5-членный азотсодержащий гетероарилен, содержащий по меньшей мере один гетероатом, выбранный из группы, состоящей из N, O и S, и где указанные обязательные заместители на этом гетероарилене находятся в 1,3-положении по отношению друг к другу при необязательном замещении по остальным положениям,

индекс m обозначает 0 или 1;

R^{2A} представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₈-алкил, или R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, обозначает O-связанный заместитель, иной чем -OH;

R³ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

R⁴, R⁵ и R⁶ представляют собой необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

один R⁷ представляет собой необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, необязательно замещенный C₆-C₁₈-арилалкил, необязательно замещенный C₆-C₁₈-гетероарилалкил, и другой R⁷ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

R^{8A} представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил,

где волнистая линия указывает на ковалентное связывание D⁺ с остатком структуры соединения лекарственного средства с линкером, и где необязательно замещенный C₁-C₆-алкил является независимо выбранным;

где расщепление указанной О-гликозидной связи гликозидазой приводит к высвобождению тубулизинового соединения (D) из соединения лекарственного средства с линкером или соединения конъюгата лекарственного средства с лигандом, полученных из соединения линкера с лекарственным средством, где соединение конъюгата лекарственного средства с лигандом имеет структуру формулы 1A по п.1, где индекс p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 24;

где термин "необязательно замещенный" относится к частице, которая может быть незамещена или замещена группой, выбранной из одного или нескольких атомов, выбранных из группы, состоящей из галогена, -CN, -OH, -NH₂, -NH(CH₃), -N(CH₃)₂, C₁-C₆-алкила, C₁-C₆-фторалкила, C₁-C₆-фторалкокси, C₁-C₆-гетероалкила, C₃-C₈-циклоалкила, C₃-C₈-гетероциклоалкила, C₅-C₁₄-арила, C₅-C₁₄-гетероарила, C₁-C₆-алкокси, C₅-C₁₄-арилкокси, C₁-C₆-алкилтио, C₅-C₁₄-арилтио, C₁-C₆-алкилсульфоксида, C₅-C₁₄-арилсульфоксида, C₁-C₆-алкилсульфона, -C(=O)OH, -C(=O)O-C₁-C₆-алкила, -C(=O)NH₂, -C(=O)NH(C₁-C₆-алкила) и -C(=O)N(C₁-C₆-алкил)₂;

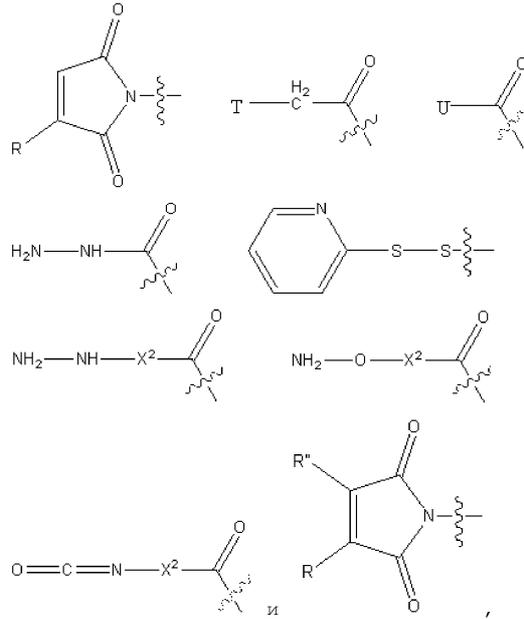
где термин "электроноакцепторная группа" относится к частице, выбранной из группы, состоящей из необязательно замещенного C₂-C₆-алкенила, необязательно замещенного C₂-C₆-алкинила, -C(=O), -CN, -NO₂, -CX₃, -X, -C(=O)OR', -C(=O)NH₂, -C(=O)N(R')R^{op}, -C(=O)R', -C(=O)X, -S(=O)₂R^{op}, -S(=O)₂OR', -SO₃H₂, -S(=O)₂NH₂, -S(=O)₂N(R')R^{op}, -PO₃H₂, -P(=O)(OR')(OR^{op})₂, -NO, -NH₂, -NH(R^{op}), -N(R')(R^{op}) и -N(R^{op})₃⁺, где X представляет собой -F, -Cl, -Br или -I, и каждый из R и R^{op} независимо выбран из группы необязательных заместителей;

где термин "электронодонорная группа" относится к частице, выбранной из группы, состоящей из -OH, -OR', -NH₂, -NHR', N(R')₂, необязательно замещенного C₅-C₁₄-арила, необязательно замещенного C₅-C₁₄-гетероарила, необязательно замещенного C₂-C₆-алкенила и необязательно замещенного C₂-C₆-алкинила, где каждый R' независимо представляет собой C₁-C₆-алкил; и

где термин "O-связанный заместитель" относится к заместителю, выбранному из группы, состоящей из -OH, -OCH₂OCH₂R^{2B}, -OCH₂R^{2B}, -OC(O)R^{2B}, -CH₂OC(O)R^{2B}, -OC(O)N(R^{2B})(R^{2C}) и -OCH₂C(O)N(R^{2B})(R^{2C}), где R^{2B} и R^{2C} независимо выбраны из группы, состоящей из H, C₁-C₆-алкила и C₂-C₈-алкенила.

22. Соединение лекарственного средства с линкером по п.21, где L_B'- имеет структуру, выбранную

из группы, включающей



где волнистая линия указывает на ковалентное связывание с А или L_p, в зависимости от присутствия или отсутствия, соответственно, А;

R представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

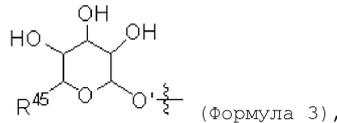
R'' представляет собой водород или галоген, или R и R' независимо выбраны из галогена;

T представляет собой -Cl, -Br, -I, -O-мезил или -O-тозил или другую сульфонатную удаляемую группу;

U представляет собой -F, -Cl, -Br, -I, -O-N-сукцинимид, -O-(4-нитрофенил), -O-пентафторфенил, -O-тетрафторфенил или -O-C(=O)-OR⁵⁷; и

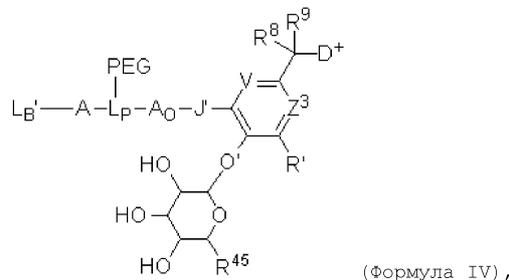
X² представляет собой C₁₋₁₀-алкилен, C₃₋₈-карбоцикл, -O-(C₁-C₆-алкил), -арилен-, C₁-C₁₀-алкилен-арилен, -арилен-C₁-C₁₀-алкилен, -C₁-C₁₀-алкилен-(C₃-C₆-карбоцикл)-, -(C₃-C₈карбоцикл)-C₁-C₁₀-алкилен-, C₃-C₈-гетероцикл, -C₁-C₁₀-алкилен-(C₃-C₈-гетероцикло)-, -C₃-C₈-гетероцикло)-C₁-C₁₀-алкилен-, -(CH₂CH₂O)_u или -(CH₂CH₂O)_u-CH₂-, где индекс u обозначает целое число в диапазоне от 1 до 10 и R⁵⁷ представляет собой C₁-C₆-алкил или C₆-C₁₄-арил.

23. Соединение лекарственного средства с линкером по п.21 или 22, где -O'-Su имеет структуру формулы 3



где волнистая линия представляет ковалентное связывание O' с остатком структуры соединения лекарственного средства с линкером; и R⁴⁵ представляет собой -CH₂OH или -CO₂H.

24. Соединение лекарственного средства с линкером по любому из пп.21-23, имеющее структуру формулы IV



где J' представляет собой -N(R³³)-, где R³³ представляет собой водород или метил;

V и Z³, независимо, представляют собой =CH- или =N-;

R' представляет собой водород или электроноакцепторную группу;

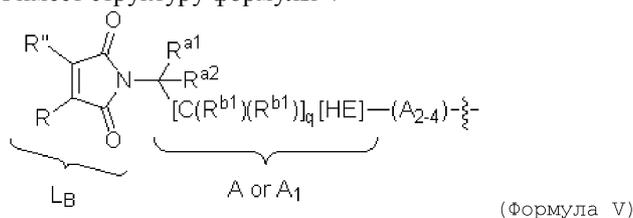
R⁸ представляет собой водород;

R⁹ представляет собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆-алкил или необязательно замещенный фенил; и

R⁴⁵ представляет собой -CO₂H.

25. Соединение лекарственного средства с линкером по любому из пп.21-23, где индекс a обознача-

ет 1; и L_B'-A- формулы IA имеет структуру формулы V



где фрагмент $-[C(R^{b1})(R^{b1})]_q[HE]-$ представляет собой A или A₁, где A₁ представляет собой субъединицу A;

A₂₋₄ представляют собой необязательные субъединицы A;

R представляет собой водород, хлор или C₁-C₄-алкил;

R'' представляет собой водород или хлор;

R^{a1} представляет собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆-алкил или основное звено (BU), необязательно защищенное; и

R^{a2} представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₈-алкил, или

R^{a1} и R^{a2} вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, обозначают азотсодержащий C₃-C₁₀-гетероциклоалкил;

HE представляет собой необязательное звено усилителя гидролиза (HE);

индекс q обозначает целое число в диапазоне от 0 до 6;

каждый R^{b1} независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, необязательно замещенный C₆-C₁₀-арил или необязательно замещенный C₅-C₁₀-гетероарил, или два R^{b1} вместе с атомом (атомами) углерода, к которому они присоединены, обозначают C₃-C₆-циклоалкил, или один R^{b1} и HE вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, обозначают 5 или 6-членный циклоалкил или 5- или 6-членный гетероциклоалкил, и другой R^{b1} представляет собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, необязательно замещенный C₆-C₁₀-арил или необязательно замещенный C₅-C₁₀-гетероарил;

BU, необязательно защищенный, имеет структуру $-[C(R^1)(R^1)]-[C(R^2)(R^2)]_r-N(R^{22})(R^{23})$ или его соль присоединения кислоты,

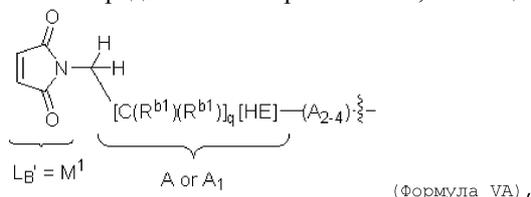
где индекс r обозначает 0, 1, 2 или 3;

каждый R¹ независимо представляет собой водород или C₁-C₄-алкил, или два R¹ вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют C₃-C₆-циклоалкил, и каждый R² независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, необязательно замещенный C₆-C₁₀-арил или необязательно замещенный C₅-C₁₀-гетероарил, или два R² вместе с атомом (атомами) углерода, к которому они присоединены, и промежуточными атомами углерода обозначают C₃-C₆-циклоалкил, или один R¹ и один R² вместе с атомами углерода, к которому они присоединены, и промежуточными атомами углерода обозначают 5- или 6-членный циклоалкил, и остальные R¹ и R² являются такими, как указано; и

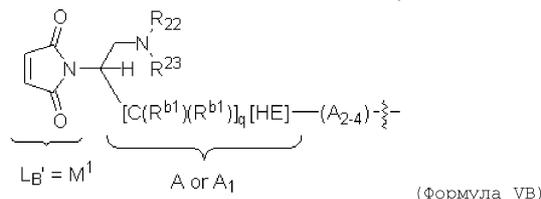
R²² и R²³ независимо представляют собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆-алкил или кислотнo-чувствительную защитную группу, или вместе с атомом азота, к которому они присоединены, обозначают 5- или 6-членный гетероциклоалкил, или один из R²² и R²³ представляет собой водород, и другой представляет собой легко удаляемую защитную группу; и

где волнистая линия показывает место ковалентного присоединения к остатку структуры соединения лекарственного средства с линкером.

26. Соединение лекарственного средства с линкером по п.25, имеющее структуру VA

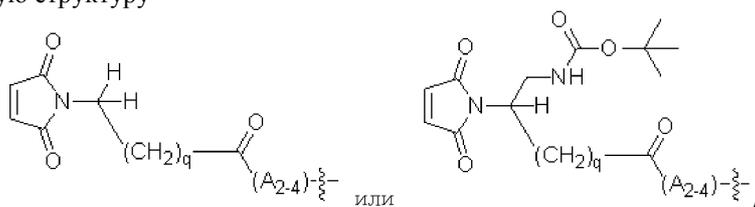


где индекс q обозначает целое число в диапазоне от 0 до 4, или имеющее структуру формулы VB



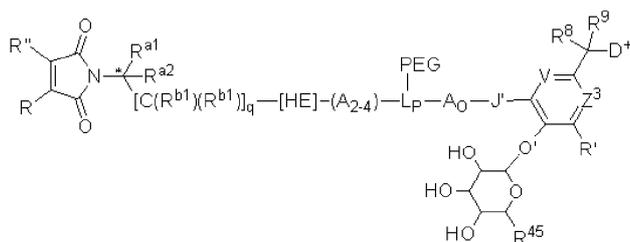
где один из R²² и R²³ представляет собой водород, и другой представляет собой кислотнo-чувствительную защитную карбаматную группу, и индекс q обозначает целое число в диапазоне от 0 до 4.

27. Соединение лекарственного средства с линкером по п.25 или 26, где формула VA или формула VB имеет следующую структуру



соответственно.

28. Соединение лекарственного средства с линкером по п.25 или 26, имеющее структуру формулы VI



(Формула VI)

где звездочка (*) обозначает хиральность или ее отсутствие у указанного атома углерода;

$A_{2.4}$ представляют собой независимо выбранные необязательные субзвенья А, где $-[C(R^{b1})(R^{b1})]_q$ - [HE]- представляет собой A_1 , когда присутствует одна или несколько таких субъединиц;

один из R и R'' представляет собой водород, и другой представляет собой водород или хлор;

R' представляет собой водород или электроноакцепторную группу;

R^{a1} представляет собой водород или основное звено (BU), необязательно защищенное, имеющее структуру $-CH_2-N(R^{22})(R^{23})$ или его соль присоединения кислоты, где R²² и R²³, независимо, представляют собой водород, метил или этил, или оба вместе с атомом азота, к которому они присоединены, обозначают 5- или 6-членный гетероциклоалкил, или один из R²² и R²³ представляет собой водород, и другой представляет собой кислотно-чувствительную защитную карбаматную группу;

R^{a2} представляет собой водород;

индекс q обозначает целое число в диапазоне от 0 до 5, когда HE присутствует, или от 1 до 5, когда HE отсутствует;

каждый R^{b1} независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

HE отсутствует или представляет собой $-C(=O)-$;

R⁴⁵ представляет собой $-CO_2H$;

J' представляет собой $-NH-$;

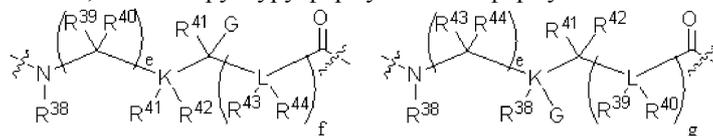
V и Z³ представляют собой $=CH-$;

R⁸ представляет собой водород; и

R⁹ представляет собой водород или метил.

29. Соединение лекарственного средства с линкером по п.28, где указанный отмеченный звездочкой (*) углерод преимущественно имеет ту же абсолютную конфигурацию, что и альфа-углерод L-аминокислоты, когда указанный углерод является хиральным, или

где A и A₀, независимо, имеют структуру формулы 7 или формулы 8



(Формула 7)

(Формула 8)

где волнистые линии показывают ковалентное присоединение к остатку структуры соединения лекарственного средства с линкером, где K и L, независимо, представляют собой C, N, O или S, при условии, что, когда K или L представляет собой O или S, R⁴¹ и R⁴²-K или R⁴³ и R⁴⁴-L отсутствуют, и, когда K или L представляет собой N, один из R⁴¹ и R⁴²-K или один из R⁴² и R⁴³-L отсутствуют, и при условии, что два соседних L не являются независимо выбранными в виде N, O или S;

где индексы e и f являются независимо выбранными целыми числами, которые варьируются от 0 до 12, и индекс g обозначает целое число в диапазоне от 1 до 12;

где G представляет собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, $-OH$, $-OR^{PR}$, $-CO_2H$, CO_2R^{PR} , где R^{PR} представляет собой соответствующую защитную группу,

или G представляет собой $-N(R^{PR})(R^{PR})$, где R^{PR} независимо представляют собой защитную группу или R^{PR} вместе образуют соответствующую защитную группу,

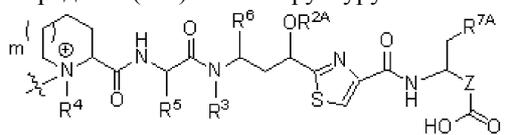
или G представляет собой $-N(R^{45})(R^{46})$, где один из R^{45} , R^{46} представляет собой водород или R^{PR} , где R^{PR} представляет собой соответствующую защитную группу, и другой представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил;

где R^{38} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил; R^{39} - R^{44} , независимо, представляют собой водород, необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, необязательно замещенный C_6 - C_{14} -арил или необязательно замещенный C_5 - C_{14} -гетероарил, или оба R^{39} и R^{40} вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, включают C_3 - C_6 -циклоалкил, или R^{41} и R^{42} вместе с K, к которому они присоединены, когда K представляет собой C,

или R^{43} и R^{44} вместе с L, к которому они присоединены, когда L представляет собой атом углерода, образуют C_3 - C_6 -циклоалкил, или R^{40} и R^{41} , или R^{40} и R^{43} , или R^{41} и R^{43} вместе с атомом углерода или гетероатомом, к которому они присоединены, и атомами, находящимися между этими атомами углерода и/или гетероатомами, включают 5- или 6-членный циклоалкил или гетероциклоалкил, при условии, что, когда K представляет собой O или S, R^{41} и R^{42} отсутствуют, когда K представляет собой N, один из R^{41} и R^{42} отсутствует, когда L представляет собой O или S, R^{43} и R^{44} отсутствуют, и, когда L представляет собой N, один из R^{43} и R^{44} отсутствует, или

где A_0 представляет собой остаток альфа-амино, бета-амино или другой содержащий амин кислоты.

30. Соединение лекарственного средства с линкером по п.28 или 29, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру

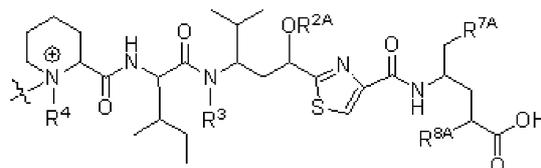


где индекс m обозначает 0 или 1;

Z представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкилен или необязательно замещенный C_2 - C_8 -алкенилен; и

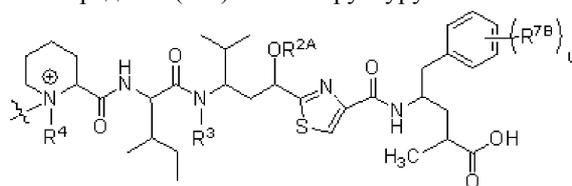
R^{7A} представляет собой необязательно замещенный C_6 - C_{10} -арил или необязательно замещенный C_6 - C_{10} -гетероарил.

31. Соединение лекарственного средства с линкером по п.30, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру



где R^{7A} представляет собой необязательно замещенный фенил и R^{8A} представляет собой водород или метил.

32. Соединение лекарственного средства с линкером по п.30 или 31, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру



где R^4 представляет собой метил;

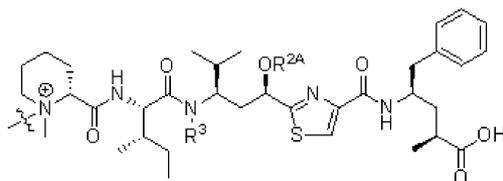
индекс u обозначает 0, 1 или 2;

R^3 представляет собой H, метил, этил, пропил, $-CH_2-OC(O)R^{3A}$, $-CH_2CH(R^{3B})C(O)R^{3A}$ или $-CH(R^{3B})C(O)NHR^{3A}$, где R^{3A} представляет собой C_1 - C_6 -алкил и R^{3B} представляет собой H или C_1 - C_6 -алкил, независимо выбранный из R^{3A} ;

R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, представляет собой O-связанный заместитель, выбранный из группы, включающей $-OCH_2OCH_2R^{2B}$, $-OCH_2R^{2B}$, $-OC(O)R^{2B}$, $-OCH_2OC(O)R^{2B}$, $-OC(O)N(R^{2B})(R^{2C})$ и $-OCH_2C(O)N(R^{2B})(R^{2C})$, где R^{2B} и R^{2C} независимо выбраны из группы, включающей H, C_1 - C_6 -алкил и C_2 - C_6 -алкенил; и

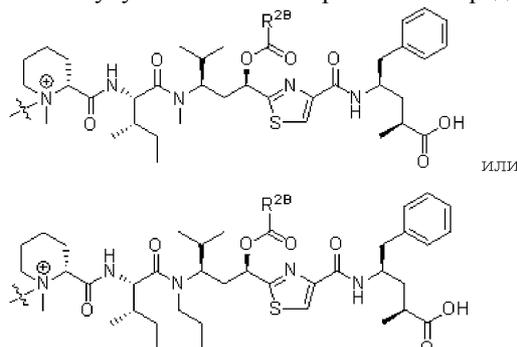
каждый R^{7B} , когда присутствует, независимо представляет собой -OH или -OCH₃.

33. Соединение лекарственного средства с линкером по п.32, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру

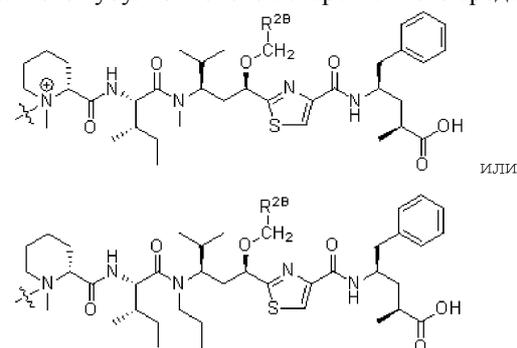


где R^{2A} представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ или $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$.

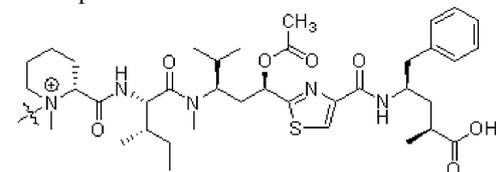
34. Соединение лекарственного средства с линкером по пп.32 или 33, где R^{2A} представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ или $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$, R^{2B} представляет собой $-\text{CH}_3$, R^3 представляет собой $-\text{CH}_3$, и индекс i обозначает 0, или R^{2A} представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ или $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$, или $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$, R^{2B} представляет собой $-\text{CH}_3$, R^3 представляет собой $-\text{CH}_3$, и индекс i обозначает 1, где R^{7B} представляет собой $-\text{OH}$, или где звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру



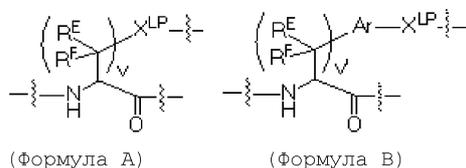
где R^{2B} представляет собой $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ или $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$, или где звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру:



где R^{2B} представляет собой водород, метил или $-\text{OCH}_3$, или $-\text{OCH}_2R^{2B}$ представляет собой $-\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ или $-\text{OCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$, или где звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства $-D^+$ представляет собой такой тубулизин M, структурой которого является



35. Соединение лекарственного средства с линкером по п.21, где L_p представляет собой аминокандиовую кислоту, диаминоалкановую кислоту, серозамещенную алкандиовую кислоту, серозамещенную аминокандиовую кислоту или гидроксилзамещенный остаток аминокандиовой кислоты, где аминокандиовая кислота, диаминоалкановая кислота, серозамещенная аминокандиовая кислота или гидроксилзамещенный остаток аминокандиовой кислоты имеет структуру формулы A или формулы B



где индекс v обозначает целое число в диапазоне от 1 до 4;

индекс v' обозначает целое число в диапазоне от 0 до 4;

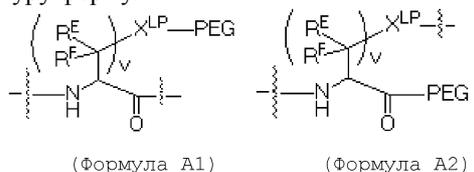
X^{LP} выбран из группы, включающей $-O-$, $-NR^{LP}-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-C(=O)-$, $-C(=O)N(R^{LP})-$, $-N(R^{LP})C(=O)N(R^{LP})-$ и $-N(R^{LP})C(=NR^{LP})N(R^{LP})-$, где каждый R^{LP} независимо выбран из группы, включающей водород и необязательно замещенный C_1-C_6 -алкил, или два R^{LP} вместе со своими промежуточными атомами определяют необязательно замещенный C_5-C_{10} -гетероциклоалкил, и оставшиеся R^{LP} имеют значения, определенные выше;

Ar представляет собой C_6-C_{14} -арил или C_5-C_{14} -гетероарил, необязательно замещенные;

каждый R^E и R^F независимо выбраны из группы, включающей $-H$, необязательно замещенный C_1-C_6 -алкил, необязательно замещенный C_6-C_{14} -арил и необязательно замещенный C_5-C_{14} -гетероарил, или R^E и R^F вместе с тем же атомом углерода, к которому они присоединены, или R^E и R^F соседних атомов углерода вместе этими атомами углерода обозначают необязательно замещенный C_3-C_8 -циклоалкил, при этом остальные заместители R^E и R^F определены выше; и

где волнистые линии указывает на ковалентное присоединение в структуре формулы A или формулы в структуре соединения лекарственного средства с линкером, или

где $-LP(PEG)-$ имеет структуру формулы A1 или A2



(Формула A1)

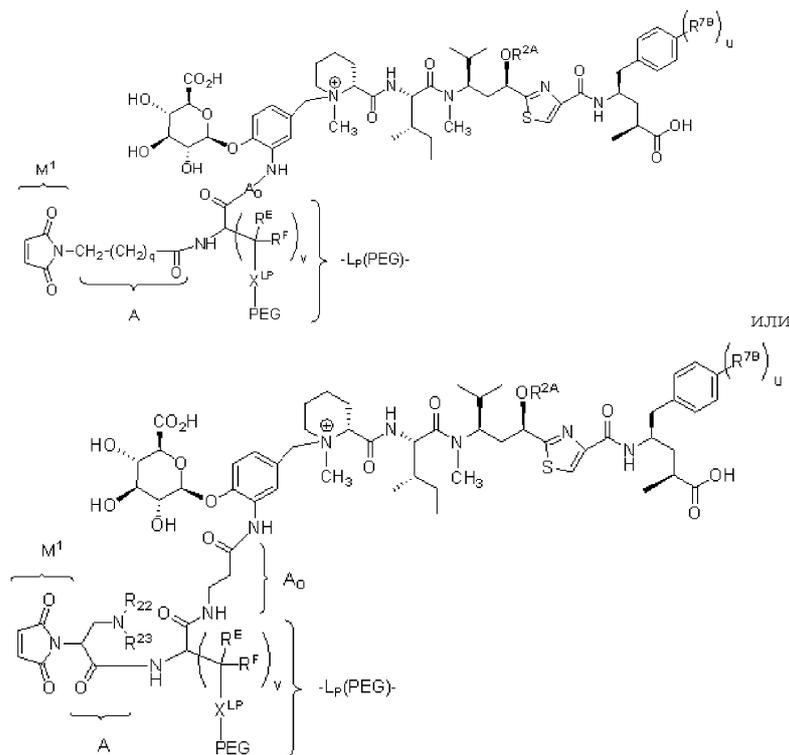
(Формула A2)

где X^{LP} выбран из группы, включающей $-O-$, $-NH-$, $-S-$ и $-C(=O)-$;

R^E и R^F независимо выбраны из группы, включающей $-H$ и $-C_1-C_4$ -алкил; и

где волнистая линия указывает на ковалентное присоединение в формуле A1 или формуле A2 в структуре соединения лекарственного средства с линкером.

36. Соединение лекарственного средства с линкером по любому пп.21-23, представленное следующей структурой:



где R^{2A} представляет собой C_1-C_4 -алкил, C_2-C_4 -алкенил, C_2-C_4 -алкинил или $-C(=O)R^{2B}$, где R^{2B} представляет собой C_1-C_4 -алкил;

A_0 отсутствует или представляет собой аминокислотный остаток;

индекс q обозначает целое число в диапазоне от 1 до 4;

индекс u обозначает 0 или 1;

индекс v обозначает целое число в диапазоне от 1 до 4;

R^{7B} , когда присутствует, представляет собой $-OH$;

X^{LP} выбран из группы, включающей $-O-$, $-NH-$, $-S-$ и $-C(=O)-$;

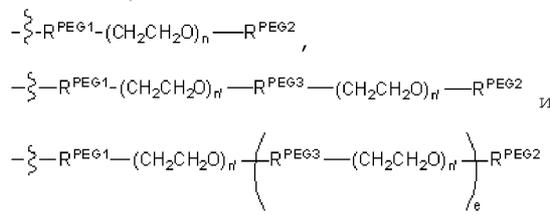
R^E и R^F независимо выбраны из группы, включающей $-H$ и C_1-C_4 -алкил;

один из R^{22} , R^{23} представляет собой водород, и другой представляет собой легко удаляемую защитную группу, или R^{22} и R^{23} , каждый, представляют собой водород на атоме азота, к которому они присоединены, необязательно протонированном в виде соли присоединения кислоты.

37. Соединение лекарственного средства с линкером по п.21, где

R^{2A} представляет собой C_1 - C_4 -алкил или C_3 - C_4 -алкенил, где C_1 - C_4 -алкил представляет собой $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CH_2CH_2CH_3$ и C_3 - C_4 -алкенил представляет собой $-CH_2CH=CH_2$ или $-CH(CH_3)CH=CH_2$, или R^{2A} представляет собой $-C(O)CH_3$, $-CH_2CH_3$ или $-CH_2CH=CH_2$.

38. Соединение лекарственного средства с линкером по любому из пп.21-23, где PEG имеет структуру, выбранную из группы, включающей



где волнистая линия показывает место присоединения к X^{LP} параллельного соединительного звена (L_P),

R^{PEG1} представляет собой необязательное PEG присоединяющее звено,

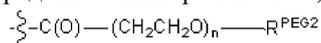
R^{PEG2} представляет собой PEG ограничивающее звено;

R^{PEG3} представляет собой PEG связывающее звено;

индекс n варьируется от 2 до 72;

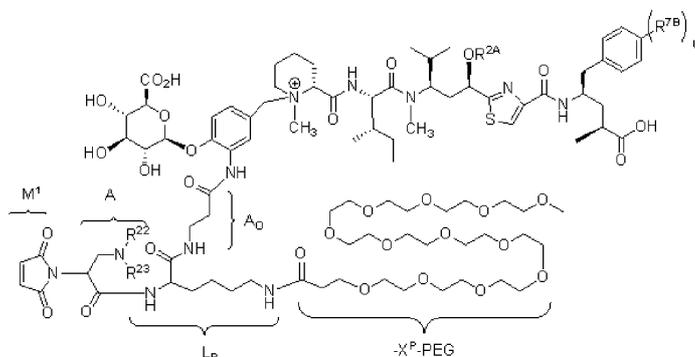
каждый индекс n' представляет собой целое число, независимо выбранное из диапазона от 1 до 72; и индекс e представляет собой целое число от 2 до 5.

39. Соединение лекарственного средства с линкером по п.36, где $-X^{LP}$ -PEG имеет структуру



40. Соединение лекарственного средства с линкером по п.39, где индекс n обозначает 12 и R^{PEG2} представляет собой водород или $-CH_3$.

41. Соединение лекарственного средства с линкером по п.36 или 37, где соединение имеет структуру

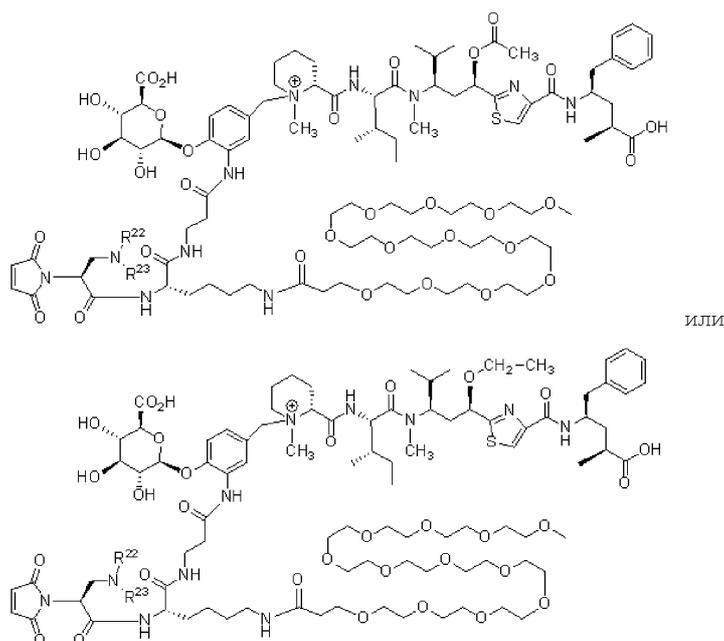


где индекс u обозначает 0 или 1;

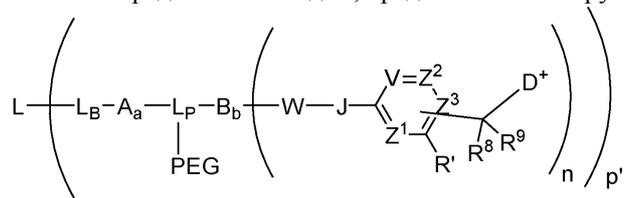
R^{7B} , когда присутствует, представляет собой $-OH$; и

R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, представляет собой $-OC(O)CH_3$, $-OCH_2CH_3$ или $-OCH_2CH=CH_2$.

42. Соединение лекарственного средства с линкером по п.41, где соединение имеет структуру



43. Конъюгат лекарственного средства с лигандом, представленный структурой формулы 1D



(Формула 1D)

или его фармацевтически приемлемая соль,

где L представляет собой лигандное звено из антитела, тем самым определяя конъюгат антитела с лекарственным средством;

L_B представляет собой звено, ковалентно связывающее лиганд;

L_P представляет собой параллельное соединительное звено, где L_P представляет собой аминокан-диовую кислоту, диаминоалкановую кислоту, серозамещенную алкандиовую кислоту, серозамещенную аминокан-диовую кислоту, диаминоалканол, аминокан-динол, гидроксилзамещенную алкандиовую кислоту, гидроксилзамещенную аминокан-диовую кислоту или серозамещенный остаток аминокан-диола, необязательно замещенные, где заместитель, содержащий серу, находится в восстановленном или окисленном виде или L_P представляет собой аминокислотный остаток лизина, аргинина, аспарагина, орнитина, цитруллина, цистеина, гомоцистеина, пеницилламина, треонина, серина, глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, тирозина, гистидина или триптофана, где аминокислота имеет D- или L-конфигурацию;

PEG представляет собой полиэтиленгликолевое звено;

индекс a обозначает 0 или 1;

индекс b обозначает 0 или 1;

A представляет собой первое необязательное расширяющее звено, таким образом, когда индекс a обозначает 0, A отсутствует, или, когда индекс a обозначает 1, A присутствует и необязательно включает две, три или четыре независимо выбранных субъединиц (A_1, A_2, A_3, A_4);

B представляет собой разветвляющее звено или второе необязательное расширяющее звено (A_0), таким образом, когда индекс b обозначает 0, B отсутствует, или, когда индекс b обозначает 1, B присутствует и необязательно включает две, три или четыре субъединицы независимо от A;

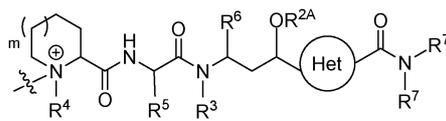
индекс n обозначает 1, 2, 3 или 4, при условии, что индекс b обозначает 1 и B представляет собой разветвление, когда индекс n обозначает 2, 3 или 4, и при условии, что B представляет собой A_0 или отсутствует, когда индекс n обозначает 1;

V, Z^1 , Z^2 и Z^3 представляют собой =N- или =C(R^{24})-, где R^{24} представляет собой водород или C_1 - C_6 -алкил, C_2 - C_8 -алкинил или C_2 - C_8 -алкинил, необязательно замещенные, или галоген, $-NO_2$, $-CN$ или другую электроноакцепторную группу, или $-OCH_3$ или другую электроноакцепторную группу, или $-C(R^8)(R^9)-D^+$, где один из V, Z^1 и Z^3 представляет собой =C(R^{24})-, где R^{24} представляет собой $-C(R^8)(R^9)-D^+$;

R^1 представляет собой водород или $-OCH_3$ или другую электронодонорную группу;

индекс p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 24;

D⁺ представляет собой звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства, предпочтительно имеющее структуру



где кольцо Het представляет собой 5-членный азотсодержащий гетероарилен, содержащий по меньшей мере один гетероатом, выбранный из группы, состоящей из N, O и S, и где указанные обязательные заместители на этом гетероарилеене находятся в 1,3-положении по отношению друг к другу при необязательном замещении по остальным положениям;

индекс m обозначает 0 или 1;

R^{2A} представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, или R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, обозначает O-связанный заместитель;

R³ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

R⁴, R⁵ и R⁶ представляют собой необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

один R⁷ представляет собой необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, необязательно замещенный C₆-C₁₈-арилалкил, необязательно замещенный C₆-C₁₈-гетероарилалкил, и другой R⁷ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

J представляет собой гетероатом, необязательно замещенный в случае азота, предпочтительно, J представляет собой -N(R³³)-, где R³³ представляет собой водород или метил;

W представляет собой пептид, включающий аминокислотную последовательность, ковалентно присоединенную к J через амидную связь, где эта амидная связь может расщепляться протеазой,

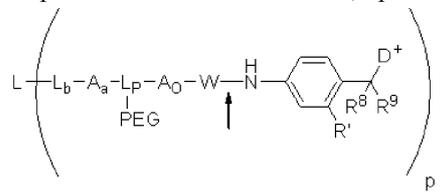
где расщепление указанной амидной связи с помощью протеазы инициирует высвобождение тубулизинового соединения (D) из соединения конъюгата лекарственного средства с лигандом;

где термин "необязательно замещенный" относится к частице, которая может быть незамещена или замещена группой, выбранной из одного или нескольких атомов, выбранных из группы, состоящей из галогена, -CN, -OH, -NH₂, -NH(CH₃), -N(CH₃)₂, C₁-C₆-алкила, C₁-C₆-фторалкила, C₁-C₆-фторалкокси, C₁-C₆-гетероалкила, C₃-C₈-циклоалкила, C₃-C₈-гетероциклоалкила, C₅-C₁₄-арила, C₅-C₁₄-гетероарила, C₁-C₆-алкокси, C₅-C₁₄-арилокси, C₁-C₆-алкилтио, C₅-C₁₄-арилтио, C₁-C₆-алкилсульфоксида, C₅-C₁₄-арилсульфоксида, C₁-C₆-алкилсульфона, -C(=O)OH, -C(=O)O-C₁-C₆-алкила, -C(=O)NH₂, -C(=O)NH(C₁-C₆-алкила) и -C(=O)N(C₁-C₆-алкил)₂;

где термин "электроноакцепторная группа" относится к частице, выбранной из группы, состоящей из необязательно замещенного C₂-C₆-алкенила, необязательно замещенного C₂-C₆-алкинила, -C(=O), -CN, -NO₂, -CX₃, -X, -C(=O)OR', -C(=O)NH₂, -C(=O)N(R')R^{op}, -C(=O)R', -C(=O)X, -S(=O)₂R^{op}, -S(=O)₂OR', -SO₃H₂, -S(=O)₂NH₂, -S(=O)₂N(R')R^{op}, -PO₃H₂, -P(=O)(OR')(OR^{op})₂, -NO, -NH₂, -NH(R^{op}), -N(R')(R^{op}) и -N(R^{op})₃⁺, где X представляет собой -F, -Cl, -Br или -I, и каждый из R и R^{op} независимо выбран из группы необязательных заместителей;

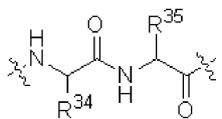
где термин "электронодонорная группа" относится к частице, выбранной из группы, состоящей из -OH, -OR', -NH₂, -NHR', N(R')₂, необязательно замещенного C₅-C₁₄-арила, необязательно замещенного C₅-C₁₄-гетероарила, необязательно замещенного C₂-C₆-алкенила и необязательно замещенного C₂-C₆-алкинила, где каждый R' независимо представляет собой C₁-C₆-алкил.

44. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.43, представленный структурой

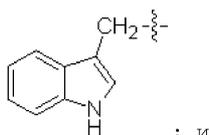


где W включает дипептид, где дипептид находится на дистальном конце W, и указанная связь представляет собой амидную связь, специфически расщепляемую внутриклеточной протеазой по сравнению со свободно циркулирующими сывороточными протеазами, или

где дипептид имеет структуру

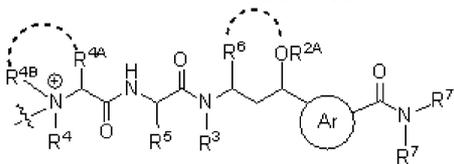


где R³⁴ представляет собой бензил, метил, изопропил, изобутил, втор-бутил, -CH(OH)CH₃ или имеет следующую структуру:



R^{35} представляет собой метил, $-(CH_2)_4-NH_2$, $-(CH_2)_3NH(C=O)NH_2$, $(CH_2)_3NH(C=NH)NH_2$ или $-(CH_2)_2CO_2H$, где волнистая линия на дипептидном N-конце обозначает ковалентное присоединение к A_0 или L_p , в зависимости от присутствия или отсутствия A_0 , соответственно, и волнистая линия на дипептидном C-конце обозначает ковалентное присоединение к J.

45. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.43 или 44, где звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру



где изогнутые пунктирные линии указывают на необязательную циклизацию;

R^{2A} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, или R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, обозначает заместитель, выбранный из группы, состоящей из $-OCH_2OCH_2R^{2B}$, $-OCH_2R^{2B}$, $-OC(O)R^{2B}$, $-CH_2OC(O)R^{2B}$, $-OC(O)N(R^{2B})(R^{2C})$ и $-OCH_2C(O)N(R^{2B})(R^{2C})$, или R^{2A} отсутствует, когда R^6 связан с этим атомом кислорода, как показано изогнутой пунктирной линией между R^6 и атомом кислорода, обозначая кислородсодержащий C_5 - C_{10} -гетероциклоалкил;

обведенный кружком Ar представляет собой 5-членный азот-гетероарил, содержащий по меньшей мере один гетероатом, выбранный из группы, состоящей из N, O и S, где указанные обязательные заместители на этом гетероариле находятся в 1,3-положении по отношению друг к другу при необязательном замещении по остальным положениям;

R^3 представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил;

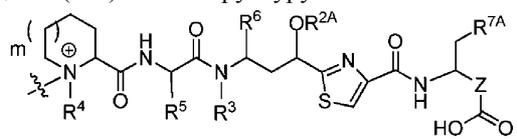
R^4 , R^5 и R^6 представляют собой необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, независимо выбранный, или R^6 присоединен к атому кислорода фрагмента $-OR^{2A}$, в котором R^{2A} отсутствует, и R^4 и R^5 имеют значения, определенные выше;

R^{4A} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_8 -алкил, и R^{4B} представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, или оба вместе с атомом азота, к которому они присоединены, как показано изогнутой пунктирной линией между R^{4A} и R^{4B} , обозначают гетероциклоалкил с кватернизированным атомом азота, необязательно замещенный;

один R^7 представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкил, и другой R^7 представляет собой необязательно замещенный C_6 - C_{14} -аралкил или C_5 - C_{14} -гетероаралкил;

где волнистая линия указывает на ковалентное связывание структуры D^+ с остатком структуры конъюгата.

46. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.43, где звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру

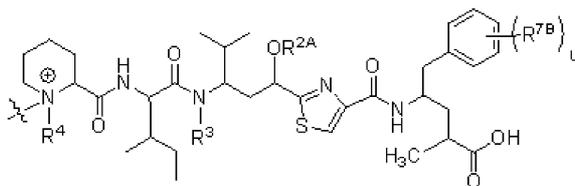


где индекс m обозначает 0 или 1;

Z представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкилен или необязательно замещенный C_2 - C_8 -алкенилен; и

R^{7A} представляет собой необязательно замещенный C_6 - C_{12} -арил или необязательно замещенный C_5 - C_{12} -гетероарил.

47. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.45 или 46, где звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства $-D^+$ имеет структуру:



где R^4 представляет собой метил;

индекс u обозначает 0, 1 или 2;

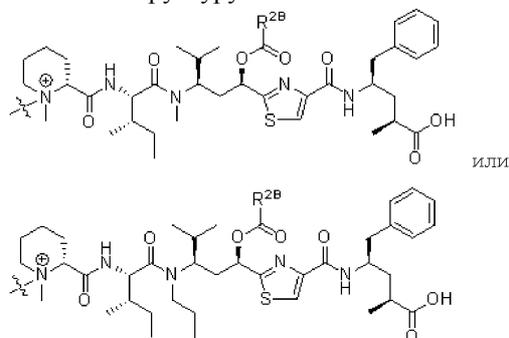
R^3 представляет собой H, метил, этил, пропил, $-CH_2-OC(O)R^{3A}$, $-CH_2CH(R^{3B})C(O)R^{3A}$ или

$-\text{CH}(\text{R}^{3\text{B}})\text{C}(\text{O})\text{NHR}^{3\text{A}}$, где $\text{R}^{3\text{A}}$ представляет собой $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкил и $\text{R}^{3\text{B}}$ представляет собой H или $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкил, независимо выбранный из $\text{R}^{3\text{A}}$;

$\text{R}^{2\text{A}}$ вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, представляет собой O -связанный заместитель, выбранный из группы, включающей $-\text{OCH}_2\text{OCH}_2\text{R}^{2\text{B}}$, $-\text{OCH}_2\text{R}^{2\text{B}}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^{2\text{B}}$, $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{R}^{2\text{B}}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{2\text{B}})(\text{R}^{2\text{C}})$ и $-\text{OCH}_2\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{2\text{B}})(\text{R}^{2\text{C}})$, где $\text{R}^{2\text{B}}$ и $\text{R}^{2\text{C}}$ независимо выбраны из группы, включающей H , $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкил и $\text{C}_2\text{-C}_6$ -алкенил; и

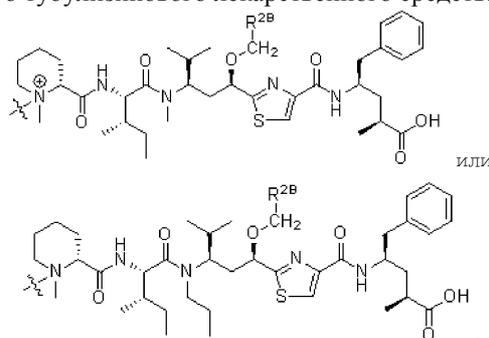
каждый $\text{R}^{7\text{B}}$, когда присутствует, независимо представляет собой $-\text{OH}$ или $-\text{OCH}_3$.

48. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.45, где звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства имеет структуру



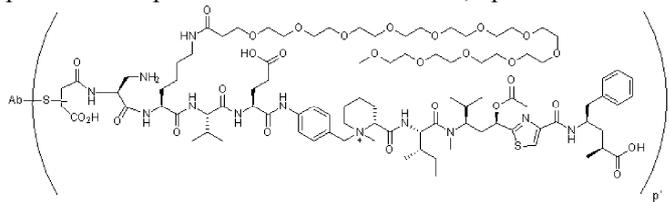
где $\text{R}^{2\text{B}}$ представляет собой $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$, или

звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства имеет структуру

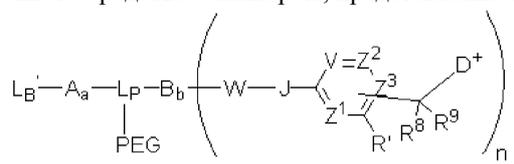


где $\text{R}^{2\text{B}}$ представляет собой водород, метил или $-\text{OCH}_3$, или $-\text{OCH}_2\text{R}^{2\text{B}}$ представляет собой $-\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ или $-\text{OCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$.

49. Конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.45, представленный структурой



50. Соединение лекарственного средства с линкером, представленное следующей структурой



или его фармацевтически приемлемая соль,

где L_B' представляет собой предшественник звена ковалентно связывающего лиганда;

L_P представляет собой параллельное соединительное звено, где L_P представляет собой аминоканоническую кислоту, диаминоалкановую кислоту, серозамещенную алкандиовую кислоту, серозамещенную аминоканоническую кислоту, диаминоалканол, аминоканонидин, гидроксилзамещенную алкандиовую кислоту, гидроксилзамещенную аминоканоническую кислоту или серозамещенный остаток аминоканола, необязательно замещенные, где заместитель, содержащий серу, находится в восстановленном или окисленном виде или L_P представляет собой аминокислотный остаток лизина, аргинина, аспарагина, глутамина, орнитина, цитруллина, цистеина, гомоцистеина, пеницилламина, треонина, серина, глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, тирозина, гистидина или триптофана, где аминокислота имеет D - или L -конфигурацию;

PEG представляет собой полиэтиленгликолевое звено;
индексы a и b, независимо, представляют собой 0 или 1;
индекс n обозначает 1, 2, 3 или 4;

A представляет собой первое необязательное расширяющее звено, таким образом, когда индекс a обозначает 0, A отсутствует, или, когда индекс a обозначает 1, A присутствует и необязательно включает две, три или четыре независимо выбранных субъединиц (A₁, A₂, A₃, A₄);

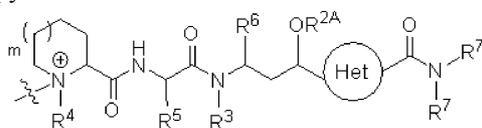
B представляет собой разветвляющееся звено или второе необязательное расширяющее звено (A₀), таким образом, когда индекс b обозначает 0, B отсутствует, или, когда индекс b обозначает 1, B присутствует и необязательно включает две, три или четыре субъединицы независимо от A,

где индекс b обозначает 1 и B представляет собой разветвление, когда индекс n обозначает 2, 3 или 4 или b обозначает 0 или 1, так что B представляет собой A₀, когда индекс n обозначает 1;

V, Z¹, Z² и Z³ представляют собой =N- или =C(R²⁴)-, где R²⁴ представляет собой водород или C₁-C₆-алкил, C₂-C₈-алкенил или C₂-C₈-алкинил, необязательно замещенные, или галоген, -NO₂, -CN или другую электроноакцепторную группу, или -OCH₃ или другую электроноакцепторную группу, или -C(R⁸)(R⁹)-D⁺, где один из V, Z¹ и Z³ представляет собой =C(R²⁴)-, где R²⁴ представляет собой -C(R⁸)(R⁹)-D⁺;

R' представляет собой водород или -OCH₃ или другую электронодонорную группу;

D⁺ представляет собой звено кватернизированного тубулизинового лекарственного средства, предпочтительно имеющее структуру



где кольцо Het представляет собой 5-членный азотсодержащий гетероарилен, содержащий по меньшей мере один гетероатом, выбранный из группы, состоящей из N, O и S, и где указанные обязательные заместители на этом гетероариле находятся в 1,3-положении по отношению друг к другу при необязательном замещении по остальным положениям;

индекс m обозначает 0 или 1;

R^{2A} представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, или R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, обозначает O-связанный заместитель;

R³ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

R⁴, R⁵ и R⁶ представляют собой необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

один R⁷ представляет собой необязательно замещенный C₁-C₆-алкил, необязательно замещенный C₆-C₁₈-арилалкил, необязательно замещенный C₆-C₁₈-гетероарилалкил, и другой R⁷ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆-алкил;

J представляет собой гетероатом, необязательно замещенный азотом, предпочтительно, J представляет собой -N(R³³)-, где R³³ представляет собой водород или метил;

W представляет собой пептид, включающий аминокислотную последовательность, ковалентно присоединенную к J через амидную связь, где расщепление этой амидной связи указанной протеазой инициирует высвобождение тубулизинового соединения (D) из соединения лекарственного средства с линкером или соединения конъюгата лекарственного средства с лигандом, полученного из соединения линкера с лекарственным средством, где соединение конъюгата лекарственного средства с лигандом имеет структуру формулы 1D по п.43, в которой индекс p заменен на индекс p', где индекс p' обозначает целое число в диапазоне от 1 до 24;

где термин "необязательно замещенный" относится к частице, которая может быть незамещена или замещена группой, выбранной из одного или нескольких атомов, выбранных из группы, состоящей из галогена, -CN, -OH, -NH₂, -NH(CH₃), -N(CH₃)₂, C₁-C₆-алкила, C₁-C₆-фторалкила, C₁-C₆-фторалкокси, C₁-C₆-гетероалкила, C₃-C₈-циклоалкила, C₃-C₈-гетероциклоалкила, C₅-C₁₄-арила, C₅-C₁₄-гетероарила, C₁-C₆-алкокси, C₅-C₁₄-арилокси, C₁-C₆-алкилтио, C₅-C₁₄-арилтио, C₁-C₆-алкилсульфоксида, C₅-C₁₄-арилсульфоксида, C₁-C₆-алкилсульфона, -C(=O)OH, -C(=O)O-C₁-C₆-алкила, -C(=O)NH₂, -C(=O)NH(C₁-C₆-алкила) и -C(=O)N(C₁-C₆-алкил)₂;

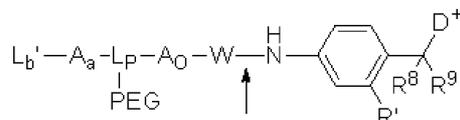
где термин "электроноакцепторная группа" относится к частице, выбранной из группы, состоящей из необязательно замещенного C₂-C₆-алкенила, необязательно замещенного C₂-C₆-алкинила, -C(=O), -CN, -NO₂, -CX₃, -X, -C(=O)OR', -C(=O)NH₂, -C(=O)N(R')R^{op}, -C(=O)R', -C(=O)X, -S(=O)₂R^{op}, -S(=O)₂OR', -SO₃H₂, -S(=O)₂NH₂, -S(=O)₂N(R')R^{op}, -PO₃H₂, -P(=O)(OR')(OR^{op})₂, -NO₂, -NH₂, -NH(R^{op}), -N(R')(R^{op}) и -N(R^{op})₃⁺, где X представляет собой -F, -Cl, -Br или -I, и каждый из R и R^{op} независимо выбран из группы необязательных заместителей;

где термин "электронодонорная группа" относится к частице, выбранной из группы, состоящей из -OH, -OR', -NH₂, -NHR', N(R')₂, необязательно замещенного C₅-C₁₄-арила, необязательно замещенного C₅-C₁₄-гетероарила, необязательно замещенного C₂-C₆-алкенила и необязательно замещенного C₂-C₆-алкинила, где каждый R' независимо представляет собой C₁-C₆-алкил; и

где термин "O-связанный заместитель" относится к заместителю, выбранному из группы, состоя-

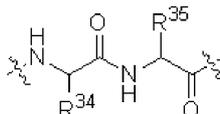
шей из $-\text{OH}$, $-\text{OCH}_2\text{OCH}_2\text{R}^{2\text{B}}$, $-\text{OCH}_2\text{R}^{2\text{B}}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^{2\text{B}}$, $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{R}^{2\text{B}}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{2\text{B}})(\text{R}^{2\text{C}})$ и $-\text{OCH}_2\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{2\text{B}})(\text{R}^{2\text{C}})$, где $\text{R}^{2\text{B}}$ и $\text{R}^{2\text{C}}$ независимо выбраны из группы, состоящей из H , $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкила и $\text{C}_2\text{-C}_8$ -алкенила.

51. Соединение лекарственного средства с линкером по п.50, представленное следующей структурой:

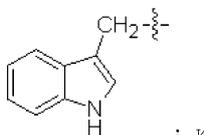


где W включает дипептид, где дипептид находится на дистальном конце W , и указанная связь представляет собой амидную связь, специфически расщепляемую внутриклеточной протеазой по сравнению со свободно циркулирующими сывороточными протеазами, и

где дипептид имеет структуру

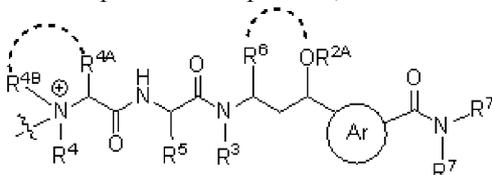


где R^{34} представляет собой бензил, метил, изопропил, изобутил, втор-бутил, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ или имеет следующую структуру:



где R^{35} представляет собой метил, $-(\text{CH}_2)_4\text{-NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{C}=\text{O})\text{NH}_2$, $(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{C}=\text{NH})\text{NH}_2$ или $-(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$, где волнистая линия на дипептидном N-конце обозначает ковалентное присоединение к A_o или к L_b , в зависимости от присутствия или отсутствия A_o , соответственно, и волнистая линия на дипептидном C-конце обозначает ковалентное присоединение к атому азота указанной амидной связи.

52. Соединение лекарственного средства с линкером по п.51, где D^+ представляет собой звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства, имеющего структуру



где изогнутые пунктирные линии указывают на необязательную циклизацию; $\text{R}^{2\text{A}}$ представляет собой водород или необязательно замещенный $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкил, или $\text{R}^{2\text{A}}$ вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, обозначает O-связанный заместитель, иной чем $-\text{OH}$, или $\text{R}^{2\text{A}}$ отсутствует, когда R^6 связан с этим атомом кислорода, как показано изогнутой пунктирной линией между R^6 и атомом кислорода, обозначая кислородсодержащий $\text{C}_5\text{-C}_{10}$ -гетероциклоалкил;

обведенный кружком Ar представляет собой 5-членный азот-гетероарил, содержащий по меньшей мере один гетероатом, выбранный из группы, состоящей из N , O и S , где указанные обязательные заместители на этом гетероариле находятся в 1,3-положении относительно друг друга с необязательным замещением в оставшихся положениях;

R^3 представляет собой водород или необязательно замещенный $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкил;

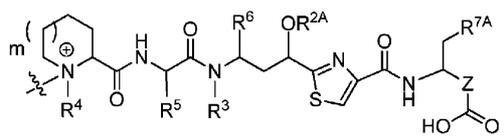
R^4 , R^5 и R^6 представляют собой необязательно замещенный $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкил, независимо выбранный, или R^6 присоединен к атому кислорода фрагмента $-\text{OR}^{2\text{A}}$, в котором $\text{R}^{2\text{A}}$ отсутствует, и R^4 и R^5 имеют значения, определенные выше;

$\text{R}^{4\text{a}}$ представляет собой водород или необязательно замещенный $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкил, и $\text{R}^{4\text{b}}$ представляет собой необязательно замещенный $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкил, или оба вместе с атомом азота, к которому они присоединены, как показано изогнутой пунктирной линией между $\text{R}^{4\text{a}}$ и $\text{R}^{4\text{b}}$, обозначают гетероциклоалкил с кватернизированным атомом азота, необязательно замещенный;

один R^7 представляет собой водород или необязательно замещенный $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкил, и другой R^7 представляет собой необязательно замещенный $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ -аралкил или $\text{C}_5\text{-C}_{14}$ -гетероаралкил;

где волнистая линия указывает на ковалентное связывание структуры D^+ с остатком структуры LDC.

53. Соединение лекарственного средства с линкером по п.52, где звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства ($-\text{D}^+$) имеет структуру

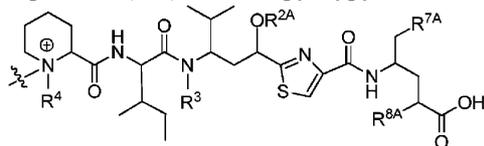


индекс m обозначает 0 или 1;

Z представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_6 -алкилен или необязательно замещенный C_2 - C_8 -алкенилен; и

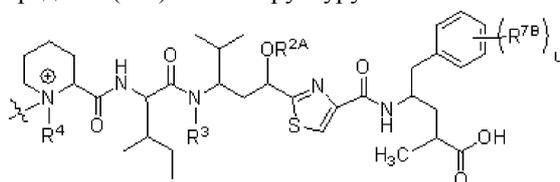
R^{7A} представляет собой необязательно замещенный C_6 - C_{12} -арил или необязательно замещенный C_5 - C_{12} -гетероарил.

54. Соединение лекарственного средства с линкером по п.52 или 53, где звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру:



где R^{7A} представляет собой необязательно замещенный фенил и R^{8A} представляет собой водород или метил.

55. Соединение лекарственного средства с линкером по п.52, где звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру



где R^4 представляет собой метил;

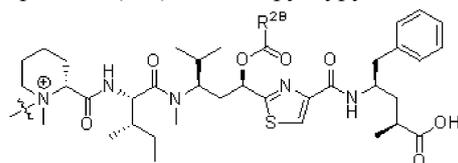
индекс u обозначает 0, 1 или 2;

R^3 представляет собой H, метил, этил, пропил, $-\text{CH}_2-\text{OC}(\text{O})\text{R}^{3A}$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{R}^{3B})\text{C}(\text{O})\text{R}^{3A}$ или $-\text{CH}(\text{R}^{3B})\text{C}(\text{O})\text{NHR}^{3A}$, где R^{3A} представляет собой C_1 - C_6 -алкил и R^{3B} представляет собой H или C_1 - C_6 -алкил, независимо выбранный из R^{3A} ;

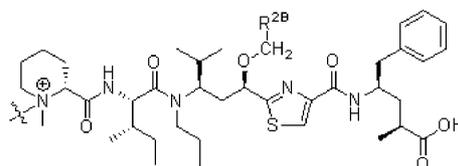
R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, представляет собой O-связанный заместитель, выбранный из группы, включающей $-\text{OCH}_2\text{OCH}_2\text{R}^{2B}$, $-\text{OCH}_2\text{R}^{2B}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^{2B}$, $-\text{OCH}_2\text{OC}(\text{O})\text{R}^{2B}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{2B})(\text{R}^{2C})$ и $-\text{OCH}_2\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{2B})(\text{R}^{2C})$, где R^{2B} и R^{2C} независимо выбраны из группы, включающей H, C_1 - C_6 -алкил и C_2 - C_6 -алкенил; и

каждый R^{7B} , когда присутствует, независимо представляет собой $-\text{OH}$ или $-\text{OCH}_3$.

56. Соединение лекарственного средства с линкером по п.54 или 55, где звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру



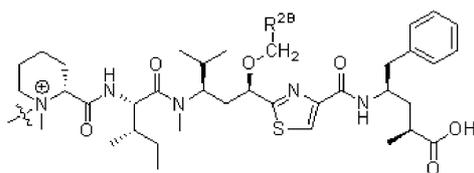
ИЛИ



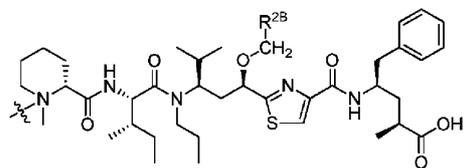
где R^{2B} представляет собой $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$,

или

звено кватернизованного тубулизинового лекарственного средства ($-D^+$) имеет структуру

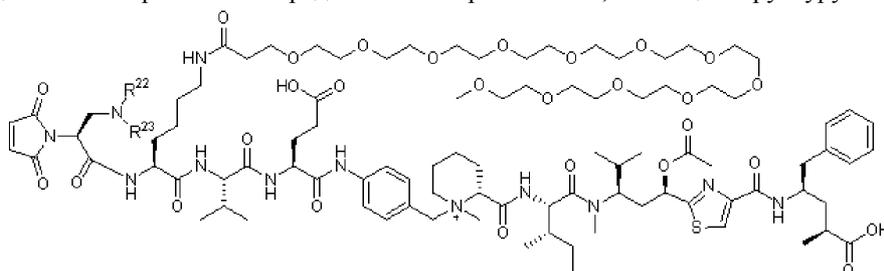


или



где R^{2B} представляет собой водород, метил или $-OCH_3$, или $-OCH_2R^{2B}$ представляет собой $-OCH_2CH=CH_2$ или $-OCH_2C(CH_3)=CH_2$.

57. Соединение лекарственного средства с линкером по п.51, имеющее структуру



где один из R^{22} и R^{23} представляет собой водород и другой представляет собой легко удаляемую защитную группу, или R^{22} и R^{23} , каждый, представляют собой водород на атоме азота, к которому они присоединены, необязательно протонированном в виде соли присоединения кислоты.

58. Фармацевтический состав, содержащий конъюгат лекарственного средства с лигандом по п.1 и одно или несколько вспомогательных веществ.

59. Состав по п.58, где предшественник фармацевтически приемлемого состава является твердым веществом, пригодным для разведения в виде раствора для внутривенной инъекции субъекту, или где фармацевтически приемлемый состав представляет собой жидкость, подходящую для внутривенной инъекции субъекту;

и где конъюгат лекарственного средства с лигандом присутствует в фармацевтически приемлемом составе в эффективном количестве для лечения гиперпролиферативного состояния.

60. Применение конъюгата лекарственного средства с лигандом по п.1 или 43 для изготовления лекарственного средства для лечения гиперпролиферативного заболевания или состояния.

61. Применение по п.60, где гиперпролиферативное заболевание или состояние представляет собой злокачественное новообразование.

62. Применение по п.61, где гиперпролиферативное заболевание или состояние представляет собой лейкоз или лимфому.

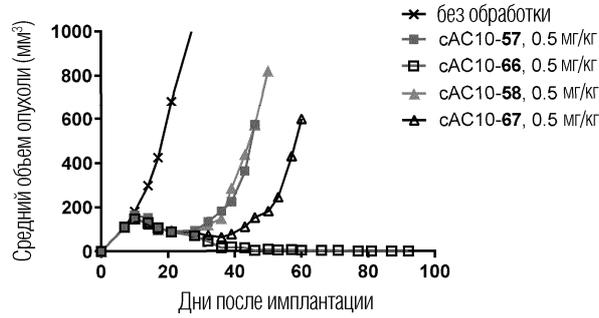
63. Способ ингибирования размножения опухолевых клеток или раковых клеток или вызывания апоптоза в опухолевых или раковых клетках путем воздействия на указанные клетки *in vitro* эффективным количеством конъюгата лекарственного средства с лигандом по п.1 или 43.

Ксенотрансплантатная модель L540cy HL -
ADC, нагруженные 4-лекарственными соединениями/mAb,
однократная доза внутривенно



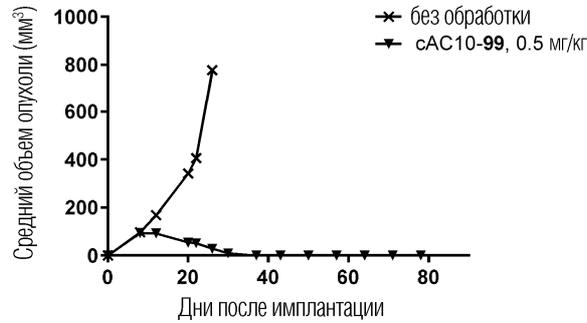
Фиг. 1

Ксенотрансплантатная модель L540су HL -
ADC, нагруженные 8-лекарственными соединениями/тAb,
однократная доза внутривенно



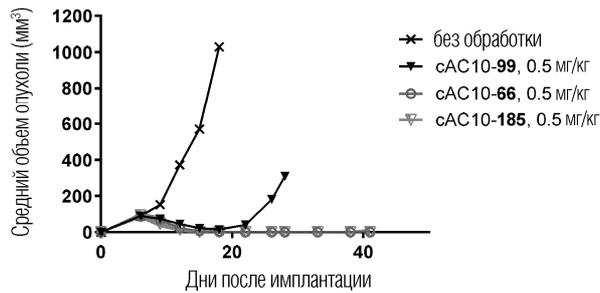
Фиг. 2

Ксенотрансплантатная модель L540су HL -
Нагруженные 8-лекарственными соединениями/тAb,
однократная доза внутривенно



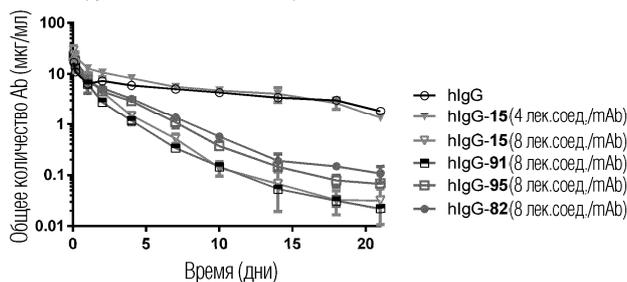
Фиг. 3

Модель Kaspas:KaspasBVR -
ADC, нагруженные 8-лекарственными соединениями/тAb,
однократная доза внутривенно



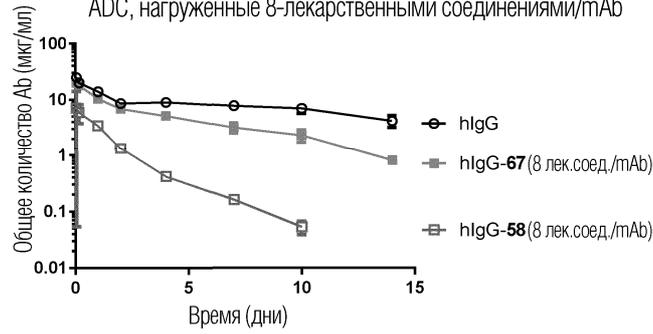
Фиг. 4

Фармакокинетические профили на крысах, 1 мг/кг внутривенно -
ADC, нагруженные 4- или 8-лекарственными соединениями/тAb



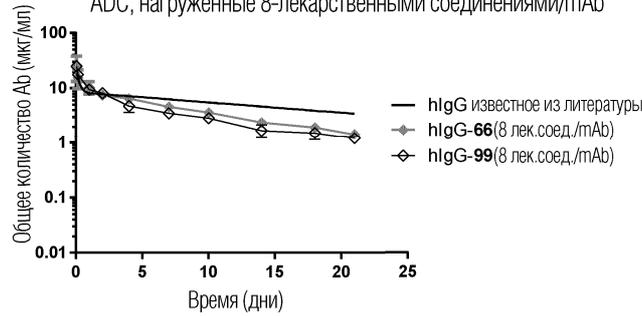
Фиг. 5

Фармакокинетические профили на крысах, 1 мг/кг внутривенно - ADC, нагруженные 8-лекарственными соединениями/тAb



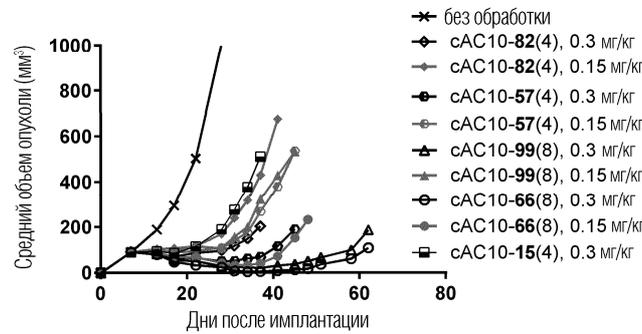
Фиг. 6

Фармакокинетические профили на крысах, 1 мг/кг внутривенно - ADC, нагруженные 8-лекарственными соединениями/тAb



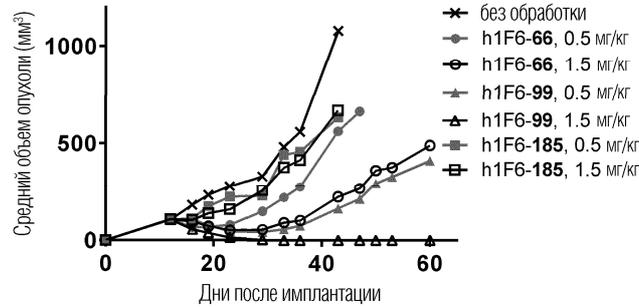
Фиг. 7

Ксенотрансплантатная модель L540су HL - ADC, нагруженные 4- или 8-лекарственными соединениями/тAb, однократная доза внутривенно



Фиг. 8

786-O MDR+ RCC h1F6 конъюгаты 8-лекарственными соединениями/тAb, однократная доза внутривенно



Фиг. 9

DELBVR ALCL MDR+ модель -
 ADC, нагруженные 4- или 8-лекарственными соединениями/mAb,
 однократная доза внутривенно

