

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202192240** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2024.01.31

(22) Дата подачи заявки
2014.12.19

(51) Int. Cl. *A61K 47/50* (2017.01)
A61K 47/68 (2017.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)

(54) **МЕТИЛЕНКАРБАМАТНЫЕ ЛИНКЕРЫ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ С
НАПРАВЛЕННЫМИ КОНЪЮГАТАМИ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА**

(31) **61/918,539; 103144705**

(32) **2013.12.19; 2014.12.19**

(33) **US; TW**

(62) **201691275; 2014.12.19**

(71) Заявитель:
СИДЖЕН ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

**Колаковский Роберт, Джеффри Скотт,
Берк Патрик (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение предусматривает конъюгаты лекарственного средства и лиганда и соединения лекарственного средства и линкера, которые содержат звено метиленкарбамата.

A1

202192240

202192240

A1

**МЕТИЛЕНКАРБАМАТНЫЕ ЛИНКЕРЫ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ С НАПРАВЛЕННЫМИ
КОНЬЮГАТАМИ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА**

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА СВЯЗАННЫЕ ЗАЯВКИ

[1] По этой обычной заявке испрашивается приоритет по 35 U.S.C. § 119(e) рассматриваемой заявки США с серийным № 61/918,539, поданной 19 декабря 2013 года, которая включена в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[2] Большое внимание уделяется использованию моноклональных антител (mAb) для направленной доставки цитотоксических средств в опухолевые клетки. Хотя проведена оценка множества различных классов лекарственных средств для доставки с помощью антител, только для некоторых классов лекарственных средств доказана достаточная активность в качестве конъюгатов лекарственного средства и антитела, которые при этом имеют подходящий профиль токсичности, чтобы оправдать клинические исследования. Одним таким классом являются ауристатины, родственные природному продукту доластатин 10. Репрезентативные ауристатины включают MMAE (N-метилвалин-валин-долаизолейин-долапроин-норэфеантителдрин) и MMAF (N-метилвалин-валин-долаизолейин-долапроин-фенилаланин).

[3] При конструировании конъюгатов лекарственного средства и антитела (ADC) посредством прикрепления цитотоксического средства к антителу, типично через линкер, учитывают различные факторы, в том числе присутствие конъюгационной группы на лекарственном средстве для прикрепления к линкеру и технология линкеров для прикрепления лекарственного средства к антителу стабильным образом при определенных условиях. Полагают, что определенные классы лекарственных средств, которые не имеют подходящих конъюгационных групп, не пригодны для использования в качестве ADC. Несмотря на то, что может быть возможно модифицировать такое лекарственное средство, чтобы вводить конъюгационную группу, такая модификация может отрицательно влиять на профиль активности лекарственного средства.

[4] Линкеры, содержащие сложные эфиры и карбонаты, типично

используют для конъюгации спиртосодержащих лекарственных средств и получают ADC, которые имеют переменную устойчивость и профили высвобождения лекарственного средства. Неоптимальный профиль может вести к сниженной активности ADC, недостаточной иммунологической специфичности конъюгата и повышенной токсичности из-за неспецифичного высвобождения лекарственного средства из конъюгата. Несмотря на то, что показано, что определенные фенолоспирты можно непосредственно прикреплять через простые эфирные связи к саморасщепляющемуся спейсерному звену п-амидобензиловый спирт, эти линкерные стратегии вряд ли работают для всех спиртосодержащих лекарственных средств, в том числе многих содержащих алифатические спирты лекарственных средств (см., например, Toki, et al. J. Org. Chem. 2002, 67, 1866-1872). Одна из причин этого может состоять в высокой рКа содержащих алифатические спирты лекарственных средств.

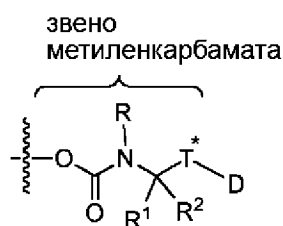
[5] Следовательно, существует потребность в новых технологиях линкеров, которые можно использовать для того, чтобы прикреплять лекарственные средства, которые до настоящего времени полагали непригодными для использования в качестве ADC, и в целом конъюгатов лекарственного средства и лиганда (LDC), в том числе потребность в более универсальных способах образования связей между лекарственными средствами, содержащими ароматические спирты и алифатические спирты, и другими направленными лигандами, в дополнение к антителам. Настоящее изобретение направлено на эти и другие потребности.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[6] Изобретение относится, помимо прочего, к конъюгатам лекарственного средства и лиганда, в которых конъюгат лекарственного средства и лиганда состоит из саморасщепляющегося сборочного звена, которое содержит звено метиленкарбамата для конъюгации лекарственного средства с направленным лигандом, к способам его получения и использования и его промежуточным соединениям. Конъюгаты лекарственного средства и лиганда по настоящему изобретению стабильны в циркуляции и при этом способны вызывать гибель клеток после высвобождения свободного лекарственного средства из конъюгата

вблизи опухолевых клеток или внутри них.

[7] В одном принципиальном варианте осуществления конъюгат лекарственного средства и лиганда (LDC) или его композиция состоит из звена лиганда, звена лекарственного средства и линкерного звена, которое соединяет звено лиганда со звеном лекарственного средства, в котором линкерное звено состоит из саморасщепляющегося сборочного звена, которое имеет звено метиленкарбамата и активируемый саморасщепляющийся фрагмент, в котором активация активируемого саморасщепляющегося фрагмента ведет к высвобождению свободного лекарственного средства из LDC от саморасщепления и в котором звено метиленкарбамата ковалентно прикреплено к звену лекарственного средства и активируемому саморасщепляющемуся фрагменту, в котором звено метиленкарбамата, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства, представлено структурой формулы I:



(I)

или ее фармацевтически приемлемой солью, в которой волнистая линия обозначает ковалентное прикрепление звена метиленкарбамата к активируемому саморасщепляющемуся фрагменту (X);

D представляет собой звено лекарственного средства, которое имеет функциональную группу (например, гидроксильную, тиоловую, амидную или аминную функциональную группу), которая встроена в звено метиленкарбамата,

T* представляет собой гетероатом из указанной функциональной группы (например, кислород, серу, необязательно замещенный азот), который становится встроенным в звено метиленкарбамата;

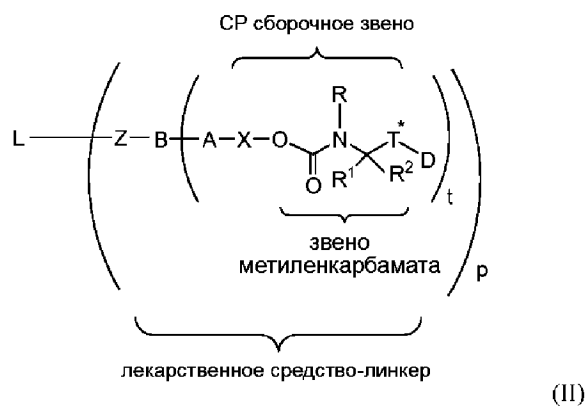
X представляет собой активируемый саморасщепляющийся фрагмент;

R, R¹ и R² независимо представляют собой водород,

необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил или необязательно замещенный C-связанный C₃-C₈ гетероарил,

или R и R¹ вместе с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, содержат фрагмент азетидинила, пирролодинила, пиперидинила или гомопиперидинила, и R² представляет собой водород.

[8] В некоторых из тех вариантов осуществления конъюгат лекарственного средства и лиганда или его композиция, который имеет звено метиленкарбамата формулы I, представлен структурой формулы II:



или ее фармацевтически приемлемой солью; в которой

L представляет собой звено лиганда;

Z представляет собой звено носителя;

B представляет собой необязательное звено ветвления и присутствует, когда t больше 1, и отсутствует, когда t равно 1;

A представляет собой необязательное соединительное звено;

X представляет собой активируемый саморасщепляющийся фрагмент;

нижний индекс t находится в диапазоне от 1 до 4;

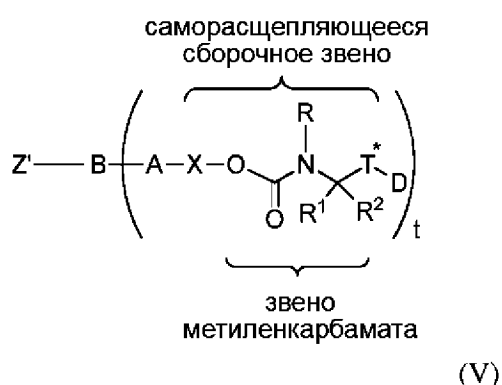
нижний индекс p представляет собой целое число (для отдельного LDC) или число (для совокупности LDC в композиции LDC) в диапазоне от 1 до 16; и

и D, T*, R, R¹ и R² как определено в формуле I.

[9] Другие принципиальные варианты осуществления представляют собой соединения лекарственного средства и линкера, которые можно использовать в качестве промежуточных

соединений для получения конъюгатов лекарственного средства и лиганда, в которых соединение лекарственного средства и линкера состоит из звена лекарственного средства и линкерного звена, в котором линкерное звено состоит из предшественника звена носителя (Z'), способного формировать ковалентную связь с направленным лигандом, который предоставляет звено лиганда, саморасщепляющегося сборочного звена, которое имеет звено метиленкарбамата и активируемый саморасщепляющийся фрагмент, в котором активация активируемого саморасщепляющегося фрагмента в LDC, в который встраивают соединение лекарственного средства и линкера, ведет к высвобождению свободного лекарственного средства из LDC посредством саморасщепления, и в котором звено метиленкарбамата ковалентно прикреплено к звену лекарственного средства и активируемому саморасщепляющемуся фрагменту.

[10] В некоторых из тех вариантов осуществления соединения лекарственного средства и линкера, которое имеет звено метиленкарбамата формулы I, имеет структуру формулы V:



или ее фармацевтически приемлемой соли, в которой

Z' представляет собой предшественник звена носителя для звена носителя (Z) и состоит из функциональной группы, которая обеспечивает ковалентное прикрепление звена лиганда к Z ;

и B , A , X , R , R^1 , R^2 , T^* , D и нижний индекс t как определено для формулы (II).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

[11] На фиг. 1 продемонстрирована устойчивость *ex vivo* в плазме крысы и мышши для композиции ADC, которая имеет усредненную нагрузку лекарственным средством, равную 4, в которой композиции ADC состоят из звена метиленалкоксикарбамата

(звена МАК), которое включает гетероатом кислорода из гидроксильной функциональной группы ауристатиона Е.

[12] На фиг. 2 продемонстрировано эффективное высвобождение тетрагидрохиолин-содержащего свободного лекарственного средства, BMN-673, из конъюгата лекарственного средства и N-ацетилцистеина (НАС) при активации саморасщеплением с помощью глюкоксидазы, где азот циклического анилина этого соединения встроен в звено метилкарбамата саморасщепляющегося сборочного звена конъюгата.

[13] На фиг. 3 продемонстрировано внутриклеточное накопление свободного лекарственного средства при направленной доставке посредством конъюгата лекарственного средства и лиганда, который имеет вариант звена МАК, прикрепленного к звену лекарственного средства из ингибитора PARP BMN-673.

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

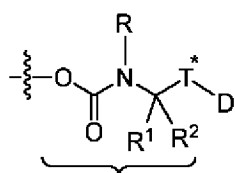
Общее

[14] Настоящее изобретение отчасти основано на открытии того, что прикрепление фрагмента лекарственного средство-линкер, имеющего саморасщепляющееся сборочное звено, которое содержит активируемый саморасщепляющийся фрагмент (X) и звено метилкарбамата (или арилкарбамата) (также обозначаемое в настоящем документе как звено МАК), которое содержит гетероатом кислорода из гидроксильной функциональной группы лекарственного средства (например, лекарственного средства, которое имеет ароматический или алифатический спирт), к звену лиганда делает возможным синтез стабильных при определенных условиях конъюгатов лекарственного средства и лиганда (LDC) через гидроксильную функциональную группу лекарственного средства. Получаемые LDC способны высвобождать свободное лекарственное средство при активации, при которой повторно образуется гидроксильная функциональная группа.

[15] Другие варианты осуществления отчасти основаны на открытии того, что звено МАК можно адаптировать для того, чтобы предоставлять другие звенья метилкарбамата для использования с лекарственными средствами, которые имеют функциональные группы, отличные от гидроксильной, в том числе лекарственными

средствами, которые содержат тиоловые, амидные или аминные функциональные группы. Соответственно, образцовые саморасщепляющиеся сборочные звенья, предусмотренные в настоящем документе, включают звенья метиленкарбамата, которые непосредственно прикреплены к гетероатомам из функциональных групп лекарственных средств, которые обладают способностями различных уходящих групп. В некоторых аспектах, функциональная группа представляет собой гидроксил (в том числе таковой из первичных, вторичных и третичных алифатических спиртов и ароматических спиртов), тиол (в том числе алкилтиол и арилтиол), амид (в том числе карбоксамид, сульфонамид и фосфорамида), или амин (в том числе первичные алифатические амины, вторичные алифатические амины и третичные алифатические амины, которые являются циклическими или алициклическими, или первичные или вторичные ариламины) из лекарственного средства с тем, чтобы гетероатом, прикрепленный к звену метиленкарбамата (T^*), представлял собой гетероатом кислорода, серы или азота (необязательно замещенный, как, например, когда функциональная группа представляет собой вторичный амид, третичный амин, циклический алифатический амин или N -замещенный ариламин). В этих случаях активация саморасщепляющегося сборочного звена при определенных условиях высвобождает $H-T^*-D$, или, в случае третичных аминов, T^*-D . Звено МАК представляет собой звено метиленкарбамата одного из типов, в котором гетероатом функциональной группы, используемый для ковалентного прикрепления гидроксилсодержащего лекарственного средства, представляет собой атом кислорода из гидроксильной функциональной группы лекарственного средства.

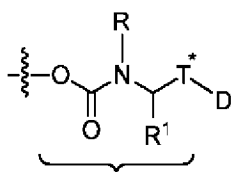
[16] В некоторых вариантах осуществления звено метиленкарбамата, ковалентно прикрепленное к звену лекарственного средства в саморасщепляющемся сборочном звене LDC или соединении лекарственного средства и линкера, имеет формулу I, представленную далее:



метиленалкокси
(или арилокси) карбамат (I),

в которой волнистая линия обозначает ковалентное прикрепление к активируемому саморасщепляющемуся фрагменту (X) саморасщепляющегося сборочного звена; D представляет собой звено лекарственного средства, которое имеет функциональную группу, которая включена во фрагмент лекарственного средство-линкер в LDC или соединение лекарственного средства и линкера, T* представляет собой гетероатом кислорода, серы или необязательно замещенного азота из указанной функциональной группы, который встроен в звено метиленкарбамата; R и R¹ и R² независимо представляют собой водород, необязательно замещенный C₁₋₆ алкил, необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил или необязательно замещенный C-связанный C₃₋₈ гетероарил, или оба R и R¹ вместе с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, содержат фрагмент азетидинила, пирролодинила, пиперидинила или гомопиперидинила (предпочтительно фрагмент пирролодинила или пиперидинила) и R² представляет собой водород.

[17] Образцы вариантов осуществления включают те, в которых R² представляет собой водород, как изложено в формуле (Ia)



метиленалкокси
(или арилокси) карбамат (Ia),

и волнистая линия, T*, D, R и R¹ как определено для формулы I. R и R¹ предпочтительно представляют собой водород, необязательно замещенный C₁₋₆ алкил или необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил (более предпочтительно водород, необязательно замещенный C₁₋₄ алкил или необязательно замещенный фенил, наиболее предпочтительно водород или необязательно замещенный

C₁₋₄ алкил). В некоторых вариантах осуществления формулы Ia, R и R¹ представляют собой водород. В других вариантах осуществления формулы Ia, один из R и R¹ представляет собой звено PEG или основное звено и другой представляет собой водород или незамещенный C₁₋₄ алкил.

[18] Образцы вариантов осуществления включают те, в которых R¹ и R² вместе с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, содержат гетероцикло, как изложено в формуле (Ib):



(Ib)

в которой T* и D и волнистая линия как определено для формулы I и s равно 0, 1, 2 или 3 (предпочтительно 0, 1 или 2; более предпочтительно 1 или 2).

[19] В некоторых аспектах, звено метиленакарбамата представляет собой звено МАК. В таких вариантах осуществления D представляет собой звено лекарственного средства, которое имеет гидроксильную функциональную группу, и звено МАК, ковалентно прикрепленное к звену лекарственного средства в саморасщепляющемся сборочном звене в LDC или соединении лекарственного средства и линкера, имеет формулу I', представленную далее:

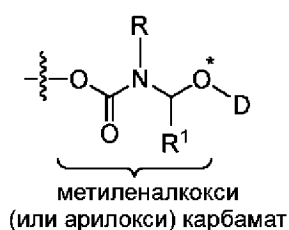


(I'),

в которой волнистая линия, R, R¹ и R² как определено для формулы I, D представляет собой звено лекарственного средства, которое имеет гидроксильную функциональную группу, которая встроена во фрагмент лекарственное средство-линкер в LDC или

соединение лекарственного средства и линкера и O* представляет собой гетероатом кислорода из указанной функциональной группы, который встроен в звено метиленкарбамата. В некоторых вариантах осуществления формулы I' один из R¹ и R² представляет собой основное звено и другой представляет собой водород или незамещенный C₁-C₄ алкил. В других вариантах осуществления формулы I' один из R¹ и R² представляет собой звено PEG и другой представляет собой водород или незамещенный C₁-C₄ алкил.

[20] Образцовые варианты осуществления включают те, в которых R² представляет собой водород как изложено в формуле (Ia')

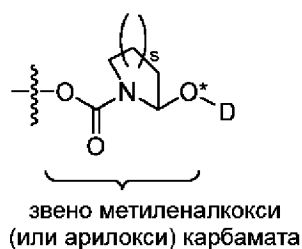


(Ia'),

в которой волнистая линия, R, и R¹ как определено для формулы I, D представляет собой звено лекарственного средства, которое имеет гидроксильную функциональную группу, которая встроена во фрагмент лекарственное средство-линкер в LDC или соединении лекарственного средства и линкера, и O* представляет собой гетероатом кислорода из указанной функциональной группы, который встроен в звено метиленкарбамата. R и R¹ предпочтительно независимо выбирают из водорода, необязательно замещенного C₁₋₆ алкила или необязательно замещенного C₆₋₁₄ арила (более предпочтительно водорода, необязательно замещенного C₁₋₄ алкила или необязательно замещенного фенила, наиболее предпочтительно водорода или необязательно замещенного C₁₋₄ алкила). В некоторых вариантах осуществления формулы Ia', R¹ и R² представляют собой водород. В других вариантах осуществления формулы Ia' один из R и R¹ представляет собой звено PEG или основное звено и другой представляет собой водород или незамещенный C₁₋₄ алкил.

[21] Образцы вариантов осуществления включают те, в которых R¹ и R² вместе с атомами азота и углерода, к которым они

присоединены, содержат гетероцикло, как изложено в формуле (Ib')



(Ib'),

в которой волнистая линия как определено для формулы I, D представляет собой звено лекарственного средства, которое имеет гидроксильную функциональную группу, которая встроена во фрагмент лекарственное средство-линкер в LDC или соединении лекарственного средства и линкера, O* представляет собой гетероатом кислорода из указанной функциональной группы, который встроен в звено метиленалкокси, и нижний индекс s равен 0, 1, 2 или 3 (предпочтительно 0, 1 или 2; более предпочтительно 1 или 2).

[22] Звено МАК представляет собой конец саморасщепляющегося сборочного звена. Основная функция саморасщепляющегося сборочного звена состоит в высвобождении свободного лекарственного средства (например, H-O*-D) после события избирательной (т. е., при определенных условиях) активации, которое инициирует саморасщепление саморасщепляющегося фрагмента внутри саморасщепляющегося сборочного звена. Саморасщепляющееся сборочное звено разрабатывают так, чтобы иметь, в дополнение к звену МАК, саморасщепляющееся спейсерное звено (Y), которое представляет собой саморасщепляющуюся часть активируемого саморасщепляющегося фрагмента (X), и активационное звено (W), которое при определенных условиях действует для того, чтобы инициировать последовательность реакций саморасщепления внутри саморасщепляющегося спейсерного звена. Активация саморасщепления опосредовано событием расщепления, которое ведет к быстрой фрагментации Y для того, чтобы высвободить свободное лекарственное средство (например, свободное

спиртосодержащее лекарственное средство). Лекарственное средство, встроенное в LDC по настоящему изобретению, может содержать множество функциональных групп, несмотря на то, что прикрепление звена лекарственного средства к звену МАК в этих случаях происходит через гетероатом из только одной из функциональных групп. Например, в случае спиртосодержащих лекарственных средств, лекарственное средство может содержать больше чем один спиртовой фрагмент (т. е., больше чем одну гидроксильную функциональную группу) несмотря на то, что прикрепление звена лекарственного средства к звену МАК в этих случаях происходит через гетероатом кислорода из только одной из гидроксильных функциональных групп.

[23] Для вариантов осуществления, в которых звено лекарственного средства имеет амин в качестве функциональной группы, азот которой становится частью звена метиленкарбамата, понятно, что T* в качестве N* представляет фрагмент -NH- из содержащего первичный амин соединения или (гетеро)ариламиносодержащего лекарственного средства, содержащего фрагмент-(гетеро)арил-NH₂ или -(гетеро)арил-NH- (т. е., лекарственное средство, которое имеет первичную, вторичную или циклическую ароматическую аминную функциональную группу, в которой (гетеро)арил или (гетеро)арилен включает необязательно замещенный фенил или фенилен или 5- или 6-членный гетероарил или гетероарилен. Соответственно, T* в качестве N* обозначают как необязательно замещенный азот. Аналогичным образом, когда звено лекарственного средства имеет амид в качестве функциональной группы, азот которой становится частью звена метиленкарбамата, этот T* в качестве N* представляет фрагмент -NH(C=O)- из содержащего первичный амид лекарственного средства (т. е., имеющего функциональную группу NH₂C(=O)-, вторичный амид (т. е., имеет функциональную группу NH(R^N)C(=O)-, в которой R^N включает алкил, арил, C-связанный гетероарил, алкил(арил)сульфонил и алкил(арил)фосфорил, тогда T* в качестве N* также обозначают как необязательно замещенный азот. Кроме того, для содержащего вторичный амин свободного лекарственного средства, которое имеет этот азот внутри углеродного

гетероцикла или гетерокарбоцикло, в том числе содержащего ароматический амин лекарственного средства, в котором его арил или арилен замещен -NH-алкиленом-, в котором алкиленовый фрагмент связан с арилом или ариленом, таким образом образуя конденсированную кольцевую систему, следует понимать, что T*-D представляет эту структуру циклического амина.

Определения

[24] Если не установлено иное, следующие термины и фразы, как используют в настоящем документе, предназначены иметь следующие значения. Когда в настоящем документе используют торговые названия, торговое название включает состав продукта, дженерик лекарственного средства и активный фармацевтический ингредиент(ы) продукта под данным торговым названием, если контекст не указывает на иное.

[25] Термин «антитело», как используют в настоящем документе, используют в самом широком смысле, и в частности он охватывает интактные моноклональные антитела, поликлональные антитела, моноспецифические антитела, полиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), и фрагменты антител, которые демонстрируют желаемую биологическую активность. Нативной формой антитела является тетрамер, который состоит из двух идентичных пар цепей иммуноглобулина, каждая пара имеет одну легкую цепь и одну тяжелую цепь. В каждой паре переменные области легкой и тяжелой цепей (VL и VH) вместе прежде всего отвечают за связывание с антигеном. Переменные домены легкой цепи и тяжелой цепи состоят из каркасной области, прерываемой тремя гиперпеременными областями, также называемым «определяющие комплементарность области» или «CDR». Иммунная система может распознавать константные области и взаимодействовать с ними (см., например, Janeway et al., 2001, Immunol. Biology, 5-е издание, Garland Publishing, New York). Антитело может относиться к любому типу (например, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA), классу (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подклассу. Антитело можно получать от любого подходящего биологического вида. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет происхождение от человека или

мышь. Антитело может быть, например, человеческим, гуманизированным или химерным.

[26] Термин «моноклональное антитело», как используют в настоящем документе, относится к антителу, полученному из совокупности по существу гомогенных антител, т. е., отдельные антитела, образующие совокупность, являются идентичными, за исключением возможных мутаций, встречающихся в природе, которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела обладают высокой специфичностью и направлены против одной области детерминанты. Модификатор «моноклональный» указывает на характер антитела в качестве полученного из по существу гомогенной совокупности антител, и его не следует толковать в качестве требования к получению антитела каким-либо конкретным способом.

[27] «Интактное антитело» представляет собой то, которое содержит антигенсвязывающую переменную область, а также константный домен легкой цепи (C_L) и константные домены тяжелой цепи CH_1 , CH_2 , CH_3 и CH_4 , в соответствии с классом антитела. Константные домены могут представлять собой константные домены с нативными последовательностями (например, константные домены с нативными последовательностями человека) или их вариант аминокислотной последовательности.

[28] «Фрагмент антитела» содержит часть интактного антитела, которая содержит его антигенсвязывающую или переменную область. Примеры фрагментов антител включают фрагменты Fab, Fab', $F(ab')_2$ и Fv, диатела, триатела, тетратела, линейные антитела, одноцепочечные молекулы антител, scFv, scFv-Fc, фрагменты полиспецифических антител, сформированные из фрагмента (фрагментов) антитела, фрагмент (фрагменты), полученные посредством экспрессионной библиотеки Fab, или эпитопсвязывающие фрагменты любого указанного выше, которые иммуноспецифично связываются с целевым антигеном (например, антиген клетки злокачественной опухоли, вирусный антиген или микробный антиген).

[29] «Антиген» представляет собой частицу, с которой антитело специфично связывается.

[30] Термины «специфичное связывание» и «специфично связывается» обозначают, что антитело или производное антитела будет связываться очень избирательно с соответствующим ему эпитопом целевого антигена, но не с множеством других антигенов. Типично, антитело или производное антитела связывается с аффинностью по меньшей мере приблизительно 1×10^{-7} М и предпочтительно от 10^{-8} М до 10^{-9} М, 10^{-10} М, 10^{-11} М или 10^{-12} М и связывается с предварительно определяемым антигеном с аффинностью, которая по меньшей мере двукратно больше, чем его аффинность связывания с неспецифичным антигеном (например, BSA, казеин), отличным от предварительно определяемого антигена или близкородственного антигена.

[31] Термин «ингибировать» или «ингибирование» обозначает снижение на поддающееся измерению количество или полное предотвращение.

[32] Термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству конъюгата, которое эффективно для лечения заболевания или нарушения у млекопитающего. В случае злокачественной опухоли, терапевтически эффективное количество конъюгата может снижать число клеток злокачественной опухоли; уменьшать размер опухоли; ингибировать (т. е., замедлять в определенной степени и предпочтительно останавливать) инфильтрацию клеток злокачественной опухоли в периферические органы; ингибировать (т. е., замедлять в определенной степени и предпочтительно останавливать) метастаз опухоли; ингибировать, в определенной степени, опухолевый рост; и/или облегчать в определенной степени один или несколько симптомов, связанных со злокачественной опухолью. В случаях, когда лекарственное средство может ингибировать рост и/или убивать существующие клетки злокачественной опухоли, оно может быть цитостатическим и/или цитотоксическим средством. Для терапии злокачественной опухоли эффективность, например, можно измерять посредством оценки времени до прогрессирования заболевания (TTP) и/или определения частоты ответа (RR).

[33] Термин «существенный» или «по существу» относится к

большей части, т. е. >50%, совокупности, смеси или образца, предпочтительно больше чем 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% совокупности.

[34] Термин «цитотоксическая активность» относится к эффекту уничтожения клеток лекарственным средством или конъюгатом лекарственного средства и лиганда или внутриклеточным метаболитом конъюгата лекарственного средства и лиганда. Цитотоксическую активность можно выражать в виде значения IC_{50} , которое представляет собой концентрацию (молярную или массовую) на единицу объема, при которой выживает половина клеток.

[35] Термин «цитостатическая активность» относится к антипролиферативному эффекту лекарственного средства или конъюгата лекарственного средства и лиганда или внутриклеточного метаболита конъюгата лекарственного средства и лиганда.

[36] Термин «цитотоксическое средство», как используют в настоящем документе, относится к веществу, которое имеет цитотоксическую активность и вызывает разрушение клеток. Термин предназначен для того, чтобы включать химиотерапевтические средства и токсины, такие как низкомолекулярные токсины или ферментативно активные токсины бактериального, грибкового, растительного или животного происхождения, в том числе их синтетические аналоги и производные.

[37] Термин «цитостатическое средство», как используют в настоящем документе, относится к веществу, которое ингибирует функцию клеток, в том числе клеточный рост или размножение. Цитостатические средства включают ингибиторы, такие как белковые ингибиторы, например, ферментативные ингибиторы. Цитостатические средства обладают цитостатической активностью.

[38] Термины «злокачественная опухоль» и «злокачественный» относятся к или описывают физиологическое состояние или нарушение у млекопитающего, которое типично отличается нерегулируемым клеточным ростом. «Опухоль» содержит одну или несколько злокачественных клеток.

[39] «Аутоиммунное заболевание», как используют в настоящем документе, относится к заболеванию или нарушению, возникающему в собственных тканях или белках индивидуума и направленному против них.

[40] «Пациент», как используют в настоящем документе, относится к субъекту, которому вводят конъюгат лекарственного средства и лиганда по настоящему изобретению. Пациент включает, но не ограничиваясь этим, человека, крысу, мышь, морскую свинку, не являющегося человеком примата, свинью, козу, корову, лошадь, собаку, кошку, птицу и домашнюю птицу. Типично, пациентом является крысы, мышь, собака, человек или не являющийся человеком примат, более типично человек.

[41] Термины «лечить» или «лечение», если контекст не указывает на иное, относится к терапевтическому лечению и профилактике, цель которых состоит в том, чтобы ингибировать или замедлять (уменьшать) нежелательное физиологическое изменение или нарушение, такое как развитие или распространение злокачественной опухоли. Для целей данного изобретения, полезный или желаемый клинический результат включает, но не ограничиваясь этим, облегчение симптомов, уменьшение степени заболевания, стабилизированное (т. е., не ухудшающееся) состояние заболевания, задержку или замедление прогрессирования заболевания, уменьшение интенсивности или облегчение состояния заболевания и ремиссию (частичную или полную), поддающуюся обнаружению или не поддающуюся обнаружению. «Лечение» также может обозначать продление выживаемости по сравнению с ожидаемой выживаемостью, если не получать лечение. Те, кто нуждаются в лечении, включают тех, кто уже имеет определенное состояние или нарушение, а также тех, кто склонен иметь определенное состояние или нарушение.

[42] В контексте злокачественной опухоли термин «лечение» включает какое-либо или все из: уничтожения опухолевых клеток; ингибирование роста опухолевых клеток, клеток злокачественной опухоли или опухоли; ингибирование репликации опухолевых клеток или клеток злокачественной опухоли, уменьшение общей опухолевой массы или снижение числа злокачественных клеток и облегчение

одного или нескольких симптомов, связанных с заболеванием.

[43] В контексте аутоиммунного заболевания термин «лечение» включает какое-либо или все из: ингибирования репликации клеток, связанных с состоянием аутоиммунного заболевания, включая в качестве неограничивающих примеров клетки, которые продуцируют аутоиммунное антитело, уменьшения нагрузки от аутоиммунных антител и улучшения одного или нескольких симптомов аутоиммунного заболевания.

[44] Фраза «фармацевтически приемлемая соль», как используют в настоящем документе, относится к фармацевтически приемлемым органическим или неорганическим солям соединения (например, лекарственного средства, лекарственного средства-линкера или конъюгата лекарственного средства и лиганда). В некоторых аспектах, соединение может содержать по меньшей мере одну аминогруппу, и соответственно кислотно-аддитивные соли можно формировать с использованием аминогруппы. Образцовые соли включают, но не ограничиваясь этим, сульфатные, трифторацетатные, цитратные, ацетатные, оксалатные, хлоридные, бромидные, йодидные, нитратные, бисульфатные, фосфатные, кислые фосфатные, изоникотинатные, лактатные, салицилатные, кислые цитратные, тартратные, олеатные, таннатные, пантотенатные, битартратные, аскорбатные, сукцинатные, малеатные, гентизинатные, фумаратные, глюконатные, глюкуронатные, сахаратные, формиатные, бензоатные, глутаматные, метансульфонатные, этансульфонатные, бензолсульфонатные, п-толуолсульфонатные и памоатные (т. е., 1,1' метилен бис-(2 гидроксис 3 нафтоатные)) соли. Фармацевтически приемлемая соль может подразумевать включение другой молекулы, такой как ацетат-ион, сукцинат-ион или другой противоион. Противоион может представлять собой какой-либо органический или неорганический фрагмент, который стабилизирует заряд на исходном соединении. Кроме того, фармацевтически приемлемая соль может иметь больше чем один заряженный атом в ее структуре. Случаи, когда множество заряженных атомов являются частью фармацевтически приемлемой соли, могут иметь множество противоионов. Таким образом, фармацевтически приемлемая соль

может иметь один или несколько заряженных атомов и/или один или несколько противоионов.

[45] Линкерное звено представляет собой бифункциональный фрагмент, который соединяет звено лекарственного средства со звеном лиганда в конъюгате лекарственного средства и лиганда. Линкерные звенья по настоящему изобретению имеют несколько компонентов (например, звено носителя, которое имеет необязательное основное звено, необязательное звено ветвления, необязательное соединительное звено и саморасщепляющееся сборочное звено).

[46] «Основное звено», как используют в настоящем документе, представляет собой органический фрагмент звена носителя (Z) или предшественник звена носителя (Z'), состоящий из сукцинимидной или малеимидной системы, соответственно, или экземпляр R, который представляет собой заместитель на карбаматном азоте в звене метиленкарбамата, или экземпляр R¹ или R², которые представляют собой заместители метиленового углерода в звене метиленкарбамата. Когда часть звена носителя, основное звено способно катализировать добавление молекулы воды к одной из связей карбонил-азот сукцинимиды в Z и может быть инициировано при управляемых условиях, приемлемыми для звена лиганда, который прикрепляют к этому звену носителя. С этой целью, основную функциональную группу основного звена (BU) и ее относительное положение в Z по отношению к его сукцинимидной кольцевой системе выбирают по ее способности образовывать водородную связь с карбонильной группой этой кольцевой системы, чтобы эффективно увеличивать ее электрофильность и, таким образом, ее восприимчивость к атаке водой. Альтернативно, эти переменные выбирают с тем, чтобы молекула воды, нуклеофильность которой увеличивают посредством образования водородных связей с основной функциональной группой BU, была направлена на карбонильную группу сукцинимидной кольцевой системы в Z. Типично, такое основное звено, действующее по любому механизму, состоит из 1-6 соседних атомов углерода, которые соединяют его основную функциональную аминогруппу с остальной частью звена носителя. Для увеличения электрофильности сукцинимидного

карбонила в Z посредством образования водородных связей, BU должна иметь первичную или вторичную функциональную аминогруппу, тогда как увеличение нуклеофильности воды описанным образом можно осуществлять с использованием первичного, вторичного или третичного амина в качестве основной функциональной группы BU. Для того чтобы основная функциональная аминогруппа находилась в необходимой близости, чтобы содействовать гидролизу сукцинимидов в Z по любому механизму, несущую амин углеродную цепь из BU типично прикрепляют к α -углероду необязательно замещенного алкильного фрагмента, который связан с малеимидным азотом соответствующего предшественника звена носителя Z'.

[47] Когда часть предшественника звена носителя, основную функциональную аминогруппу основного звена типично защищают в виде солевой формы или с использованием подходящей защитной группы для того, чтобы избежать преждевременного гидролиза фрагмента малеимида или направлять прикрепление с помощью нуклеофильного азота основной функциональной аминогруппы к карбонилу кольцевой системы фрагмента малеимида. Подходящая защитная группа для этой цели представляет собой неустойчивую к кислотам защитную группу, например, алкилоксикарбонильную группу. Когда часть звена метиленкарбамата, фрагмент в основном звене, соединяющий карбаматный азот с основной функциональной группой (и/или метиленовый углерод звена метиленкарбамата с основной функциональной группой), которая типично состоит из 2-6 смежных атомов углерода, выбирают так, чтобы иметь необходимую близость к фрагменту T*-D звена метиленкарбамата, причем это основное звено должно снижать склонность этого фрагмента к преждевременной утрате в виде H-T*-D из-за самопроизвольного сольволиза. Образцовые, но неограничивающие, примеры основных звеньев представляют собой $-(\text{CH}_2)_x\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_x\text{NHR}^{\text{op}}$ или $-(\text{CH}_2)_x\text{N}(\text{R}^{\text{op}})_2$, в которых x представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 4 и R^{op} в этих примерах представляет собой C₁₋₆ алкил.

[48] «Звено PEG», как используют в настоящем документе,

представляет собой органический фрагмент, состоящий из повторяющихся подзвеньев этилен-окси, и может быть полидисперсным, монодисперсным или дискретным (т. е., имеющим дискретное число подзвеньев этилен-окси). Полидисперсные PEG представляют собой гетерогенную смесь размеров и молекулярных масс, тогда как монодисперсные PEG типично очищены от гетерогенных смесей и, следовательно, предусматривают одну длину цепи и молекулярную массу. Предпочтительные звенья PEG представляют собой дискретные PEG, соединения, которые синтезируют постадийно, а не через процесс полимеризации. Дискретные PEG предусматривают одну молекулу с заданной и точно определенной длиной цепи.

[49] Звено PEG, предусмотренное в настоящем документе, содержит одну или несколько цепей полиэтиленгликоля, каждая состоит из одного или нескольких подзвеньев этиленокси, ковалентно прикрепленных друг к другу. Цепи полиэтиленгликоля можно соединять вместе, например, в линейную, разветвленную или звездообразную конфигурацию. Типично, по меньшей мере из одной из цепей полиэтиленгликоля перед встраиванием в конъюгат лекарственного средства и лиганда получают производное на одном конце с использованием алкильного фрагмента, замещенного электрофильной группой, для ковалентного прикрепления к карбаматному азоту его звена метиленкарбамата (т. е., представляет экземпляр R). В других случаях звено PEG представляет собой экземпляр R¹ или R², которые представляют собой заместители метиленового углерода в звене метиленкарбамата. Типично концевое подзвено этиленокси в каждой цепи полиэтиленгликоля, которая не участвует в ковалентном прикреплении к карбаматному азоту или метиленовому углероду звена метиленкарбамата, модифицируют PEG блокирующим звеном, типично необязательно замещенным алкилом, таким как -CH₃, CH₂CH₃ или CH₂CH₂CO₂H. Предпочтительное звено PEG имеет одну цепь полиэтиленгликоля с от 8 до 24 подзвеньев -CH₂CH₂O-, ковалентно прикрепленных последовательно и заканчивающихся на одном конце PEG блокирующим звеном.

[50] Если не указано иное, термин «алкил» сам по себе или

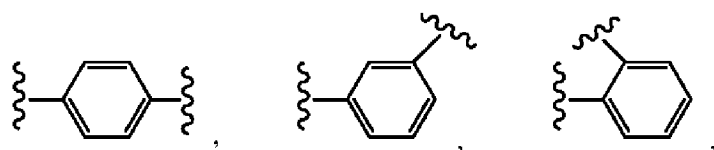
в качестве части другого термина относится к замещенной или незамещенной неразветвленной или разветвленной цепи насыщенного или ненасыщенного углеводорода, который содержит указанное число атомов углерода (например, «-C₁-C₈ алкил» или «-C₁-C₁₀» алкил относится к алкильной группе, которая имеет от 1 до 8 или от 1 до 10 атомов углерода, соответственно). Когда число атомов углерода не указано, алкильная группа имеет от 1 до 8 атомов углерода. Репрезентативные группы «-C₁-C₈ алкила» с неразветвленной цепью включают, но не ограничиваясь этим, -метил, -этил, -н-пропил, -н-бутил, -н-пентил, -н-гексил, -н-гептил и -н-октил; тогда как разветвленные -C₁-C₈ алкилы включают, но не ограничиваясь этим, -изопропил, -втор-бутил, -изобутил, -трет-бутил, -изопентил и -2-метилбутил; ненасыщенные -C₂-C₈ алкилы включают, но не ограничиваясь этим, -винил, -аллил, -1-бутенил, -2-бутенил, -изобутиленил, -1-пентенил, -2-пентенил, -3-метил-1-бутенил, -2-метил-2-бутенил, -2,3-диметил-2-бутенил, -1-гексил, 2-гексил, -3-гексил, -ацетиленил, -пропинил, -1-бутинил, -2-бутинил, -1-пентинил, -2-пентинил и -3-метил 1 бутинил. Иногда алкильная группа не замещена. Алкильная группа может быть замещена одной или несколькими группами. В других аспектах алкильная группа будет насыщенной.

[51] Если не указано иное, «алкилен» сам по себе или в качестве части другого термина относится к замещенному или незамещенному насыщенному, разветвленному или неразветвленному линейному или циклическому углеводородному радикалу с указанным числом атомов углерода, типично 1-10 атомов углерода, и имеет два одновалентных радикальных центра, полученных путем удаления двух атомов водорода с одного и того же или двух различных атомов углерода исходного алкана. Типичные алкиленовые радикалы включают, но не ограничиваясь этим: метилен (-CH₂-), 1,2-этил (-CH₂CH₂-), 1,3-пропил (-CH₂CH₂CH₂-), 1,4-бутил (-CH₂CH₂CH₂CH₂-) и т. п. В предпочтительных аспектах алкилен представляет собой разветвленный или неразветвленный линейный углеводород (т. е., он не является циклическим углеводородом).

[52] Если не указано иное, «арил» сам по себе или в качестве части другого термина обозначает замещенный или

незамещенный одновалентный карбоциклический ароматический углеводородный радикал с указанным числом атомов углерода, типично 6-20 атомов углерода, который получен путем удаления одного атома водорода с одного атома углерода исходной ароматической кольцевой системы. Некоторые арильные группы представлены в образцовых структурах как «Ar». Типичные арильные группы включают, но не ограничиваясь этим, радикалы, полученные из бензола, замещенного бензола, нафталина, антрацена, бифенила и т. п. Образцовой арильной группой является фенильная группа.

[53] Если не указано иное, «арилен» сам по себе или в качестве части другого термина представляет собой арильную группу, как определено выше, которая имеет две ковалентные связи (т. е., она является двухвалентной) и может находиться в орто-, мета- или пара-ориентации, как показано в следующих структурах с использованием фенила в качестве образцовой группы:



[54] Если не указано иное, «C₃-C₈ гетероцикл» сам по себе или в качестве части другого термина относится к одновалентной замещенной или незамещенной ароматической или неароматической моноциклической или бициклической кольцевой системе, которая имеет от 3 до 8 атомов углерода (также обозначаемых как члены кольца) и от одного до четырех гетероатомных членов кольца, независимо выбранных из N, O, P или S, и которая получена посредством удаления одного атома водорода с кольцевого атома исходной кольцевой системы. Один или несколько атомов N, S или S в гетероцикле могут быть окислены. Кольцо, которое содержит гетероатом, может быть ароматическим или неароматическим. Гетероциклы, в которых все или кольцевые атомы участвуют в ароматичности, обозначают как гетероарилы и иным образом обозначают как углеродные гетероциклы. Если не указано иное, гетероцикл прикрепляют его боковой группой по любому

гетероатому или атому углерода, который ведет к стабильной структуре. По существу, гетероарил можно связывать через ароматический углерод его ароматической кольцевой системы, что обозначают как С-связанный гетероарил, или через атом N без двойной связи (т. е., не =N-) в его ароматической кольцевой системе, что обозначают как N-связанный гетероарил. Таким образом, азотосодержащие гетероциклы могут быть С-связанными или N-связанными и включают фрагменты пиррола, такие как пиррол-1-ил (N-связанный) и пиррол-3-ил (С-связанный), и фрагменты имидазола, такие как имидазол-1-ил и имидазол-3-ил (оба являются N-связанными) и фрагменты имидазол-2-ила, имидазол-4-ила и имидазол-5-ила (все они являются С-связанными).

[55] Если не указано иное, «С₃-С₈ гетероарил» представляет собой ароматический С₃-С₈ гетероцикл, в котором нижний индекс обозначает общее число атомов углерода в циклической кольцевой системе гетероцикла или общее число ароматических атомов углерода в ароматической кольцевой системе гетероарила и не подразумевает размер кольцевой системы или присутствие или отсутствие конденсации колец. Репрезентативные примеры С₃-С₈ гетероцикла включают, но не ограничиваясь этим, пирролидинил, азетидинил, пиперидинил, морфолинил, тетрагидрофуранил, тетрагидропиранил, бензофуранил, бензотиофен, индолил, бензопиразолил, пирролил, тиофенил (тиофен), фуранил, тиазолил, имидазолил, пиразолил, пиримидинил, пиридинил, пиразинил, пиридазинил, изотиазолил и изоксазолил. Когда дано явно, размер кольцевой системы гетероцикла или гетероарила показан с помощью общего числа атомов в кольце. Например, обозначение в виде 5- или 6-членного гетероарила указывает на общее число или ароматические атомы (т. е., 5 или 6) в гетероароматической кольцевой системе гетероарила, но не подразумевает число ароматических гетероатомов или ароматических атомов углерода в этой кольцевой системе. Конденсированные гетероарилы указаны явно или подразумеваются контекстом по существу и типично указаны с помощью числа ароматических атомов в каждом ароматическом кольце, которые конденсированы вместе, чтобы

составлять конденсированную гетероароматическую кольцевую систему. Например, 5,6-членный гетероарил представляет собой ароматическое 5-членное кольцо, конденсированное с ароматическим 6-членным кольцом, в которых одно кольцо или оба имеют ароматический гетероатом(гетероатомы) или где гетероатом является общим для двух колец.

[56] Гетероцикл, конденсированный с арилом или гетероарилом так, что гетероцикл остается неароматическим и является частью более крупной структуры, через прикрепление к неароматической части конденсированной кольцевой системы, является примером необязательно замещенного гетероцикла, в котором гетероцикл замещен путем конденсации колец с арилом или гетероарилом. Аналогичным образом, арил или гетероарил, конденсированный с гетероциклом или углеродным циклом, который является частью более крупной структуры, через прикрепление к ароматической части конденсированной кольцевой системы, является примером необязательно замещенного арила или гетероцикла, в котором арил или гетероцикл замещен путем конденсации колец с гетероциклом или углеродным циклом.

[57] Если не указано иное, «С₃-С₈ гетероцикло» сам по себе или в качестве части другого термина относится к С₃-С₈ гетероциклической группе, которая определена выше, в которой один из атомов водорода в гетероцикле заменен на связь (т. е., он является двухвалентным). Если не указано иное, «С₃-С₈ гетероарилен» сам по себе или в качестве части другого термина относится к С₃-С₈ гетероарильной группе, которая определена выше, в которой один из атомов водорода гетероарильной группы заменен на связь (т. е., она является двухвалентной).

[58] Если не указано иное, «С₃-С₈ углеродный цикл» сам по себе или в качестве части другого термина представляет собой 3-, 4-, 5-, 6-, 7- или 8-членное одновалентное, замещенное или незамещенное, насыщенное или ненасыщенное неароматическое моноциклическое или бициклическое карбоциклическое кольцо, полученное путем удаления одного атома водорода с кольцевого атома исходной кольцевой системы. Репрезентативные -С₃-С₈ углеродные циклы включают, но не ограничиваясь этим,

циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклопентадиенил, циклогексил, циклогексенил, 1,3-циклогексадиенил, 1,4-циклогексадиенил, циклогептил, 1,3-циклогептадиенил, 1,3,5-циклогептатриенил, циклооктил и циклооктадиенил.

[59] Если не указано иное, «С₃-С₈ карбоцикло» сам по себе или в качестве части другого термина относится к С₃-С₈ углеродной циклической группе, которая определена выше, в которой другой из атомов водорода групп углеродного цикла замене на связь (т. е., она является двухвалентной).

[60] Если не указано иное, термин «гетероалкил» сам по себе или в комбинации с другим термином обозначает, если не указано иное, стабильный неразветвленный или разветвленный линейный углеводород или его сочетания, полностью насыщенный или содержащий от 1 до 3 степеней ненасыщенности, состоящий из указанного числа атомов углерода и из от одного до десяти, предпочтительно от одного до трех, гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, Si и S, и в котором атомы азота и серы необязательно могут быть окислены и гетероатом азота необязательно может быть кватернизированным. Гетероатом(гетероатомы) O, N и S можно помещать в какое-либо внутреннее положение гетероалкильной группы или в положение, в котором алкильную группу прикрепляют к остальной молекуле. Гетероатом Si можно помещать в какое-либо положение гетероалкильной группы, в том числе в положение, в котором алкильную группу прикрепляют к остальной молекуле. Примеры включают -CH₂-CH₂-O-CH₃, -CH₂-CH₂-NH-CH₃, -CH₂-CH₂-N(CH₃)-CH₃, -CH₂-S-CH₂-CH₃, -CH₂-CH₂-S(O)-CH₃, -NH-CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₂-CH₃, -CH₂-CH₂-S(O)₂-CH₃, -CH=CH-O-CH₃, -Si(CH₃)₃, -CH₂-CH=N-O-CH₃, и -CH=CH-N(CH₃)-CH₃. Вплоть до двух гетероатомов могут быть последовательными, например, как -CH₂-NH-OCH₃ и -CH₂-O-Si(CH₃)₃. Типично С₁-С₄ гетероалкил или гетероалкилен имеет от 1 до 4 атомов углерода и 1 или 2 гетероатома и С₁-С₃ гетероалкил или гетероалкилен имеет от 1 до 3 атомов углерода и 1 или 2 гетероатомов. В некоторых аспектах гетероалкил или гетероалкилен насыщен.

[61] Если не указано иное, термин «гетероалкилен» сам по

себе или в комбинации с другим термином обозначает двухвалентную группу, полученную из гетероалкила (как рассмотрено выше), как показано на примере с помощью $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ и $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$. Для гетероалкиленовых групп гетероатомы также могут занимать любой один или оба конца цепи. Кроме того, для алкиленовых и гетероалкиленовых линкерных групп не подразумевают ориентации линкерных групп.

[62] Если не указано иное, «аминоалкил» сам по себе или в комбинации с другим термином обозначает гетероалкил, в котором алкильный фрагмент как определено в настоящем документе замещен с использованием амино-, алкиламино-, диалкиламино- или циклоалкиламиногруппы. Образцовые неограничивающие аминоалкилы представляют собой $-\text{CH}_2\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_3$ и $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ и дополнительно включают разветвленные частицы, такие как $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{NH}_2$ и $-\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{NH}_2$ в (R)- или (S)-конфигурации. Альтернативно, аминоалкил представляет собой алкильный фрагмент, группу или заместитель, как определено в настоящем документе, в которых sp^3 углерод, отличный от углерода радикала, заменен на амино- или алкиламино-фрагмент, в котором его sp^3 азот заменяет sp^3 углерод алкила при условии, что остается по меньшей мере один sp^3 углерод. В отношении аминоалкильного фрагмента в качестве заместителя для более крупной структуры или другого фрагмента, аминоалкил ковалентно прикреплен к структуре или фрагменту через углеродный радикал алкильного фрагмента аминоалкила.

[63] Если не указано иное, «алкиламино» и «циклоалкиламино» сами по себе или в комбинации с другим термином обозначают алкильный или циклоалкильный радикал, как описано в настоящем документе, в котором углерод радикала из алкильного или циклоалкильного радикала заменен на радикал азота, при условии, что остается по меньшей мере один sp^3 углерод. В тех случаях, где алкиламино замещен по его азоту с использованием другого алкильного фрагмента, получаемый замещенный радикал иногда обозначают как диалкиламино-фрагмент, группа или заместитель, в котором фрагменты алкила, замещающие азот, выбирают независимо. Образцовые и неограничивающие амино-

, алкиламино- и диалкиламино-заместители включают те, которые имеют структуру $-N(R^{op})_2$, в которой R^{op} в этих примерах независимо выбирают из водорода или C_{1-6} алкила, типично водорода или метила, тогда как в циклоалкиламинах, которые включены в гетероциклоалкилы, оба R^{op} вместе с азотом, к которому они присоединены, определяют гетероциклическое кольцо. Когда оба R^{op} представляют собой водород или алкил, фрагмент иногда описывают как первичную аминогруппу и третичную аминогруппу, соответственно. Когда один R^{op} представляет собой водород и другой представляет собой алкил, тогда фрагмент иногда описывают как вторичную аминогруппу. Первичные и вторичные алкиламино-фрагменты обладают большей реакционной способностью в качестве нуклеофилов в направлении карбонил-содержащих электрофильных центров, тогда как третичные амины являются более основными.

[64] «Замещенный алкил» и «замещенный арил» обозначает алкил и арил, соответственно, в котором каждый из одного или нескольких атомов водорода, типично один, независимо заменяют на заместитель. Типичные заместители включают, но не ограничиваясь этим, основное звено, звено PEG, $-X$, $-R^{op}$, $-OH$, $-OR^{op}$, $-SR^{op}$, $-N(R^{op})_2$, $-N(R^{op})_3$, $=NR^{op}$, $-CX_3$, $-CN$, $-NO_2$, $-NR^{op}C(=O)R^{op}$, $-C(=O)R^{op}$, $-C(=O)N(R^{op})_2$, $-S(=O)_2R^{op}$, $-S(=O)_2NR^{op}$, $-S(=O)R^{op}$, $-OP(=O)(OR^{op})_2$, $-P(=O)(OR^{op})_2$, $-PO_3^{3-}$, PO_3H_2 , $-C(=O)R^{op}$, $-C(=S)R^{op}$, $-CO_2R^{op}$, $-CO_2^-$, $-C(=S)OR^{op}$, $-C(=O)SR^{op}$, $-C(=S)SR^{op}$, $-C(=O)N(R^{op})_2$, $-C(=S)N(R^{op})_2$ и $-C(=NR)N(R^{op})_2$, где каждый X независимо выбирают из группы, состоящей из галогена: $-F$, $-Cl$, $-Br$ и $-I$; и в котором каждый R^{op} независимо выбирают из группы, состоящей из $-H$, $-C_{1-20}$ алкила, $-C_6-C_{20}$ арила, $-C_3-C_{14}$ гетероцикла, защитной группы и фрагмента пролекарственного средства.

[65] Более типично заместители выбирают из группы, состоящей из основного звена, звена PEG, $-R^{op}$, $-OH$, $-OR^{op}$, $-SR^{op}$, $-N(R^{op})_2$, $-N(R^{op})_3$, $=NR^{op}$, $-NR^{op}C(=O)R^{op}$, $-C(=O)R^{op}$, $-C(=O)N(R^{op})_2$, $-S(=O)_2R^{op}$, $-S(=O)_2NR^{op}$, $-S(=O)R^{op}$, $-C(=O)R^{op}$, $-C(=S)R^{op}$, $-C(=O)N(R^{op})_2$, $-C(=S)N(R^{op})_2$ и $-C(=NR)N(R^{op})_2$, в которых каждый X независимо выбирают из группы, состоящей из $-F$ и $-Cl$, или

выбирают из группы, состоящей из основного звена, звена PEG, $-X$, $-R^{OP}$, $-OH$, $-OR^{OP}$, $-N(R^{OP})_2$, $-N(R^{OP})_3$, $-NR^{OP}C(=O)R^{OP}$, $-C(=O)N(R^{OP})_2$, $-S(=O)_2R^{OP}$, $-S(=O)_2NR^{OP}$, $-S(=O)R^{OP}$, $-C(=O)R^{OP}$, $-C(=O)N(R^{OP})_2$, $-C(=NR)N(R^{OP})_2$, защитной группы и фрагмента пролекарственного средства, в которых каждый X представляет собой $-F$; и в которых каждый R^{OP} независимо выбирают из группы, состоящей из водорода, $-C_1-C_{20}$ алкила, $-C_6-C_{20}$ арила, $-C_3-C_{14}$ гетероцикла, защитной группы и фрагмента пролекарственного средства. В некоторых аспектах, заместитель алкила выбран из группы, состоящей из $-N(R^{OP})_2$, $-N(R^{OP})_3$ и $-C(=NR)N(R^{OP})_2$, в которой R^{OP} определен выше, который может предусматривать основное звено, как когда R^{OP} независимо выбирают из группы, состоящей из водорода и $-C_1-C_{20}$ алкила. В других аспектах, алкил замещен последовательностью этиленокси-фрагментов, чтобы определять звено PEG. Алкиленовые, углеродные циклические, карбоцикло-, ариленовые, гетероалкильные, гетероалкиленовые, гетероциклические, гетероцикло-, гетероарильные и гетероариленовые группы, как описано выше, также могут быть замещены аналогичным образом.

[66] «Защитная группа», как используют здесь, обозначает фрагмент, который предотвращает или снижает способность атома или функциональной группы, с которой она связана, участвовать в нежелательных реакциях. Типичные защитные группы для атомов или функциональных групп приведены в Greene (1999), «Protective groups in organic synthesis», 3-е издание, Wiley Interscience. Защитные группы для гетероатомов, таких как кислород, сера и азот, иногда используют для того, чтобы минимизировать или избегать их нежелательных реакций с электрофильными соединениями. В других случаях защитную группу используют для того, чтобы снижать или устранять нуклеофильность и/или основность незащищенного гетероатома. Неограничивающими примерами защищенного кислорода служит $-OR^{PR}$, в котором R^{PR} представляет собой защитную группу для гидроксила, в котором гидроксил типично защищен в виде сложного эфира (например ацетата, пропионата или бензоата). Другие защитные группы для гидроксила прекращают столкновение с нуклеофильностью

органометаллических реактивов или других сильно основных реактивов, где гидроксил типично защищен в виде простого эфира, в том числе простых алкиловых или гетероциклоалкиловых эфиров, (например, простые метиловые или тетрагидропираниловые эфиры), простых алкоксиметиловых эфиров (например, простых метоксиметиловых или этоксиметиловых эфиров), необязательно замещенных простых ариловых эфиров и простых силиловых эфиров (например, триметилсилил (TMS), триэтилсилил (TES), трет-бутилдифенилсилил (TBDPS), трет-бутилдиметилсилил (TBS/TBDMS), триизопропилсилил (TIPS) и [2-(триметилсилил)этокси]-метилсилил (SEM)). Защитные группы азота включают таковые для первичных или вторичных аминов, как в $-NHR^{PR}$ или $-N(R^{PR})_2-$, в которых по меньшей мере один из R^{PR} представляет собой защитную группу атома азота или оба R^{PR} вместе содержат защитную группу.

[67] Защитная группа представляет собой подходящую защитную группу, когда она способна предотвращать или избегать нежелательных побочных реакций или преждевременной утраты защитной группы при условиях реакции, необходимых для осуществления желаемого химического превращения в другом месте в молекуле, и во время очистки вновь сформированной молекулы, когда желательно, и может быть удалена в условиях, которые не оказывают нежелательного влияния на структуру или стереохимическую целостность этой вновь сформированной молекулы. В качестве примера и не ограничения, подходящая защитная группа может включать то, что предварительно описано для защиты функциональных групп. Подходящая защитная группа иногда представляет собой защитную группу, используемую в реакциях сочетания пептидов.

[68] «Ароматический спирт» сам по себе или в качестве части более крупной структуры относится к ароматической кольцевой системе, замещенной гидроксильной функциональной группой $-OH$. Таким образом, ароматический спирт относится к любому арильному, гетероарильному, ариленовому и гетероариленовому фрагменту, как описано в настоящем документе, который имеет гидроксильную функциональную группу, связанную с ароматическим углеродом его ароматической кольцевой системы.

Ароматический спирт может представлять собой часть более крупного фрагмента, как когда его ароматическая кольцевая система является заместителем этого фрагмента, или может быть встроен в более крупный фрагмент посредством конденсации колец и необязательно может быть замещен с использованием фрагментов, как описано в настоящем документе, в том числе одного или нескольких других гидроксильных заместителей. Фенолоспирт представляет собой ароматический спирт, который имеет фенольную группу в качестве ароматического кольца.

[69] «Алифатический спирт» сам по себе или в качестве части более крупной структуры относится к фрагменту, который имеет неароматический углерод, связанный с гидроксильной функциональной группой -ОН. Углерод, несущий гидроксил, может быть не замещен (т. е., метиловый спирт) или может иметь один, два или три необязательно замещенных разветвленных или неразветвленных алкильных заместителя, чтобы определять первичный спирт, или вторичный или третичный алифатический спирт с линейной или циклической структурой. Когда часть более крупной структуры, спирт может представлять собой заместитель этой структуры посредством образования связи через углерод, несущий гидроксил, через углерод алкила или другого фрагмента, как описано в настоящем документе, с этим углеродом, несущим гидроксил, или через заместитель этого алкила или другой фрагмент. Алифатический спирт предусматривает неароматическую циклическую структуру (т. е., углеродные циклы и углеродные гетероциклы, необязательно замещенные), в которой гидроксильная функциональная группа связана с неароматическим углеродом его циклической кольцевой системы.

[70] «Арилалкил» или «гетероарилалкил», как используют в настоящем документе, обозначает заместитель, фрагмент или группу, где арил фрагмент связан с алкильным фрагментом, т. е., арил-алкил-, где алкильная и арильная группы как описано выше, например, $C_6H_5-CH_2-$ или $C_6H_5-CH(CH_3)CH_2-$. Арилалкил или гетероарилалкил связан с более крупной структурой или фрагментом через sp^3 углерод его алкильного фрагмента.

[71] «Электроноакцепторная группа», как используют в

настоящем документе, обозначает функциональную группу или электроотрицательный атом, который забирает электронную плотность от атома, с которым он связан, или индуктивно и/или через резонанс, в зависимости от того, что преобладает (т. е., функциональная группа или атом может быть электроноакцепторным индуктивно, но в целом может быть электронодонорным через резонанс), и склонна стабилизировать анионы или богатые электронами фрагменты. Этот электроноакцепторный эффект типично передается индуктивно, хотя и в ослабленной форме, другим атомам, прикрепленным к связанному атому, который сделан электронодефицитным электроноакцепторной группой (EWG), таким образом влияя на электрофильность более удаленного реакционного центра. Образцовые электроноакцепторные группы включают, но не ограничиваясь этим, $-C(=O)$, $-CN$, $-NO_2$, $-CX_3$, $-X$, $-C(=O)OR^{op}$, $-C(=O)N(R^{op})_2$, $-C(=O)R^{op}$, $-C(=O)X$, $-S(=O)_2R^{op}$, $-S(=O)_2OR^{op}$, $-S(=O)_2NHR^{op}$, $-S(=O)_2N(R^{op})_2$, $-P(=O)(OR^{op})_2$, $-P(=O)(CH_3)NHR^{op}$, $-NO$, $-N(R^{op})_3^+$, в которых X представляет собой $-F$, $-Br$, $-Cl$ или $-I$, и R^{op} в некоторых аспектах в каждом случае независимо выбирают из группы, состоящей из водорода и C_{1-6} алкила, и определенных O-связанных фрагментов, как описано в настоящем документе, таких как ацилокси.

[72] Образцовые EWG также могут включать арильные группы (например, фенил) в зависимости от замещения и определенных гетероарильных групп (например, пиридина). Таким образом, термин «электроноакцепторные группы» также включает арилы или гетероарилы, которые дополнительно замещены электроноакцепторными группами. Типично, электроноакцепторные группы на арилах или гетероарилах представляют собой $-C(=O)$, $-CN$, $-NO_2$, $-CX_3$ и $-X$, в которых X независимо выбранный представляет собой галоген, типично $-F$ или $-Cl$. В зависимости от его заместителей, алкильный фрагмент также может представлять собой электроноакцепторную группу.

[73] «Электронодонорная группа», как используют в настоящем документе, обозначает функциональную группу или электроположительный атом, который увеличивает электронную плотность атома, с которым он связан, или индуктивно и/или

через резонанс, в зависимости от того, что преобладает (т. е., функциональная группа или атом может быть электронодонорным через резонанс, но в целом может быть электроноакцепторным индуктивно) и склонен стабилизировать катионы или бедные электронами системы. Электронодонорный эффект типично передается через резонанс на другие атомы, прикрепленные к связанному атому, который стал богатым электронами с помощью электронодонорной группы (EWG), таким образом влияя на нуклеофильность более удаленного реакционного центра. Образцовые электронодонорные группы включают, но не ограничиваясь этим, амины и определенные O-связанные заместители, как описано в настоящем документе, такие как -ОН и простые эфиры. В зависимости от его заместителя, фрагмент арила или гетероарила также может представлять собой электронодонорную группу. Незамещенные фрагменты алкилов типично являются электронодонорными.

[74] «O-связанный фрагмент», как используют в настоящем документе, обозначает фрагмент, который прикрепляют к более крупной структуре или фрагменту непосредственно через атом кислорода O-связанного фрагмента. O-связанный фрагмент может представлять собой одновалентный фрагмент, в том числе фрагменты, такие как гидроксил, т. е., -ОН, ацетокси, т. е., -OC(=O)CH₃, ацилокси, т. е., -OC(=O)R, в которых R представляет собой водород, или алкил, циклоалкил, алкенил, алкинил, арил или гетероцикл, необязательно замещенный, и арилокси (арил-O-), фенокси (Ph-O-) и гетероарилокси (гетероарил-O), необязательно замещенный, или силилокси, т. е., R³SiO-, в которых R независимо представляют собой алкил, арил, или гетероарил, необязательно замещенный, простой эфир, т. е., -OR, в котором R как определено для силилокси, и -OR^{PR}, в котором R^{PR} представляет собой защитную группу, как определено предварительно. Одновалентный O-связанный фрагмент может быть электронодонорным или электроноакцепторным, в зависимости от электроотрицательности связанного гетероатома кислорода и доступности его неподеленной пары электронов. Например, -ОН или простой эфир, когда его атом кислорода представляет собой

заместитель для атома углерода, представляет собой электронодонорный фрагмент, тогда как ацилокси, замещенный аналогичным образом, представляет собой электроноакцепторный фрагмент. O-связанный фрагмент также может быть двухвалентным, т. е. =O или фрагмент кеталя, например, $-X-(CH_2)_n-Y-$, в котором X и Y независимо представляют собой S и O и n равно от 2 до 3, чтобы формировать спиро-кольцевую систему с углеродом, к которому прикрепляют X и Y.

[75] «Способность уходящей группы» относится к способности спирто-, тиоло-, амино- или амидосодержащего соединения, соответствующего звену лекарственного средства в конъюгате лекарственного средства и лиганда, к высвобождению из конъюгатов в виде свободного лекарственного средства после активации события саморасщепления внутри конъюгата. Это высвобождение может варьировать, без использования звена метиленкарбамата, к которому прикрепляют звено лекарственного средства (т. е., когда звено лекарственного средства прикреплено непосредственно к саморасщепляющемуся фрагменту и не имеет промежуточного звена метиленкарбамата). Хорошие уходящие группы обычно представляют собой слабые основания, и более кислая функциональная группа, которая отсоединяется от таких конъюгатов, тем слабее, чем слабее основание конъюгата. Таким образом, способность уходящей группы спирто-, тиоло-, амино- или амидосодержащего свободного лекарственного средства из звена лекарственного средства связана с рКа функциональной группы лекарственного средства, которая покидает конъюгат в случаях, когда звено метиленкарбамата (т. е., тогда, когда звено лекарственного средства прикреплено непосредственно к саморасщепляющемуся фрагменту) не используют. Таким образом, более низкий рКа для этой функциональной группы увеличивает ее способность уходящей группы. Несмотря на то, что другие факторы могут вносить вклад в высвобождение свободного лекарственного средства из конъюгатов без использования звена метиленкарбамата, в целом лекарственное средство, которое имеет функциональную группу с более низким значением рКа, типично будет представлять собой более хорошую уходящую группу, чем

лекарственное средство, которое прикреплено через функциональную группу с более высоким значением pK_a . Другое соображение состоит в том, что функциональная группа, которая имеет слишком низкое значение pK_a , может вести к неприемлемому профилю активности из-за преждевременной утраты звена лекарственного средства через самопроизвольный гидролиз. Для конъюгатов, в которых используют звено метиленкарбамата, общую функциональную группу (т. е., карбаминую кислоту), которая имеет значение pK_a , которое делает возможным эффективное высвобождение свободного лекарственного средства, без неприемлемой утраты звена лекарственного средства, получают при саморасщеплении.

[76] «Сукцинимидный фрагмент», как используют в настоящем документе, относится к органическому фрагменту, состоящему из сукцинимидной кольцевой системы, которая присутствует в звене носителя (Z) одного типа, которое типично дополнительно состоит из алкилен-содержащего фрагмента, связанного с азотом имида этой кольцевой системы. Сукцинимидный фрагмент типично является результатом присоединения Майкла сульфгидрильной группы звена лиганда к малеимидной кольцевой системе предшественника звена носителя (Z'). Сукцинимидный фрагмент, следовательно, состоит из тио-замещенной сукцинимидной кольцевой системы и, когда присутствует в LDC, его азот имида замещен оставшейся частью линкерного звена из LDC и необязательно замещен заместителем(заместителями), которые представлены на малеимидной кольцевой системе из Z'.

[77] «Фрагмент амида кислоты», как используют в настоящем документе, относится к янтарной кислоте, которая имеет амидный заместитель, который является результатом тио-замещенной сукцинимидной кольцевой системы сукцинимидного фрагмента, которая подверглась разрыву одной из ее связей карбонил-азот посредством гидролиза. Гидролиз, который ведет к фрагменту амида янтарной кислоты, предоставляет линкерное звено, которое с меньшей вероятностью страдает преждевременной утратой звена лиганда, с которым оно связано, через элиминирование антительного тио-заместителя. Предположительно гидролиз

сукцинимидной кольцевой системы тио-замещенного сукцинимидного фрагмента предоставляет региохимические изомеры фрагментов амидов кислот, которые обусловлены различиями в реакционной способности двух карбонильных углеродов сукцинимидной кольцевой системы, относящихся, по меньшей мере отчасти, к какому-либо заместителю, присутствующему в малеимидной кольцевой системе предшественника звена носителя, и к тио-заместителю, введенному с помощью направленного лиганда.

[78] Термин «пролекарственное средство», как используют в настоящем документе, относится к биологически менее активному или неактивному соединению, которое превращается в организме в биологически более активное соединение посредством химического или биологического процесса (т. е., химической реакции или ферментативного биологического превращения). Типично, биологически активное соединение превращают в биологически менее активное (т. е., превращают в пролекарственное средство) посредством химической модификации соединения фрагментом пролекарственного средства. В некоторых аспектах пролекарственное средство относится к пролекарственному средству II типа, которые проходят биологическую активацию снаружи клеток, например, в пищеварительных соках или в системе циркуляции организма, например, в крови. Образцовые пролекарственные средства представляют собой сложные эфиры и $\beta\beta$ -D-глюкопиранозиды.

Варианты осуществления

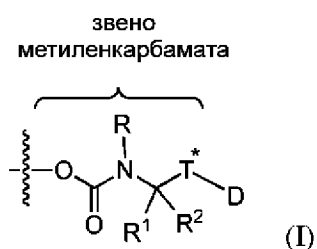
[79] Далее описано множество вариантов осуществления изобретения, которые не предназначены для ограничения изобретения каким-либо образом, и далее следует более детализированное обсуждение компонентов, которые образуют конъюгаты. Специалист в данной области поймет, что каждый из идентифицированных конъюгатов и любой из выбранных вариантов его осуществления направлен на то, чтоб включать полный объем каждого компонента и линкера.

Конъюгаты лекарственного средства и лиганда

[80] В одной группе вариантов осуществления,

предоставленных в настоящем документе, приведены конъюгаты лекарственного средства и лиганда (LDC) и их композиции, которые содержат совокупности этих LDC (т. е., композиции LDC).

[81] В одном из аспектов, конъюгат лекарственного средства и лиганда содержит звено лиганда, звено лекарственного средства и линкерное звено, которое соединяет звено лиганда со звеном лекарственного средства, в котором линкерное звено состоит из саморасщепляющегося сборочного звена, через которое звено лиганда соединяют со звеном лекарственного средства. Звено лекарственного средства непосредственно прикрепляют к звену метиленкарбамата саморасщепляющегося сборочного звена, в котором звено метиленкарбамата, ковалентно прикрепленное к звену лекарственного средства в конъюгате лекарственного средства и лиганда, имеет структуру формулы I:



или ее фармацевтически приемлемой соли;

в которой

D представляет собой звено лекарственного средства, которое имеет функциональную группу (например, функциональная гидроксильную, тиоловую, амидную или аминогруппу), которая встроена в звено метиленкарбамата;

T* представляет собой гетероатом из указанной функциональной группы (например, кислород, сера, необязательно замещенный азот), который становится встроенным в звено метиленкарбамата;

R, R¹ и R² независимо представляют собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил или необязательно замещенный C-связанный C₃-C₈ гетероарил;

или

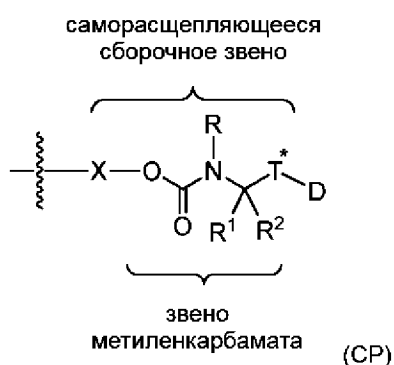
оба R и R¹ вместе с атомами азота и углерода, к которым

они присоединены, содержат фрагмент азетидинила, пирролодинила, пиперидинила или гомопиперидинила (предпочтительно фрагмент пирролодинила или пиперидинила), и R^2 представляет собой водород; и

волнистая линия обозначает ковалентное прикрепление структуры формулы I к остальной части саморасщепляющегося сборочного звена (т. е., прикрепление внутри LDC), и в котором саморасщепляющееся сборочное звено высвобождает свободное лекарственное средство (т. е., D-T*H) после активации саморасщепляющегося сборочного звена.

[82] В некоторых вариантах осуществления формулы I, один из R, R^1 , R^2 представляет собой основное звено или звено PEG, и другие представляют собой как определено выше. В некоторых вариантах осуществления формулы I высвобожденное D-T*H имеет рКа между приблизительно 9 и приблизительно 36 для его функциональной группы T*H. В других вариантах осуществления формулы CP высвобожденное D-T*H имеет рКа между приблизительно 12 и приблизительно 36 или между приблизительно 15 и приблизительно 36 для его функциональной группы T*H.

[83] Типично, звено метиленкарбамата прикрепляют к активируемому саморасщепляющемуся фрагменту, X, как представлено формулой (CP):



или ее фармацевтически приемлемой солью; в которой волнистая линия обозначает ковалентное прикрепление структуры формулы CP внутри LDC;

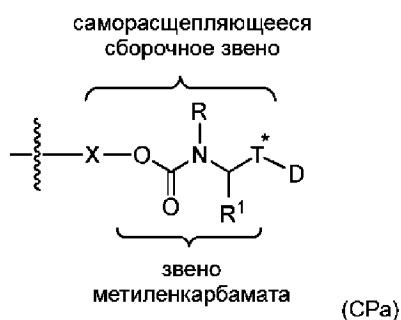
R, R^1 , R^2 , T* и D как определено для формулы I;

X представляет собой активируемый саморасщепляющийся фрагмент; и в которой указанное саморасщепляющееся сборочное

звено высвобождает свободное лекарственное средство (т. е., D-T*H) после активации X.

В некоторых вариантах осуществления формулы CP, один из R, R¹, R² представляет собой основное звено или звено PEG, и другие как определено для формулы I. В некоторых вариантах осуществления формулы I высвобожденный D-T*H имеет рКа между приблизительно 9 и приблизительно 36 для его функциональной группы T*H. В других вариантах осуществления формулы CP высвобожденное D-T*H имеет рКа между приблизительно 12 и приблизительно 36 или между приблизительно 15 и приблизительно 36 для его функциональной группы T*H.

[84] Образцовые варианты осуществления включают те, в которых R² представляет собой водород, как изложено в формуле CPa:

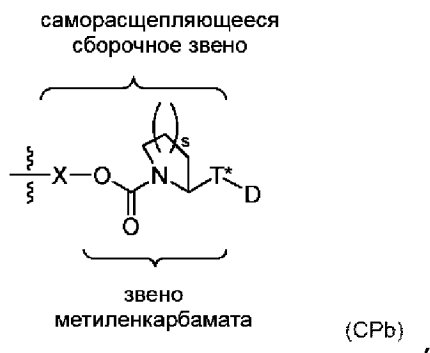


или ее фармацевтически приемлемую соль, в которой волнистая линия, X, R, R¹, T* и D как определено для формулы CP. R и R¹ предпочтительно представляют собой водород, необязательно замещенный C₁₋₆ алкил или необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил, (более предпочтительно водород, необязательно замещенный C₁₋₄ алкил или необязательно замещенный фенил, наиболее предпочтительно водород или необязательно замещенный C₁₋₄ алкил).

[85] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления формулы CPa, R представляет собой незамещенный C₁₋₄ алкил. В других предпочтительных вариантах осуществления один из R и R¹ представляет собой основное звено или звено PEG и другой представляет собой водород или незамещенный C₁₋₄ алкил. В других предпочтительных вариантах осуществления R представляет собой водород, основное звено или звено PEG и R¹ представляет собой

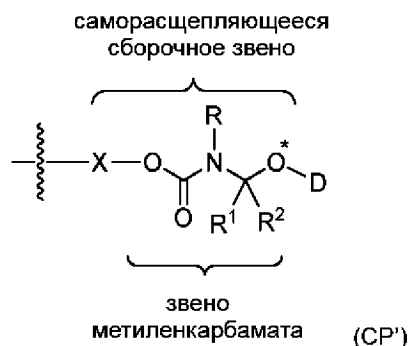
водород.

[86] Образцовые варианты осуществления включают те, в которых R^1 и R^2 вместе с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, содержат гетероцикло, как изложено в формуле (CPb) :



или ее фармацевтически приемлемую соль, в которой волнистая линия, X, R, R^2 , T* и D как определено для формулы CP, и нижний индекс s равен 0, 1, 2 или 3. В некоторых вариантах осуществления формулы CPb нижний индекс s равен 0, 1 или 2; предпочтительно s равен 1 или 2.

[87] В некоторых вариантах осуществления звено метиленкарбамата представляет собой звено МАК. В этих вариантах осуществления D представляет собой звено лекарственного средства, которое имеет гидроксильную функциональную группу, которая встроена в звено метиленкарбамата. В таких вариантах осуществления саморасщепляющееся сборочное звено, ковалентно прикрепленное к звену лекарственного средства, представлено формулой CP' :

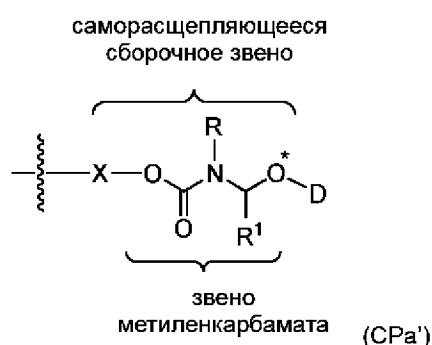


или ее фармацевтически приемлемой солью; в которой волнистая линия, X, R, R^1 и R^2 как определено для формулы CP, D представляет собой звено лекарственного средства, которое

имеет гидроксильную функциональную группу перед его встраиванием в указанное звено метиленкарбамата, и O^* представляет собой атом кислорода из указанной гидроксильной функциональной группы; и в которой указанное саморасщепляющееся сборочное звено высвобождает свободное лекарственное средство (т. е., $D-O^*H$) после активации X .

[88] В некоторых вариантах осуществления формулы CP' высвобожденное $D-O^*H$ имеет pK_a между приблизительно 10 и приблизительно 19 для его гидроксильной функциональной группы. В других вариантах осуществления формулы I высвобожденное $D-O^*H$ имеет pK_a между приблизительно 12 и приблизительно 19 или между 15 и приблизительно 19 для его гидроксильной функциональной группы.

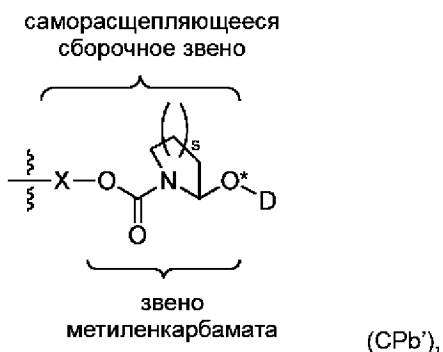
[89] Образцовые варианты осуществления включают те, в которых R^2 представляет собой водород, как изложено в формуле CPa' :



в которой волнистая линия, X , R , R^1 , O^* и D как определено для формулы CP' . R и R^1 предпочтительно представляют собой водород, необязательно замещенный C_{1-6} алкил или необязательно замещенный C_{6-14} арил, (более предпочтительно водород, необязательно замещенный C_{1-4} алкил или необязательно замещенный фенил, наиболее предпочтительно водород или необязательно замещенный C_{1-4} алкил). В некоторых вариантах осуществления формулы CPa' один из R и R^1 представляет собой основное звено или звено PEG и другой представляет собой водород или незамещенный C_{1-4} алкил. В других вариантах осуществления R представляет собой водород, основное звено или звено PEG и R^1 представляет собой водород.

[90] Образцовые варианты осуществления включают те, в

которых R^1 и R^2 вместе с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, содержат гетероцикло, как изложено в формуле (CPb'):



в которой волнистая линия, X , R^2 , O^* и D как определено для формулы CP' , и нижний индекс s равен 0, 1, 2 или 3. Предпочтительно нижний индекс s равен 0, 1 или 2 (более предпочтительно s равен 1 или 2).

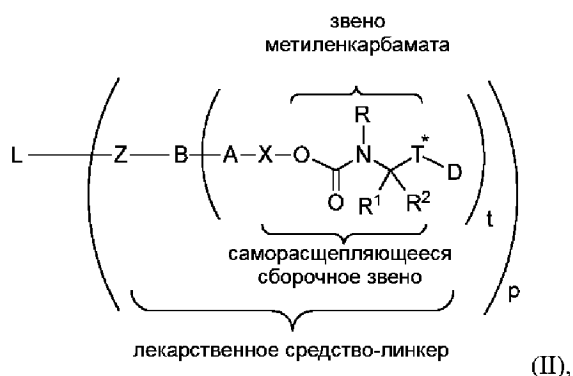
[91] В одном из аспектов конъюгат лекарственного средства и лиганда содержит звено лиганда, звено лекарственного средства и линкерное звено, которое соединяет звено лиганда со звеном лекарственного средства, в котором линкерное звено состоит из саморасщепляющегося сборочного звена и звена носителя. Лекарственное средство встраивают во фрагмент лекарственное средство-линкер из LDC посредством встраивания гидроксильной, тиоловой, аминной или амидной функциональной группы лекарственного средства через гетероатом кислорода, серы или необязательно замещенного азота этой функциональной группы в звено метиленкарбамата саморасщепляющегося сборочного звена. Саморасщепляющееся сборочное звено после этого соединяют со звеном лиганда через звено носителя.

[92] В некоторых вариантах осуществления могут иметь место от 1 до 4 саморасщепляющихся сборочных звеньев внутри фрагмента лекарственное средство-линкер для каждого участка прикрепления к звену лиганда (представлено нижним индексом t) и от 1 до 16 фрагментов лекарственное средство-линкер на звено лиганда (представлено нижним индексом p). В тех вариантах осуществления, в которых имеют место два или более саморасщепляющихся сборочных звена, соединенных с каждым

участком прикрепления на звене лиганда, звено ветвления присутствует для того, чтобы сделать возможным требуемое ветвление.

[93] В некоторых аспектах дополнительное соединительное звено (А) ковалентно прикрепляет звено носителя (Z) или звено ветвления (В), в зависимости от присутствия или отсутствия В, к саморасщепляющемуся сборочному звену.

[94] В некоторых вариантах осуществления конъюгат лекарственного средства и лиганда, или его композиция, которая состоит из совокупности этих LDC (т. е., композиция LDC), представлен далее формулой II:



или ее фармацевтически приемлемой солью; в которой

D представляет собой звено лекарственного средства, которое имеет функциональную группу (например, функциональную гидроксильную, тиоловую, амидную или аминогруппу), которая встроена в звено метиленкарбамата;

T* представляет собой гетероатом из указанной функциональной группы (например, кислород, сера, необязательно замещенный азот), который становится встроенным в звено метиленкарбамата;

R, R¹ и R² независимо представляют собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил или необязательно замещенный C-связанный C₃-C₈ гетероарил, или

R и R¹ вместе с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, содержат фрагмент азетидинила, пирролодинила, пиперидинила или гомопиперидинила, и R² представляет собой водород;

X представляет собой активируемый саморасщепляющийся фрагмент;

L представляет собой звено лиганда;

Z представляет собой звено носителя;

V представляет собой необязательное звено ветвления, которое присутствует, когда t равно 2, 3 или 4, и отсутствует, когда t равно 1;

A представляет собой необязательное соединительное звено;

нижний индекс s равен 1 или 2;

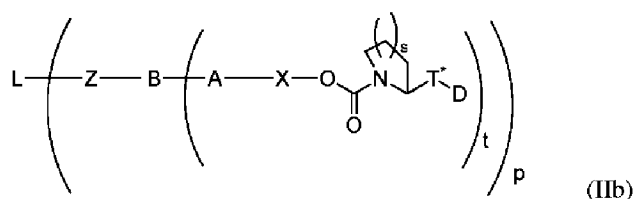
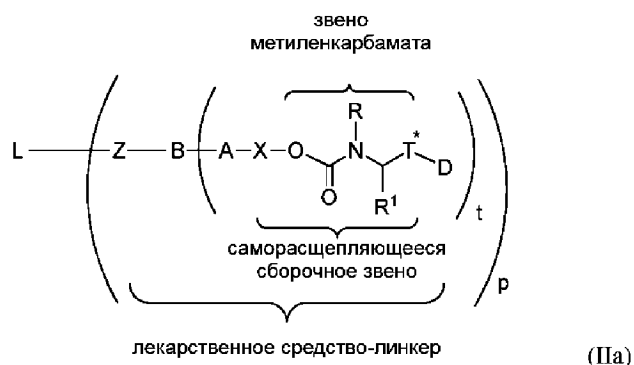
нижний индекс t находится в диапазоне от 1 до 4; и

нижний индекс p представляет собой целое число (для отдельного LDC) или число (для совокупности LDC) в диапазоне от 1 до 16; и в которой указанное саморасщепляющееся сборочное звено высвобождает свободное лекарственное средство (т. е., D-T*N) после активации X.

[95] В некоторых вариантах осуществления формулы I высвобожденное D-T*N имеет pK_a между приблизительно 9 и приблизительно 36 для его функциональной группы T*N. В других вариантах осуществления формулы CP высвобожденное D-T*N имеет pK_a между приблизительно 12 и приблизительно 36 или между приблизительно 15 и приблизительно 36 для его функциональной группы T*N.

[96] В некоторых вариантах осуществления формулы II один из R, R^1 и R^2 представляет собой основное звено или звено PEG и другие как определено. В других вариантах осуществления формулы II R представляет собой основное звено или звено PEG и R^1 и R^2 как определено.

[97] Образцовые варианты осуществления включают те, в которых R^2 представляет собой водород, как изложено в формуле IIa, или R^1 и R^2 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, содержат азетидинил, пирролодинил, пиперидинил или гомопиперидинил, как изложено в формуле IIb:



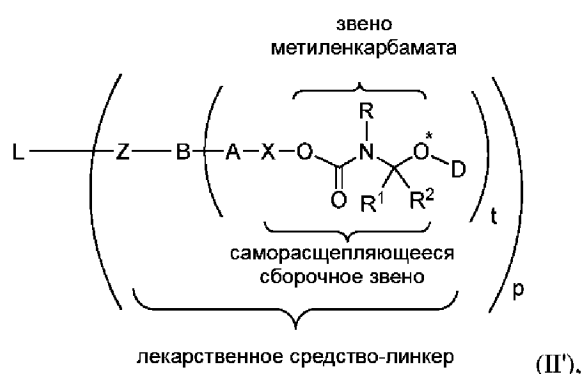
или ее фармацевтически приемлемую соль, в которой R, R¹, R², L, Z, B, X, A, T*, D и нижние индексы t и p как определено для формулы II, и нижний индекс s равен 0, 1, 2 или 3.

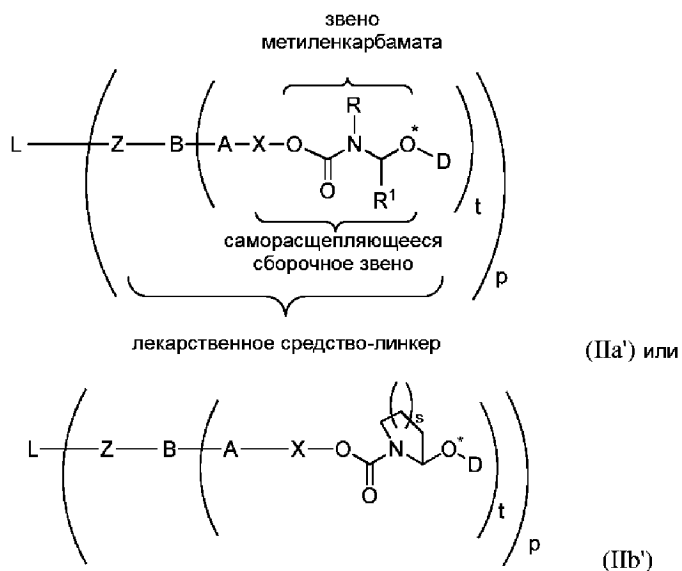
[98] В формуле IIa R и R¹ предпочтительно представляют собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил или необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил (более предпочтительно водород, необязательно замещенный C₁-C₄ алкил или необязательно замещенный фенил, наиболее предпочтительно водород или необязательно замещенный C₁-C₄ алкил). В некоторых предпочтительных вариантах осуществления формулы IIa R представляет собой основное звено или звено PEG и R¹ представляет собой водород или незамещенный C₁-C₄ алкил или R представляет собой водород или незамещенный C₁-C₄ алкил и R² представляет собой основное звено или звено PEG. В формуле IIb нижний индекс s предпочтительно равен 0, 1 или 2; более предпочтительно s равен 1 или 2.

[99] Лекарственные средства, подлежащие использованию в настоящем изобретении, включают спирто- (например, ароматический и алифатический гидроксил)-содержащие лекарственные средства, тиолосодержащие лекарственные средства, амино- (например, алифатический и ариламино-)-содержащие лекарственные средства, амидо- (например, карбоксамидо)-содержащие лекарственные средства. Таким образом, прикрепление звена лекарственного средства к саморасщепляющемуся сборочному

звену может происходить, например, путем встраивания лекарственного средства через гетероатом кислорода из гидроксильной функциональной группы из спиртосодержащего лекарственного средства, гетероатомом серы из тиоловой функциональной группы тиолосодержащего лекарственного средства или необязательно замещенный гетероатом азота из аминной или амидной функциональной группы амино- или амидосодержащего лекарственного средства. Такие гетероатомы кислорода, серы или азота обозначают как T*. Должно быть понятно, что тогда как встраивание лекарственного средства может происходить через спиртовую функциональность (т. е., через гетероатом кислорода гидроксильной функциональной группы), лекарственное средство может иметь дополнительные спиртовые функциональности или тиоловые, аминные или амидные функциональности, которые не образуют такие связи. Аналогичным образом, тогда как встраивание лекарственного средства может происходить через его тиоловые, аминные или амидные функциональности, лекарственное средство может иметь дополнительные спиртовые, тиоловые, аминные или амидные функциональности, которые не образуют такие связи.

[100] Звено метиленкарбамата в формулах II, IIa и IIb может представлять собой звено метиленалкокси (арилокси) карбамата (звено МАК), как показано далее формулами II', IIa', и IIb'





или ее фармацевтически приемлемой солью; в которой

D представляет собой звено лекарственного средства, которое имеет гидроксильную функциональную группу перед его встраиванием в указанное звено метиленалкокси (арилокси) карбамата (звено МАК), гетероатомом кислорода из которой обозначают как O*;

R представляет собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил или необязательно замещенный C-связанный C₃-C₈ гетероарил;

R¹ и R² независимо представляют собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил или необязательно замещенный C-связанный C₃-C₈ гетероарил, или

R и R¹ вместе с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, содержат фрагмент азетидинила, пирролодинила, пиперидинила или гомопиперидинила, и R² представляет собой водород;

X представляет собой активируемый саморасщепляющийся фрагмент;

L представляет собой звено лиганда;

Z представляет собой звено носителя;

B представляет собой необязательное звено ветвления, которое присутствует, когда t равно 2, 3 или 4, и отсутствует, когда t равно 1;

A представляет собой необязательное соединительное звено;

нижний индекс s равен 1 или 2;

нижний индекс t находится в диапазоне от 1 до 4;

нижний индекс s равен 0, 1, 2 или 3 и

нижний индекс p представляет собой целое число (для отдельного LDC) или число (для совокупности LDC) в диапазоне от 1 до 16; и в которой указанное саморасщепляющееся сборочное звено высвобождает свободное лекарственное средство (т. е., D-O*H) после активации X.

[101] В некоторых вариантах осуществления формулы II', IIa' или IIb' высвобожденное D-O*H имеет pKa между приблизительно 10 и приблизительно 19 для его гидроксильной функциональной группы. В других вариантах осуществления формулы II', IIa' или IIb' высвобожденное D-O*H имеет pKa между приблизительно 12 и приблизительно 19 или между 15 и приблизительно 19 для его гидроксильной функциональной группы.

[102] В некоторых вариантах осуществления формулы II' один из R, R¹ и R² представляет собой основное звено или звено PEG и другие как определено. В других предпочтительных вариантах осуществления формулы II' R представляет собой основное звено или звено PEG и R¹ и R² как определено.

[103] В некоторых вариантах осуществления формулы IIa' R и R¹ представляют собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил или необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил (предпочтительно водород, необязательно замещенный C₁-C₄ алкил или необязательно замещенный фенил, более предпочтительно водород или необязательно замещенный C₁-C₄ алкил). В некоторых вариантах осуществления формулы IIb' предпочтительно нижний индекс s равен 0, 1 или 2; более предпочтительно 1 или 2.

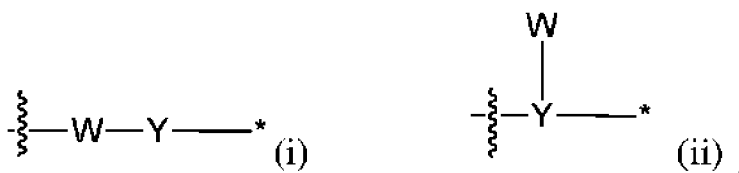
[104] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления формулы IIa' R представляет собой основное звено или звено PEG и R¹ представляет собой водород или незамещенный C₁-C₄ алкил и R представляет собой водород или незамещенный C₁-C₄ алкил и R¹ представляет собой основное звено или звено PEG.

[105] В других предпочтительных вариантах осуществления формулы II' или формулы IIa' R и R¹ вместе с атомами азота и

углерода, к которым они присоединены, содержат фрагмент пирролодимила или пиперидинила.

[106] Гидроксильная функциональная группа, упоминаемая в настоящем документе, может представлять собой гидроксильную функциональную группу ароматического спирта или алифатического спирта. Алифатический спирт может представлять собой первичный, вторичный или третичный алифатический спирт. Предпочтительно спирт представляет собой алифатический спирт, более предпочтительно первичный или вторичный алифатический спирт.

[107] Саморасщепляющееся сборочное звено содержит, в дополнение к звену метиленкарбамата, активируемый саморасщепляющийся фрагмент. Этот активируемый фрагмент состоит из активационного звена и саморасщепляющегося спейсерного звена. Спейсерное звено может содержать одно или несколько саморасщепляющихся спейсерных подзвеньев, каждое способно к саморасщеплению (например, от 1 до 4). Активационное звено инициирует последовательность реакций саморасщепления внутри спейсерного звена или его подзвена, которая ведет к высвобождению свободного лекарственного средства. Или активационное звено или саморасщепляющееся спейсерное звено (A) может предусматривать участок ковалентного прикрепления к A, B или Z внутри LDC или его промежуточного соединения, в зависимости от присутствия или отсутствия A и/или B. В некоторых вариантах осуществления саморасщепляющихся фрагмент (X) саморасщепляющегося сборочного звена представлен следующим образом с помощью формулы i или ii



в которых

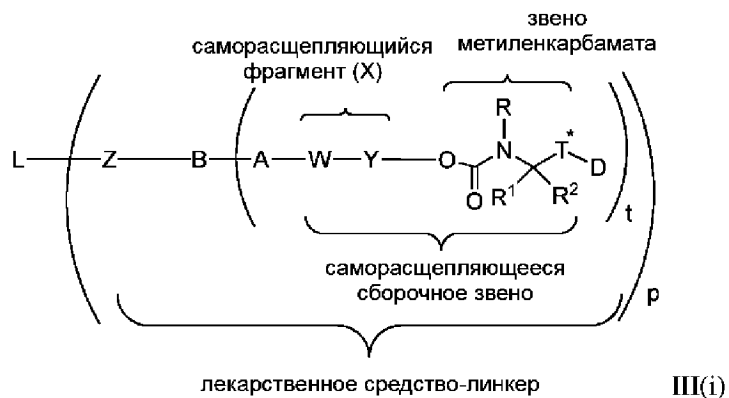
W представляет собой активационное звено; и

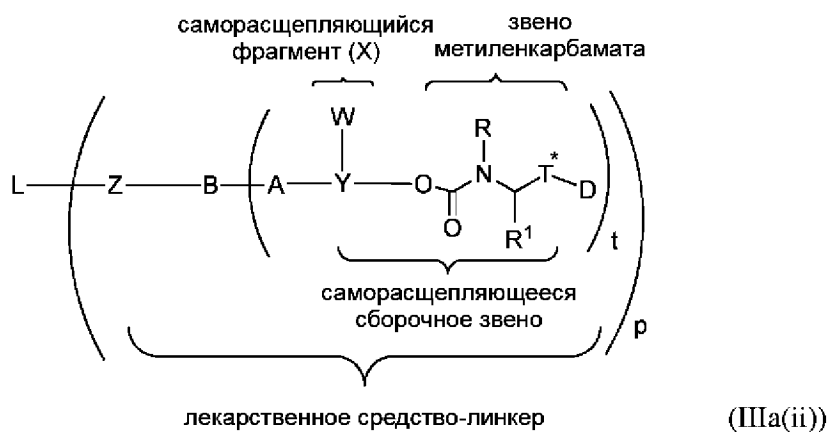
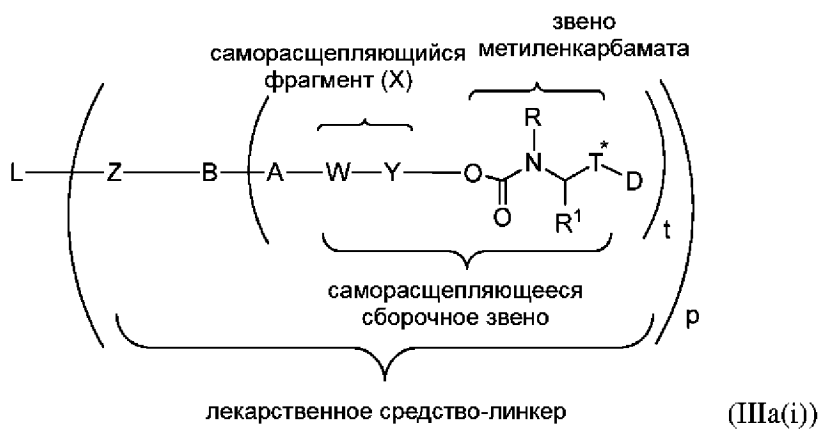
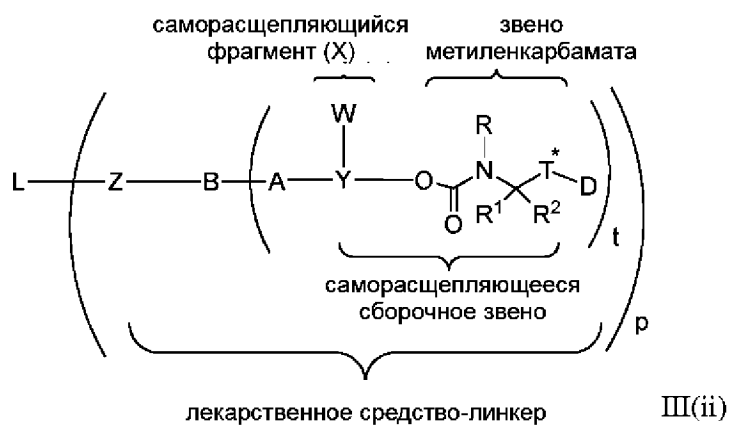
Y представляет собой саморасщепляющееся спейсерное звено;

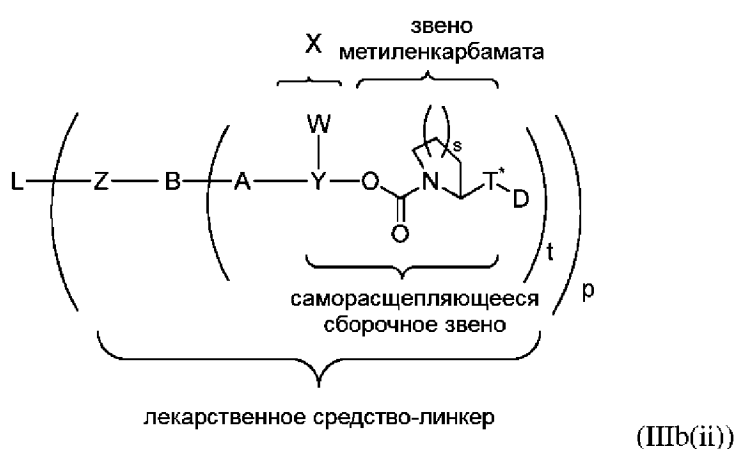
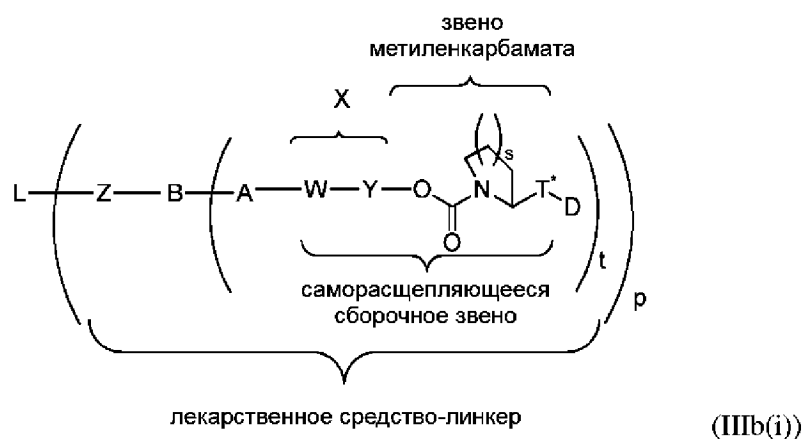
и волнистая линия обозначает участок прикрепления к остальной части конъюгата (т. е., к A, B или Z, в зависимости от присутствия или отсутствия A и/или B) и звездочка (*)

обозначает участок прикрепления к метиленкарбаматному линкеру.

[108] В некоторых аспектах конъюгат лекарственного средства и лиганда (LDC) или его композиция, которая состоит из совокупности этих LDC (т. е., композиция LDC), представлен формулой III(i), III(ii), IIIa(i), IIIa(ii), IIIb(i) или IIIb(ii):







или ее фармацевтически приемлемой солью; в которой

W представляет собой активационное звено;

Y представляет собой саморасщепляющееся спейсерное звено;

и

L, Z, B, A, R, R¹, R², T*, D и нижние индексы t, s и p как определено для формул II, IIa и IIb.

[109] В некоторых вариантах осуществления формулы III(i), III(ii), IIIa(i), IIIa(ii), IIIb(i) или IIIb(ii) высвобожденное D-T*N имеет pKa между приблизительно 9 и приблизительно 36 для его функциональной группы T*N. В других вариантах осуществления формулы III(i), III(ii), IIIa(i), IIIa(ii), IIIb(i) или IIIb(ii) высвобожденное D-T*N имеет pKa между приблизительно 12 и приблизительно 36 или между приблизительно 15 и приблизительно 36 для его функциональной группы T*N.

[110] В некоторых вариантах осуществления формулы III(i) или III(ii) один из R, R¹ и R² представляет собой основное звено

или звено PEG и другие как определено. В других предпочтительных вариантах осуществления формулы III(i) или III(ii) R представляет собой основное звено или звено PEG и R¹ и R² как определено. В других предпочтительных вариантах осуществления формулы III(i) или III(ii) R и R¹ вместе с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, содержат фрагмент пирролодимила или пиперидимила и R² представляет собой водород.

[111] В некоторых вариантах осуществления формулы IIIa(i) и IIIa(ii) R и R¹ представляют собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил или необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил (предпочтительно водород, необязательно замещенный C₁-C₄ алкил или необязательно замещенный фенил, более предпочтительно водород или необязательно замещенный C₁-C₄ алкил). В некоторых вариантах осуществления формулы IIIb(i) и IIIb(ii) предпочтительно нижний индекс s равен 0, 1 или 2, предпочтительно 1 или 2.

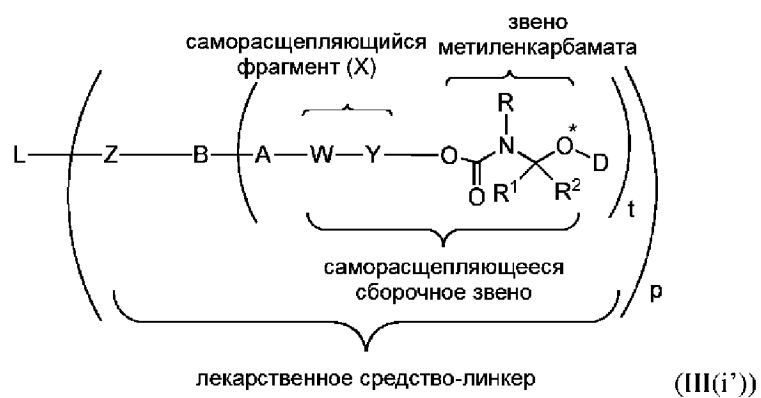
[112] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления формулы IIIa(i) или IIIa(ii) R представляет собой основное звено или звено PEG и R¹ представляет собой водород или незамещенный C₁-C₄ алкил или R представляет собой водород или незамещенный C₁-C₄ алкил и R² представляет собой основное звено или звено PEG.

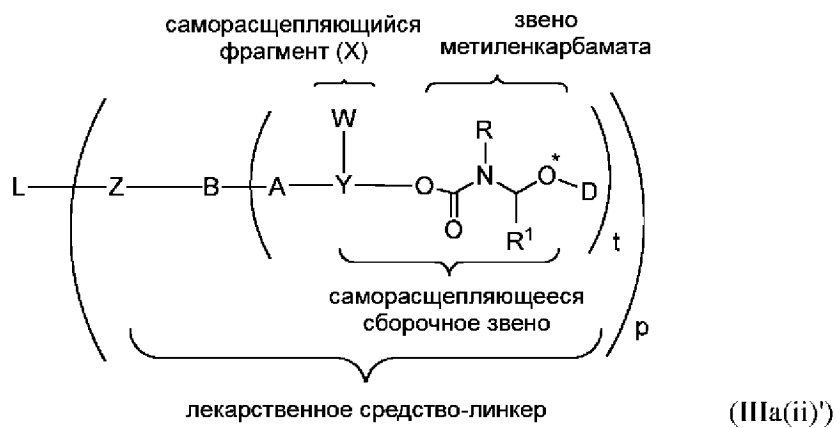
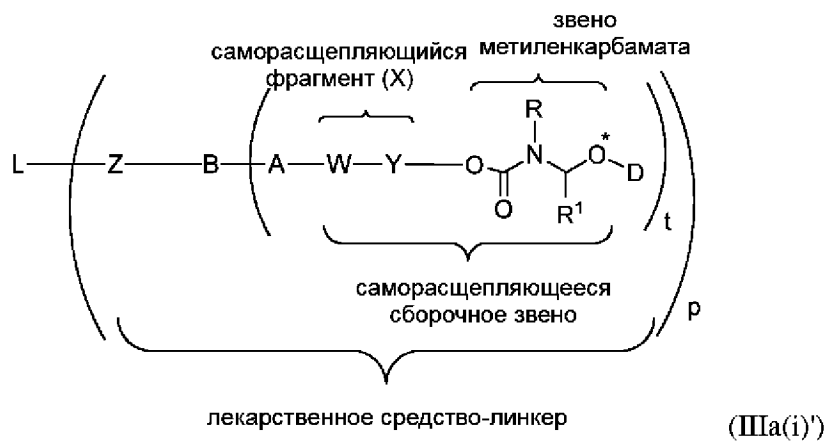
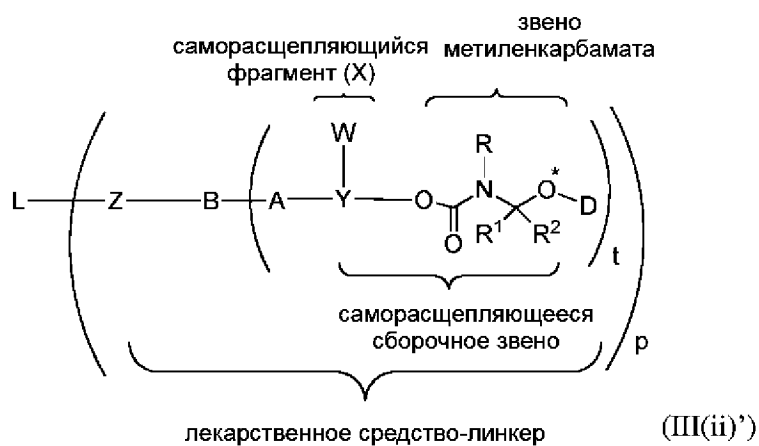
[113] В других предпочтительных вариантах осуществления формулы IIIa(i) или IIIa(ii) R и R¹ вместе с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, содержат фрагмент пирролодимила или пиперидимила.

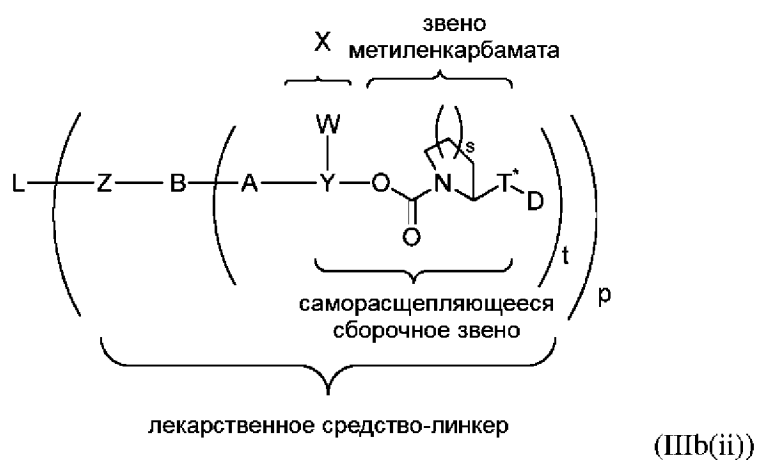
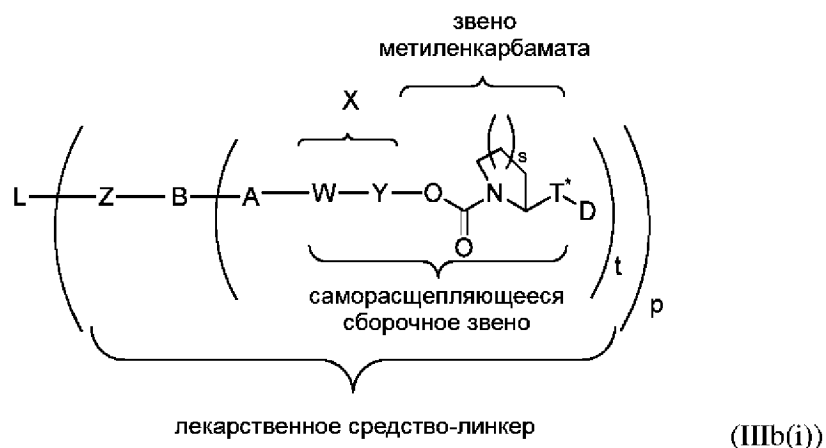
[114] В других предпочтительных вариантах осуществления формулы IIIa(i) или IIIa(ii) R представляет собой водород или незамещенный C₁-C₄ алкил и R¹ представляет собой водород. В других предпочтительных вариантах осуществления формулы IIIa(i) или IIIa(ii) R представляет собой основное звено или звено PEG и R¹ представляет собой водород.

[115] Звено метиленакарбамата в формулах III(i), III(ii), IIIa(i), IIIa(ii), IIIb(i) или IIIb(ii) может представлять собой звено метиленакарбамата (звено МАК), как

показано далее с помощью формулы III(i)', III(ii)', IIIa(i)', IIIa(ii)', IIIb(i)' или IIIb(ii)':







или ее фармацевтически приемлемой соли; в которой D представляет собой звено лекарственного средства, которое имеет гидроксильную функциональную группу перед встраиванием в указанное звено метиленалкокси(арилокси)карбамата (звено МАК), гетероатомом кислорода из которой обозначают как O*;

L, Z, B, A, Y, W, R, R¹, R² и нижние индексы t, p и s как определено для формул III(i), III(ii), IIIa(i), IIIa(ii), IIIb(i) или IIIb(ii).

[116] В некоторых вариантах осуществления формулы III(i)', III(ii)', IIIa(i)', IIIa(ii)', IIIb(i)' или IIIb(ii)' высвобожденное D-O*N имеет рКа между приблизительно 10 и приблизительно 19 для его гидроксильной функциональной группы. В других вариантах осуществления III(i)', III(ii)', IIIa(i)', IIIa(ii)', IIIb(i)' или IIIb(ii)' высвобожденное D-O*N имеет рКа между приблизительно 12 и приблизительно 19 или между 15 и

приблизительно 19 для его гидроксильной функциональной группы.

[117] В некоторых вариантах осуществления формулы III(i)' или III(ii)' один из R, R¹ и R² представляет собой основное звено или звено PEG и другие как определено. В других предпочтительных вариантах осуществления формулы III(i)' или III(ii)' R представляет собой основное звено или звено PEG и R¹ и R² как определено.

[118] В некоторых вариантах осуществления формулы IIIa(i)' и IIIa(ii)' R и R¹ представляют собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил или необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил (более предпочтительно водород, необязательно замещенный C₁-C₄ алкил или необязательно замещенный фенил, наиболее предпочтительно водород или необязательно замещенный C₁-C₄ алкил). В некоторых вариантах осуществления формулы IIIb(i)' и IIIb(ii)' R² предпочтительно представляет собой водород и нижний индекс s равен 0, 1 или 2 (предпочтительно 1 или 2).

[119] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления формулы IIIa(i)' или IIIa(ii)' R представляет собой основное звено или звено PEG и R¹ представляет собой водород или незамещенный C₁-C₄ алкил или R представляет собой водород или незамещенный C₁-C₄ алкил и R² представляет собой основное звено или звено PEG.

[120] В других предпочтительных вариантах осуществления формулы IIIa(i)' или IIIa(ii)' R и R¹ вместе с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, определяют фрагмент пирролодимила или пиперидинила.

[121] В других предпочтительных вариантах осуществления формулы IIIa(i)' или IIIa(ii)' R представляет собой водород или незамещенный C₁-C₄ алкил и R¹ представляет собой водород. В других предпочтительных вариантах осуществления формулы IIIa(i)' или IIIa(ii)' R представляет собой основное звено или звено PEG и R¹ представляет собой водород.

[122] Гидроксильная функциональная группа, упоминаемая в настоящем документе, может представлять собой гидроксильную функциональную группу ароматического спирта или алифатического спирта. Алифатический спирт может представлять собой первичный,

вторичный или третичный алифатический спирт. Предпочтительно спирт представляет собой алифатический спирт, более предпочтительно первичный или вторичный алифатический спирт.

[123] В некоторых предпочтительных конъюгатах лекарственного средства и лиганда, имеющих или состоящих из формул I, CP, II, Ia, CPa, IIa, III(i), III(ii), IIIa(i) или IIIa(ii), R¹ представляет собой водород.

[124] Во многих из вариантов осуществления, описанных в настоящем документе, R может представлять собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, включая заместители, определяющие основное звено или звено PEG, необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил, или необязательно замещенный C-связанный C₃-C₈ гетероарил. R не обязательно должен быть замещенным, но когда замещен, R предпочтительно замещают с тем, чтобы определять основное звено или звено PEG. В настоящем документе рассмотрены те варианты осуществления, в которых R представляет собой необязательно замещенный C₁₋₆ алкил, более предпочтительно необязательно замещенный C₁₋₄ алкил. Алкильная группа может быть незамещенной или замещенной. В некоторых аспектах, когда замещено, предпочтительно замещают с использованием основной функциональной аминогруппы для того, чтобы определять основное звено. В других аспектах, когда замещена, алкильную группу предпочтительно замещают с использованием последовательности этилен-окси групп, чтобы определять звено PEG, Репрезентативные основные функциональные аминогруппы в основном звене включают амины и C-связанные или N-связанные азотосодержащие 3-, 4-, 5- или 6-членные гетероциклы, которые могут быть необязательно замещены. Репрезентативные амины включают -N(R^{op})₂ и -N(R^{op}), в которых R^{3a} и R^{4a} независимо выбирают из водорода, -C₁ C₂₀ алкила, -C₆-C₁₄ арила, или -C₃-C₈ гетероцикла, предпочтительно H или C₁₋₆ алкила, более предпочтительно водорода или метила. Авторы настоящего изобретения к удивлению обнаружили, что добавление основной функциональной группы на R алкиловый заместитель (т. е., R представляет собой основное звено) может придавать дополнительную устойчивость получаемым LDC.

[125] В конъюгатах лекарственного средства и лиганда,

имеющих или состоящих из формул I, Ia, CP, CPa, II, IIa, III(i), III(ii), IIIa(i), IIIa(ii), I', Ia', CP', CPa', II', IIa', III(i)', III(ii)', IIIa(i)' или IIIa(ii)', R может представлять собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил или необязательно замещенный C-связанный C₃-C₈ гетероарил. Также рассмотрены те конъюгаты лекарственного средства и лиганда, где R как определено в настоящем документе, но за исключением необязательно замещенного C₆₋₁₄ арила, за исключением необязательно замещенного C-связанного гетероарила или за исключением необязательно замещенного C₆₋₁₄ арила и необязательно замещенного C-связанного гетероарила. Также рассмотрены те конъюгаты лекарственного средства и лиганда, где R как определено в настоящем документе, но за исключением необязательно замещенного фенила. Также рассмотрены те конъюгаты лекарственного средства и лиганда, где R как определено в настоящем документе, но за исключением электроноакцепторных групп (т. е., R представляет собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил или необязательно замещенный C-связанный C₃-C₈ гетероарил, при условии, что R не является электроноакцепторной группой). Также рассмотрены те конъюгаты лекарственного средства и лиганда, где R как определено в настоящем документе, но необязательный заместитель R не является электроноакцепторной группой. Также рассмотрены те конъюгаты лекарственного средства и лиганда, где R не замещен. Также рассмотрены те конъюгаты лекарственного средства и лиганда, где R и R¹ вместе с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, содержат фрагмент пирролодимила или пиперидимила. Эти конъюгаты лекарственного средства и лиганда, в которых R как определено в этом параграфе, могут входить в комбинации с какими-либо из различных возможностей для других заместительных групп на конъюгатах лекарственного средства и лиганда (например, L, Z, B, A, X, R¹, R², T*, D и нижние индексы s, p и t).

[126] В конъюгатах лекарственного средства и лиганда,

имеющих или состоящих из формул I, Ib, CP, CPb, II, IIb, III(i), III(ii), IIIb(i), IIIb(ii), I', Ib', CP', CPb', II', IIb', III(i)', III(ii)', IIIb(i)' и IIIb(ii)', R² может представлять собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил или необязательно замещенный C-связанный C₃-C₈ гетероарил. Также рассмотрены те конъюгаты лекарственного средства и лиганда, где R² представляет собой просто водород. Те конъюгаты лекарственного средства и лиганда, в которых R² представляет собой просто водород, могут входить в комбинации с какими-либо из различных возможностей для других заместительных групп на конъюгатах лекарственного средства и лиганда (например, L, Z, B, A, X, R, R¹, T*, D и нижние индексы s, p и t).

[127] Конъюгаты лекарственного средства и лиганда, имеющие формулу II, IIa, IIb, II', IIa' IIb', III(i), III(ii), IIIa(i), IIIa(ii), IIIb(i), IIIb(ii), III(i)', III(ii)', IIIa(i)', IIIa(ii)', IIIb(i)' или IIIb(ii)', включают те, в которых:

1) t находится в диапазоне от 1 до 4, p представляет собой целое число или число в диапазоне от 1 до 16, и имеют место от 1 до 36 звеньев лекарственного средства, прикрепленных к каждому звену лиганда,

2) t равно 1 и звено ветвления, B, отсутствует,

3) t равно 2 до 4 и звено ветвления, B, присутствует,

4) t равно 2 и звено ветвления, B, присутствует,

5) p представляет собой целое число или число в диапазоне от 1 до 12 или от 2 до 12, и, в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-4 этого абзаца, p представляет собой целое число или число в диапазоне от 1 до 12 или от 2 до 12,

6) p представляет собой целое число или число в диапазоне от 1 до 10 или от 2 до 10 и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-4 этого абзаца, p представляет собой целое число или число в диапазоне от 1 до 10 или от 2 до 10,

7) p представляет собой целое число или число в диапазоне от 1 до 8 или от 2 до 10, и в любом одном из вариантов

осуществления, изложенных в 1-4 этого абзаца, p представляет собой целое число или число в диапазоне от 1 до 8 или от 2 до 10,

и LDC, имеющие формулу II, IIa, II', IIa', III(i), III(ii), IIIa(i), IIIa(ii), III(i)', III(ii)', IIIa(i)' или IIIa(ii)', дополнительно включают те, в которых

8) R представляет собой водород, необязательно замещенный C_{1-6} алкил, необязательно замещенный C_{6-14} арил или необязательно замещенный C-связанный C_{3-8} гетероарил, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-7 этого абзаца, R представляет собой водород, необязательно замещенный C_{1-6} алкил, необязательно замещенный C_{6-14} арил или необязательно замещенный C-связанный C_{3-8} гетероарил

9) R представляет собой водород, необязательно замещенный C_{1-6} алкил или необязательно замещенный C_{6-14} арил, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-7 этого абзаца, R представляет собой водород, необязательно замещенный C_{1-6} алкил или необязательно замещенный C_{6-14} арил,

10) R представляет собой водород, метил, этил или пропил, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-7 этого абзаца, R представляет собой водород, метил, этил или пропил,

11) R представляет собой водород, метил, этил, пропил, изопропил, бутил или изобутил, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-7 этого абзаца, R представляет собой водород, метил, этил, пропил, изопропил, бутил или изобутил,

12) R представляет собой водород или метил, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-7 этого абзаца, R представляет собой водород или метил,

13) R как определено в настоящем документе, но за исключением электроноакцепторных групп, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-7 этого абзаца, R исключает электроноакцепторные группы,

14) R как определено в настоящем документе, но необязательные заместители, которые могут присутствовать на R,

исключают электроноакцепторные группы, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-7 этого абзаца, необязательные заместители, которые могут присутствовать на R, исключают электроноакцепторные группы,

15) R представляет собой C₁₋₄ алкил или C₁₋₆ алкил, необязательно замещенный амином, или C-связанный или N-связанный азотосодержащий 3-, 4-, 5- или 6-членный гетероцикл, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-7 этого абзаца, R представляет собой C₁₋₄ алкил или C₁₋₆ алкил, необязательно замещенный амином, или C-связанный или N-связанный азотосодержащий 3-, 4-, 5- или 6-членный гетероцикл,

16) R представляет собой C₁₋₄ алкил или C₁₋₆ алкил, необязательно замещенный с использованием -N(R^{3a})(R^{4a}), в котором R^{3a} и R^{4a} независимо выбирают из водорода, -C₁-C₂₀ алкила, -C₆-C₁₄ арила или -C₃-C₈ гетероцикла, предпочтительно H или C₁₋₆ алкила, более предпочтительно водорода или метила, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-7 этого абзаца, R представляет собой C₁₋₄ алкил или C₁₋₆ алкил, необязательно замещенный с использованием -N(R^{3a})(R^{4a}), в котором R^{3a} и R^{4a} независимо выбирают из водорода, -C₁-C₂₀ алкила, -C₆-C₁₄ арила или -C₃-C₈ гетероцикла, предпочтительно H или C₁₋₆ алкила, более предпочтительно водорода или метила,

17) R представляет собой C₁₋₄ алкил или C₁₋₆ алкил, необязательно замещенный основным звеном, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-7 этого абзаца, R представляет собой C₁₋₄ алкил или C₁₋₆ алкил, необязательно замещенный основным звеном,

18) R представляет собой необязательно замещенный C₁-C₄ алкил, в котором необязательно замещенный C₁-C₄ алкил представляет собой необязательно замещенный аминоалкил (предпочтительно диметиламиноалкил; более предпочтительно диметиламиноэтил), и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-7 этого абзаца, R представляет собой необязательно замещенный C₁-C₄ алкил, в котором необязательно замещенный C₁-C₄ алкил представляет собой необязательно замещенный аминоалкил (предпочтительно диметиламиноалкил; более

предпочтительно диметиламиноэтил),

19) R представляет собой необязательно замещенный C₁-C₄ алкил, в котором необязательно замещенный C₁-C₄ алкил представляет собой незамещенный аминоалкил (предпочтительно незамещенный диметиламиноалкил; более предпочтительно диметиламиноэтил), и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-7 этого абзаца, R представляет собой необязательно замещенный C₁-C₄ алкил, в котором необязательно замещенный C₁-C₄ алкил представляет собой незамещенный аминоалкил (предпочтительно незамещенный диметиламиноалкил; более предпочтительно диметиламиноэтил),

20) алкил в R насыщен и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-17 этого абзаца, алкил в R насыщен,

21) R представляет собой -CH₂CH₂N(R^{3a})(R^{4a}), в котором R^{3a} и R^{4a} независимо выбирают из водорода или метила, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-7 этого абзаца, R представляет собой -CH₂CH₂N(R^{3a})(R^{4a}), в котором R^{3a} и R^{4a} независимо выбирают из водорода или метила,

22) R¹ представляет собой водород, метил, этил или пропил, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-21 этого абзаца, R¹ представляет собой водород, метил, этил или пропил,

23) R¹ представляет собой водород или метил, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-21 этого абзаца, R¹ представляет собой водород или метил,

24) R¹ представляет собой водород, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-21 этого абзаца, R¹ представляет собой водород,

25) R¹ представляет собой C₁₋₄ алкил или C₁₋₆ алкил, необязательно замещенный амином, или C-связанный или N-связанный азотосодержащий 3-, 4-, 5- или 6-членный гетероцикл, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-21 этого абзаца, R¹ представляет собой C₁₋₄ алкил или C₁₋₆ алкил, необязательно замещенный амином, или C-связанный или N-связанный азотосодержащий 3-, 4-, 5- или 6-членный гетероцикл,

26) R^1 представляет собой C_{1-4} алкил или C_{1-6} алкил, необязательно замещенный с использованием $-N(R^{3a})(R^{4a})$, в котором R^{3a} и R^{4a} независимо выбирают из водорода, $-C_1-C_{20}$ алкила, $-C_6-C_{14}$ арила или $-C_3-C_8$ гетероцикла, предпочтительно H или C_{1-6} алкила, более предпочтительно водорода или метила, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-21 этого абзаца, R^1 представляет собой C_{1-4} алкил или C_{1-6} алкил, необязательно замещенный с использованием $-N(R^{3a})(R^{4a})$, в котором R^{3a} и R^{4a} независимо выбирают из водорода, $-C_1-C_{20}$ алкила, $-C_6-C_{14}$ арила или $-C_3-C_8$ гетероцикла, предпочтительно H или C_{1-6} алкила, более предпочтительно водорода или метила,

27) R^1 представляет собой C_{1-4} алкил или C_{1-6} алкил, необязательно замещенный основным звеном, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-21 этого абзаца, R^1 представляет собой C_{1-4} алкил или C_{1-6} алкил, необязательно замещенный основным звеном,

28) R^1 представляет собой необязательно замещенный C_1-C_4 алкил, в котором необязательно замещенный C_1-C_4 алкил представляет собой необязательно замещенный аминоалкил (предпочтительно диметиламиноалкил; более предпочтительно диметиламиноэтил), и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-21 этого абзаца, R^1 представляет собой необязательно замещенный C_1-C_4 алкил, в котором необязательно замещенный C_1-C_4 алкил представляет собой необязательно замещенный аминоалкил (предпочтительно диметиламиноалкил; более предпочтительно диметиламиноэтил),

29) R^1 представляет собой необязательно замещенный C_1-C_4 алкил, в котором необязательно замещенный C_1-C_4 алкил представляет собой незамещенный аминоалкил (предпочтительно незамещенный диметиламиноалкил; более предпочтительно диметиламиноэтил), и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-21 этого абзаца, R^1 представляет собой необязательно замещенный C_1-C_4 алкил, в котором необязательно замещенный C_1-C_4 алкил представляет собой незамещенный аминоалкил (предпочтительно незамещенный диметиламиноалкил; более предпочтительно диметиламиноэтил),

30) алкил в R^1 насыщен, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-21 этого абзаца, алкил в R^1 насыщен,

31) R^1 представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{R}^{3a})(\text{R}^{4a})$, в котором R^{3a} и R^{4a} независимо выбирают из водорода или метила, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-21 этого абзаца, R^1 представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{R}^{3a})(\text{R}^{4a})$, в котором R^{3a} и R^{4a} независимо выбирают из водорода или метила,

32) один из R и R^1 представляет собой звено PEG или основное звено и другой представляет собой водород или незамещенный C_{1-4} алкил, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-7 этого абзаца, один из R и R^1 представляет собой звено PEG или основное звено и другой представляет собой водород или незамещенный C_{1-4} алкил,

33) R^2 представляет собой водород, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-32 этого абзаца, R^2 представляет собой водород

и LDC, имеющие формулу II, IIa, IIb, II', IIa' IIb', III(i), III(ii), IIIa(i), IIIa(ii), IIIb(i), IIIb(ii),, III(i)', III(ii)', IIIa(i)', IIIa(ii)', IIIb(i)' или IIIb(ii)', дополнительно включают те, в которых

34) А присутствует, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-33 этого абзаца А присутствует,

35) А отсутствует, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-33 этого абзаца, А отсутствует,

36) звено лиганда представляет собой антитело, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-35 этого абзаца, звено лиганда представляет собой антитело,

37) W состоит из от 1 до не больше чем 12 аминокислот, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-36 этого абзаца, W состоит из от 1 до не больше чем 12 аминокислотных остатков,

38) W представляет собой сахар или углевод с гликозидной связью, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-36 этого абзаца, W представляет собой сахар или углевод с гликозидной связью,

39) активация активируемого саморасщепляющегося фрагмента (X) опосредована ферментативным расщеплением внутри W или ферментативным расщеплением пептидной связи между W и саморасщепляющимся спейсерным звеном (Y), и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-36 этого абзаца, активация активируемого саморасщепляющегося фрагмента опосредована ферментативным расщеплением внутри W или ферментативным расщеплением пептидной связи между W и саморасщепляющимся спейсерным звеном (Y),

40) активация активируемого саморасщепляющегося фрагмента опосредована восстановлением дисульфидной связи (т. е., W состоит из восстанавливаемой дисульфидной функциональной группы, содержащей заместитель с атомом серы из саморасщепляющегося спейсерного звена), и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-36 этого абзаца, активация активируемого саморасщепляющегося фрагмента опосредована восстановлением дисульфидной связи (т. е., W состоит из восстанавливаемой дисульфидной функциональной группы, содержащей заместитель с атомом серы из саморасщепляющегося спейсерного звена),

41) активационное звено представляет собой сахар или углевод с гликозидной связью, и прикрепление звена лиганда внутри его LDC происходит через саморасщепляющееся спейсерное звено (Y), и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-36 этого абзаца, активационное звено представляет собой сахар или углевод с гликозидной связью, и прикрепление звена лиганда внутри его LDC происходит через Y,

42) активационное звено состоит из от 1 до не больше чем 12 аминокислотных остатков, и прикрепление звена лиганда происходит через активационное звено, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-36 этого абзаца, активационное звено состоит из от 1 до не больше чем 12 аминокислотных остатков, и прикрепление звена лиганда происходит через активационное звено,

43) T* или O* представляет собой гетероатом кислорода из звена метиленкарбамата, ковалентно прикрепленный к звену

лекарственного средства, соответствующему гетероатому из функциональной группы содержащего алифатический спирт лекарственного средства, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-42 этого абзаца, T* или O* представляет собой гетероатом кислорода из звена метиленкарбамата, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства, соответствующего гетероатому из функциональной группы содержащего алифатический спирт лекарственного средства,

44) T* или O* представляет собой гетероатом кислорода из звена метиленкарбамата, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства, соответствующего гетероатому из функциональной группы содержащего ароматический спирт лекарственного средства, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-42 этого абзаца, T* или O* представляет собой гетероатом кислорода из звена метиленкарбамата, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства, соответствующего гетероатому из функциональной группы содержащего ароматический спирт лекарственного средства,

45) T* или O* представляет собой гетероатом кислорода из звена метиленкарбамата, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства, соответствующего гетероатому из функциональной группы содержащего ароматический спирт лекарственного средства, в котором ароматический спирт не является фенолоспиртом, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-42 этого абзаца, T* или O* представляет собой гетероатом кислорода из звена метиленкарбамата, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства, соответствующего гетероатому из функциональной группы содержащего ароматический спирт лекарственного средства, в котором ароматический спирт не является фенолоспиртом,

46) D представляет собой звено лекарственного средства, ковалентно прикрепленное к звену метиленкарбамата, имеющему гетероатом кислорода в виде T* или O*, соответствующего

таковому из гидроксильной функциональной группы лекарственного средства, в котором гидроксильная функциональная группа представляет собой ароматическую гидроксильную функциональную группу, и R представляет собой необязательно замещенный насыщенный C₁-C₆ алкил, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-7 этого абзаца, D представляет собой звено лекарственного средства, ковалентно прикрепленное к звену метиленкарбамата, имеющему гетероатом кислорода в виде T* или O*, соответствующего такому из гидроксильной функциональной группы лекарственного средства, в котором гидроксильная функциональная группа представляет собой ароматическую гидроксильную функциональную группу, и R представляет собой необязательно замещенный C₁-C₆ насыщенный алкил,

47) D представляет собой звено лекарственного средства, ковалентно прикрепленное к звену метиленкарбамата, имеющему гетероатом кислорода в виде T* или O*, соответствующего такому из гидроксильной функциональной группы лекарственного средства, в котором гидроксильная функциональная группа представляет собой ароматическую гидроксильную функциональную группу, и R представляет собой необязательно замещенный C₁-C₄ алкил, в котором необязательно замещенный C₁-C₄ алкил представляет собой необязательно замещенный аминоалкил (предпочтительно диметиламиноалкил; более предпочтительно диметиламиноэтил), и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-7 этого абзаца, D представляет собой звено лекарственного средства, ковалентно прикрепленное к звену метиленкарбамата, имеющему гетероатом кислорода в виде T* или O*, соответствующего такому из гидроксильной функциональной группы лекарственного средства, и R представляет собой необязательно замещенный C₁-C₄ алкил, в котором необязательно замещенный C₁-C₄ алкил представляет собой необязательно замещенный аминоалкил (предпочтительно диметиламиноалкил; более предпочтительно диметиламиноэтил),

48) D представляет собой звено лекарственного средства, ковалентно прикрепленное к звену метиленкарбамата, имеющему

гетероатом кислорода в виде T^* или O^* , соответствующего таковому из гидроксильной функциональной группы лекарственного средства, в котором гидроксильная функциональная группа представляет собой алифатическую гидроксильную функциональную группу, и R представляет собой необязательно замещенный насыщенный C_1-C_6 алкил, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-7 этого абзаца, D представляет собой звено лекарственного средства, ковалентно прикрепленное к звену метиленкарбамата, имеющему гетероатом кислорода в виде T^* или O^* , соответствующего таковому из гидроксильной функциональной группы, в котором гидроксильная функциональная группа представляет собой алифатическую гидроксильную функциональную группу лекарственного средства, и R представляет собой необязательно замещенный насыщенный C_1-C_6 алкил,

49) D представляет собой звено лекарственного средства, ковалентно прикрепленное к звену метиленкарбамата, имеющему гетероатом кислорода в виде T^* или O^* , соответствующего таковому из гидроксильной функциональной группы, в котором гидроксильная функциональная группа представляет собой алифатическую гидроксильную функциональную группу лекарственного средства, и R представляет собой необязательно замещенный C_1-C_4 алкил, в котором необязательно замещенный C_1-C_4 алкил представляет собой необязательно замещенный аминокалкил (предпочтительно диметиламиноалкил; более предпочтительно диметиламиноэтил), и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-7 этого абзаца, D представляет собой звено лекарственного средства, ковалентно прикрепленное к звену метиленкарбамата, имеющему гетероатом кислорода в виде T^* или O^* , соответствующего таковому из гидроксильной функциональной группы лекарственного средства, и R представляет собой необязательно замещенный C_1-C_4 алкил, в котором необязательно замещенный C_1-C_4 алкил представляет собой необязательно замещенный аминокалкил (предпочтительно диметиламиноалкил; более предпочтительно диметиламиноэтил),

50) T^* представляет собой гетероатом кислорода из звена МАК, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства,

соответствующий гетероатому из гидроксильной функциональной группы содержащего алифатический или ароматический спирт лекарственного средства, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-42 этого абзаца, Т* представляет собой гетероатом кислорода из звена МАК, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства, соответствующий гетероатому из гидроксильной функциональной группы содержащего алифатический или ароматический спирт лекарственного средства, и в котором саморасщепляющееся СР сборочное звено, состоящее из звена МАК, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства, способно к высвобождению содержащего алифатический или ароматический спирт лекарственного средства,

51) Т* представляет собой гетероатом серы из звена метиленкарбамата, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства, соответствующий гетероатому из сульфгидрильной функциональной группы тиолосодержащего лекарственного средства, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-42 этого абзаца, Т* представляет собой гетероатом серы из звена метиленкарбамата, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства, соответствующий гетероатому из сульфгидрильной функциональной группы тиолосодержащего лекарственного средства, и в котором саморасщепляющееся СР сборочное звено, состоящее из звена метиленкарбамата, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства, способно к высвобождению тиолосодержащего лекарственного средства,

52) Т* представляет собой необязательно замещенный гетероатом азота из звена метиленкарбамата, ковалентно прикрепленный к звену лекарственного средства, соответствующий гетероатому из функциональной амидо- или аминокруппы из амино- или карбоксамидосодержащего лекарственного средства, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-42 этого абзаца, Т* представляет собой гетероатом азота из звена метиленкарбамата, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства, соответствующий гетероатому из функциональной амино- или амидогруппы из амино- или

карбоксамидосодержащего лекарственного средства, и в котором саморасщепляющееся СР сборочное звено, состоящее из звена метиленкарбамата, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства, способно к высвобождению и амидо- или аминосодержащего лекарственного средства

53) Т* представляет собой необязательно замещенный гетероатом азота, который ковалентно прикрепляет звено метиленкарбамата к звену лекарственного средства и соответствует гетероатому из первичной или вторичной функциональной аминогруппы лекарственного средства, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-42 этого абзаца, Т* представляет собой необязательно замещенный гетероатом азота, который ковалентно прикрепляет звено метиленкарбамата к звену лекарственного средства и соответствует гетероатому из первичной или вторичной функциональной аминогруппы лекарственного средства, и в котором саморасщепляющееся СР сборочное звено, состоящее из звена метиленкарбамата, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства, способна к высвобождению содержащего первичный или вторичный амин лекарственного средства,

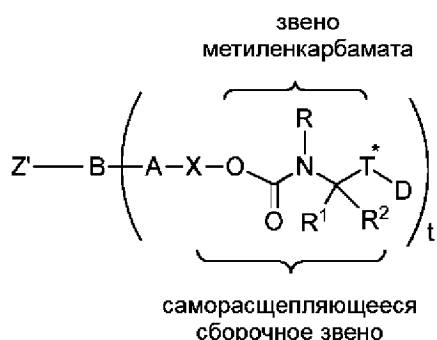
54) Т* представляет собой необязательно замещенный гетероатом азота, который ковалентно прикрепляет звено метиленкарбамата к звену лекарственного средства и соответствует гетероатому из первичной или вторичной функциональной амидогруппы лекарственного средства, и в любом одном из вариантов осуществления, изложенных в 1-42 этого абзаца, Т* представляет собой необязательно замещенный гетероатом азота, который ковалентно прикрепляет звено метиленкарбамата к звену лекарственного средства и соответствует гетероатому лекарственного средства, которое прежде имеет первичную или вторичную функциональную амидогруппу, и в котором СР сборочное звено, состоящее из звена метиленкарбамата, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства, способно к высвобождению содержащего первичный или вторичный амид свободного лекарственного средства.

55) Т* или О* представляет собой гетероатом кислорода из звена метиленкарбамата, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства, соответствующего гетероатому из функциональной группы лекарственного средства эверолимус, такролимус или сиролимус.

Соединения лекарственного средства и линкера

[128] В некоторых аспектах, при разработке конъюгатов лекарственного средства и лиганда, желательно синтезировать полное лекарственное средство-линкер перед конъюгацией с направленным лигандом. В таких вариантах осуществления соединения лекарственного средства и линкера действуют в качестве промежуточных соединений. Звено носителя в соединении лекарственного средства и линкера еще ковалентно не прикреплено к звену лиганда и, следовательно, имеет функциональную группу для конъюгации с направленным лигандом (т. е., представляет собой предшественник звена носителя, Z'). В одном из аспектов, соединение лекарственного средства и линкера содержит звено лиганда, звено лекарственного средства и линкерное звено, содержащее саморасщепляющееся сборочное звено, через которое звено лиганда соединяют со звеном лекарственного средства. Линкерное звено содержит, в дополнение к СР сборочному звену, предшественник звена носителя (Z'), содержащий функциональную группу для конъюгации со звеном лиганда и способный (непосредственно или опосредованно) соединять саморасщепляющееся сборочное звено со звеном лиганда. Звено ветвления типично присутствует в вариантах осуществления, когда желательно, чтобы больше чем одно лекарственное средство подлежало конъюгации с каждым участком прикрепления звена лиганда. Соединительное звено типично присутствует, когда желательно увеличивать расстояние между звеном носителя и саморасщепляющимся сборочным звеном. В одном из аспектов, соединение лекарственного средства и линкера имеет звено метиленкарбамата, ковалентно прикрепленное к звену лекарственного средства с использованием структуры формулы I, Ia, Ib, СР, СРа, СРb, I', Ia', Ib', СР', СРа' или СРb' как определено предварительно в настоящем документе.

[129] В одном из аспектов, соединение лекарственного средства и линкера состоит из звена лекарственного средства и линкерного звена, в котором это звено состоит из активируемого саморасщепляющегося фрагмента (X) саморасщепляющегося сборочного звена, непосредственно прикрепленного к предшественнику звена носителя (Z') или опосредованно к Z' через прикрепление к промежуточному компоненту (компонентам) линкерного звена соединения лекарственного средства и линкера (т. е., А и/или В), в котором Z' состоит из функциональной группы, способной формировать ковалентную связь с направленным лигандом и звеном лекарственного средства, которое непосредственно прикрепляют к звену метиленкарбамата СР сборочного звена. В некоторых вариантах осуществления имеют место от 1 до 4 СР сборочных звеньев в каждом линкерном звене или фрагменте лекарственное средство-линкер в каждом участке прикрепления к звену лиганда. В вариантах осуществления, в которых имеют место два или более СР сборочных звена в линкерном звене соединения лекарственного средства и линкера из-за ветвления в линкерном звене, звено ветвления, В, (или его предшественник В', когда звено ветвления непосредственно прикреплено к звену лиганда) присутствует для того, чтобы сделать возможным такое ветвление. В этих вариантах осуществления образцовое соединение лекарственного средства и линкера представлено далее формулой V:



или ее фармацевтически приемлемой солью; в которой

D представляет собой звено лекарственного средства, которое имеет гидроксильную, тиоловую, аминную или амидную функциональную группу, которая встроена в указанное звено

метиленкарбамата;

T* представляет собой гетероатом кислорода, серы или необязательно замещенного азота из указанной функциональной группы, который становится встроенным в указанное звено метиленкарбамата;

R, R¹ и R² независимо представляют собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил или необязательно замещенный C-связанный C₃-C₈ гетероарил, или

оба R и R¹ вместе с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, содержат фрагмент азетидинила, пирролодинила, пиперидинила или гомопиперидинила (предпочтительно фрагмент пирролодинила или пиперидинила) и R² представляет собой водород;

X представляет собой активируемый саморасщепляющийся фрагмент;

Z' представляет собой предшественник звена носителя для звена носителя (Z) и состоит из функциональной группы, которая обеспечивает ковалентное прикрепление звена лиганда к Z;

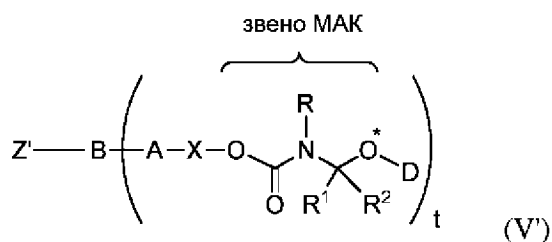
V представляет собой необязательное звено ветвления, которое присутствует, когда t равно 2, 3 или 4, и отсутствует, когда t равно 1;

A представляет собой необязательное соединительное звено;
и

нижний индекс t находится в диапазоне от 1 до 4.

[130] В других вариантах осуществления саморасщепляющееся сборочное звено формулы CP в соединении лекарственного средства и линкера формулы V заменяют на таковое формулы CPa или CPb для того, чтобы определять соединения лекарственного средства и линкера формул Va и Vb, соответственно. Предпочтительные комбинации и подкомбинации R, R, R¹ и R² в формуле V, Va или Vb представляют собой то, что приведено для формулы II, IIa или IIb.

[131] В некоторых аспектах, соединение лекарственного средства и линкера имеет следующую структуру формулы V' :



или ее фармацевтически приемлемой соли; в которой

D представляет собой звено лекарственного средства, которое имеет гидроксильную функциональную группу перед его встраиванием в указанное звено метиленалкокси (арилокси) карбамата (звено МАК), атом кислорода из которого обозначают как O*;

R, R¹ и R² независимо представляют собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил или необязательно замещенный C-связанный C₃-C₈ гетероарил, или

оба R и R¹ вместе с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, содержат фрагмент азетидинила, пирролодинила, пиперидинила или гомопиперидинила (предпочтительно фрагмент пирролодинила или пиперидинила) и R² представляет собой водород;

X представляет собой активируемый саморасщепляющийся фрагмент;

Z' представляет собой предшественник звена носителя для звена носителя (Z) и состоит из функциональной группы, которая обеспечивает ковалентное прикрепление звена лиганда к Z;

B представляет собой необязательное звено ветвления, которое присутствует, когда t равно 2, 3 или 4, и отсутствует, когда t равно 1;

A представляет собой необязательное соединительное звено; и

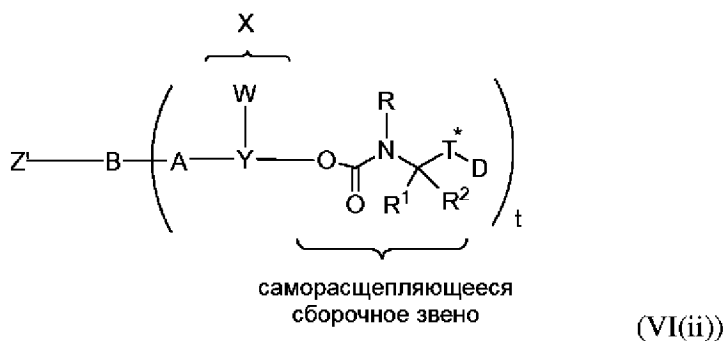
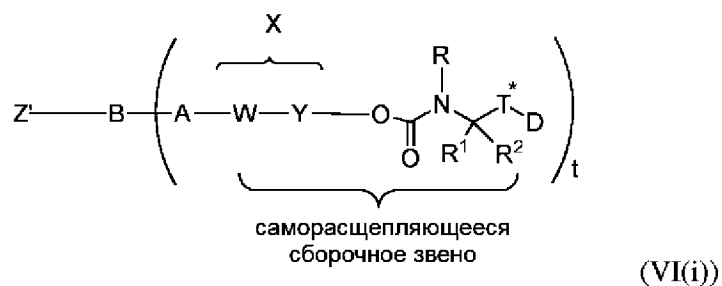
нижний индекс t находится в диапазоне от 1 до 4.

[132] В других вариантах осуществления саморасщепляющееся сборочное звено формулы CP' в соединении лекарственного средства и линкера формулы V' заменяют на таковое формулы CPa' или CPb' для того, чтобы определять соединения лекарственного средства и линкера формулы Va' и Vb', соответственно.

Предпочтительные комбинации и подкомбинации R , R , R^1 и R^2 в формуле V' , Va' или Vb' представляют собой то, что приведено для формулы II' , IIa' или IIb' .

[133] Гидроксильная функциональная группа, упомянутая в отношении предоставления звена лекарственного средства соединения лекарственного средства и линкера формулы V' , Va' или Vb' , представляет собой гидроксильную функциональную группу ароматического спирта или алифатического спирта. Алифатический спирт может представлять собой первичный, вторичный или третичный алифатический спирт. Предпочтительно, спирт представляет собой алифатический спирт, более предпочтительно, первичный или вторичный алифатический спирт.

[134] Саморасщепляющееся сборочное звено состоит из активируемого саморасщепляющегося фрагмента (X) и звена метиленкарбамата. В некоторых вариантах осуществления этот активируемый фрагмент состоит из активационного звена (W) и саморасщепляющегося спейсерного звена (Y). Активационное звено инициирует последовательность реакций саморасщепления внутри спейсерного звена, результатом чего является высвобождение свободного лекарственного средства из соединения лекарственного средства и линкера. Или активационное звено или саморасщепляющееся спейсерное звено может формировать участок ковалентного прикрепления к остальной части соединения лекарственного средства и линкера (т. е., к A, B или Z', в зависимости от присутствия или отсутствия A и/или B). В некоторых вариантах осуществления соединение лекарственного средства и линкера состоит из саморасщепляющегося сборочного звена, прикрепленного к звену лекарственного средства, и представлено формулой VI(i) или VI(ii):



или ее фармацевтически приемлемой солью; в которой
 А представляет собой необязательное соединительное звено;
 W представляет собой активационное звено;
 Y представляет собой саморасщепляющееся спейсерное звено;
 Z' представляет собой предшественник звена носителя для
 звена носителя (Z) и состоит из функциональной группы, которая
 обеспечивает ковалентное прикрепление звена лиганда к Z;

B представляет собой необязательное звено ветвления,
 которое присутствует, когда t равно 2, 3 или 4, и отсутствует,
 когда t равно 1;

R, R¹ и R² независимо представляют собой водород,
 необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, необязательно замещенный
 C₆₋₁₄ арил или необязательно замещенный C-связанный C₃-C₈
 гетероарил или оба R и R¹ вместе с атомами азота и углерода, к
 которым они присоединены, содержат фрагмент азетидинила,
 пирролодинила, пиперидинила или гомопиперидинила
 (предпочтительно фрагмент пирролодинила или пиперидинила) и R²
 представляет собой водород;

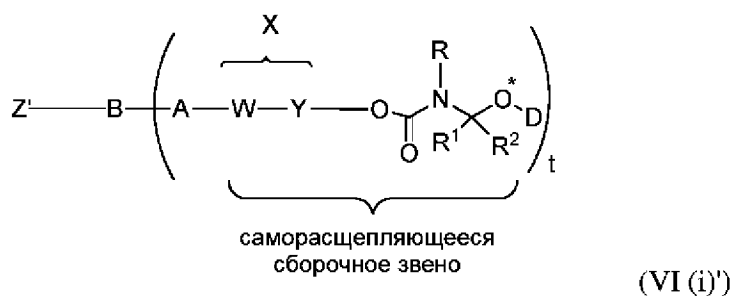
D представляет собой звено лекарственного средства,
 которое имеет гидроксильную, тиоловую, аминную или амидную
 функциональную группу перед его встраиванием в указанное звено
 метиленалкоксикарбамата;

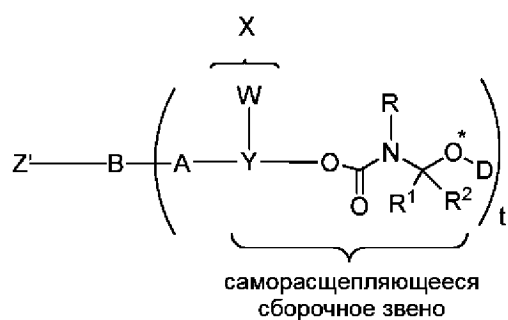
T* представляет собой гетероатом кислорода, серы или необязательно замещенного азота из указанной функциональной группы, который становится встроенным в указанное звено метиленкарбамата; и

нижний индекс t находится в диапазоне от 1 до 4.

[135] Формулы VI(i) и VI(ii) имеют звено метиленкарбамата из формулы Ia. В других вариантах осуществления соединения лекарственного средства и линкера эту структуру звена метиленкарбамата заменяют таковой формулы Ia для того, чтобы определять соединения лекарственного средства и линкера формулы VI(a)(i) и VIa(ii), соответственно. В других вариантах осуществления соединения лекарственного средства и линкера эту структуру звена метиленкарбамата заменяют на таковую формулы Ib для того, чтобы определять соединения лекарственного средства и линкера формулы VI(b)(i) и VIb(ii), соответственно. Предпочтительные комбинации и подкомбинации R, R, R¹ и R² в формуле VI(i), VI(ii), VIa(i), VIa(ii), VIb(i) или VIb(ii) представляют собой то, что приведено для формулы III(i), III(ii), IIIa(i), IIIa(ii), IIIb(i) или IIIb(ii).

[136] В некоторых вариантах осуществления соединение лекарственного средства и линкера состоит из саморасщепляющегося сборочного звена, прикрепленного к звену лекарственного средства, и представлено формулой VI(i)' или VI(ii)':





(VI (ii)')

или ее фармацевтически приемлемой солью; в которой
 А представляет собой необязательное соединительное звено;
 W представляет собой активационное звено;
 Y представляет собой саморасщепляющееся спейсерное звено;
 Z' представляет собой предшественник звена носителя (Z) и состоит из функциональной группы, которая обеспечивает ковалентное прикрепление звена лиганда к Z;

B представляет собой необязательное звено ветвления, которое присутствует, когда t равно от 2 до 4 и отсутствует, когда t равно 1;

R, R¹ и R² независимо представляют собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил или необязательно замещенный C-связанный C₃-C₈ гетероарил, или оба R и R¹ вместе с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, содержат фрагмент азетидинила, пирролодинила, пиперидинила или гомопиперидинила (предпочтительно фрагмент пирролодинила или пиперидинила) и R² представляет собой водород;

D представляет собой звено лекарственного средства, которое имеет гидроксильную функциональную группу перед его встраиванием в указанное звено метилалкоксихидрокарбамата;

T* представляет собой гетероатом кислорода из указанной функциональной группы, который становится встроенным в указанное звено метилалкокси(арилокси)карбамата (звено МАК);
 и

нижний индекс t представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 4.

[137] Формула VI(i)' и VI(ii)' имеет структуру МАК формулы I'. В других аспектах звено МАК из формулы I' в LDC формулы

III(i)' или формулы III(ii)' заменяют на звено МАК из формулы Ia', которое предусматривает соединения лекарственного средства и линкера, которые обозначены как соединения лекарственного средства и линкера формулы VIa(i)' и формулы VIa(ii)', соответственно. В других аспектах звено МАК из формулы I' в формуле VI(i)' или формуле VI(ii)' заменяют на звено МАК из формулы I', которое предусматривает соединения лекарственного средства и линкера, которые обозначены как соединения лекарственного средства и линкера формулы III(i)' и формулы III(ii)', соответственно. Предпочтительные комбинации и подкомбинации R, R, R¹ и R² в формуле VI(i)', VI(ii)', VIa(i)', VIa(ii)', VIb(i)' или VIb(ii)' представляют собой то, что приведено для формулы III(i)', III(ii)', IIIa(i)', IIIa(ii)', IIIb(i)' или IIIb(ii)'.

[138] Как указано, соединения лекарственного средства и линкера могут действовать в качестве промежуточных соединений для LDC по настоящему изобретению. Соответственно, любые из вариантов осуществления, изложенных для LDC, также применимы для соединений лекарственного средства и линкера по настоящему изобретению. Другими словами, любые из определений для B, A, X, R, R¹, R², T*, D, O* и нижних индексов s и t и их сочетания применимы и рассмотрены для соединений лекарственного средства и линкера по настоящему изобретению.

Группы компонентов

Звенья лиганда:

[139] В некоторых вариантах осуществления изобретения, звено лиганда присутствует, как, например, в конъюгате лекарственного средства и лиганда. Звено лиганда (L-) представляет собой направленное средство, которое специфически связывается с целевым фрагментом. В одной группе вариантов осуществления, звено лиганда специфично и избирательно связывается с компонентом клетки (связывающее клетку средство) или с другими целевыми молекулами, представляющими интерес. Звено лиганда действует на мишень и представляет звено лекарственного средства из конъюгата лекарственного средства и лиганда в конкретной совокупности клеток-мишеней, с которой

звено лиганда взаимодействует из-за присутствия его направленного компонента или молекулы и делает возможным последующее высвобождение свободного лекарственного средства внутри клеток-мишеней (т. е., внутриклеточно) или вблизи от них (т. е., внеклеточно). Лиганды включают, но не ограничиваясь этим, белки, полипептиды и пептиды. Подходящие звенья лиганда включают, например, антитела, например, полноразмерные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, интерфероны, лимфокины, гормоны, факторы роста и колониестимулирующие факторы, витамины, молекулы транспортировки питательных веществ (такие как, но не ограничиваясь этим, трансферрин), или какую-либо другую связывающую клетку молекулу или вещество. В некоторых вариантах осуществления звено лиганда происходит из антитела или представляет собой направленное белковое средство не из антитела.

[140] В одной группе вариантов осуществления звено лиганда связывают со звеном носителя (Z). В некоторых из этих вариантов осуществления звено лиганда связывают с Z линкерного звена через гетероатом звена лиганда. Гетероатомы, которые могут присутствовать на звене лиганда для этого связывания, включают серу (в одном из вариантов осуществления из сульфгидрильной группы направленного лиганда), кислород (в одном из вариантов осуществления из карбоксильной или гидроксильной группы направленного лиганда) и азот, необязательно замещенный (в одном из вариантов осуществления из функциональной первичной или вторичной аминогруппы направленного лиганда или в другом варианте осуществления из необязательно замещенного азота из амида). Эти гетероатомы могут присутствовать на направленном лиганде в естественном состоянии лиганда, например, во встречающемся в природе антителе, или их можно вводить в направленный лиганд через химическую модификацию или биологическую инженерию.

[141] В одном из вариантов осуществления звено лиганда имеет сульфгидрильную функциональную группу с тем, чтобы связывать звено лиганда с линкерным звеном через атом серы сульфгидрильной функциональной группы.

[142] В другом варианте осуществления звено лиганда имеет один или несколько остатков лизина, которые способны вступать в реакцию с активированными сложными эфирами (такие сложные эфиры включают, но не ограничиваясь этим, N-гидроксисукцимид, пентафторфенил и сложные п-нитрофениловые эфиры) предшественника звена носителя промежуточного соединения лекарственного средства и линкера и, таким образом, предоставляет амидную связь, состоящую из атома азота из звена лиганда и группы C=O из звена носителя линкерного звена.

[143] В еще одном аспекте звено лиганда имеет один или несколько остатков лизина, способных к химической модификации для введения одной или нескольких сульфгидрильных групп. В этих вариантах осуществления звено лиганда связывают с линкерным звеном через атом серы сульфгидрильной функциональной группы. Реактивы, которые можно использовать для того, чтобы модифицировать лизины этим образом, включают, но не ограничиваясь этим, N-сукцинимидил S-ацетилтиоацетат (SATA) и 2-иминотиолан гидрохлорид (реактив Трота).

[144] В другом варианте осуществления одна или несколько углеводных групп звена лиганда способны к модификации, чтобы предоставлять одну или несколько сульфгидрильных функциональных групп. Химически модифицированное звено лиганда в конъюгате лекарственного средства и лиганда связывают с компонентом линкерного звена (например, звеном носителя) через атом серы сульфгидрильной функциональной группы.

[145] В еще одном другом варианте осуществления звено лиганда имеет одну или несколько углеводных групп, которые способны к окислению для того, чтобы предоставлять альдегидную (-CHO) функциональную группу (см., например, Laguzza, et al., 1989, J. Med. Chem. 32(3):548-55). В этом варианте осуществления соответствующий альдегид взаимодействует с реакционным центром на предшественнике звена носителя для того, чтобы формировать связь между звеном носителя и звеном лиганда. Реакционные центры на предшественнике звена носителя, которые способны взаимодействовать с реакционноспособной карбонил-содержащей функциональной группой на направленном лиганде,

включают, но не ограничиваясь этим, гидразин и гидроксилламин. Другие протоколы модификации белков для того, чтобы прикреплять линкерные звенья или соединения лекарственного средства и линкера, описаны в Coligan et al., *Current Protocols in Protein Science*, том 2, John Wiley & Sons (2002) (включено в настоящий документ посредством ссылки).

[146] В некоторых аспектах, звено лиганда способно формировать связь посредством взаимодействия с реакционноспособной функциональной группой на предшественнике звена носителя (Z') для того, чтобы формировать ковалентную связь между звеном носителя (Z) и звеном лиганда, соответствующим направленному лиганду. Функциональная группа на Z' , обладающая такой способностью к взаимодействию с направленным лигандом, будет зависеть от свойств звена лиганда. В некоторых вариантах осуществления реакционноспособная группа представляет собой малеимид, который присутствует на звене носителя перед его прикреплением, чтобы формировать звено лиганда (т. е., фрагмент малеимида предшественника звена носителя). Ковалентное прикрепление звена лиганда к звену носителя выполняют через сульфгидрильную функциональную группу звена лиганда, взаимодействующую с малеимидной функциональной группой Z' , чтобы формировать тио-замещенный сукцинимид. Сульфгидрильная функциональная группа может присутствовать на звене лиганда в естественном состоянии лиганда, например, во встречающемся в природе остатке, или ее можно вводить в лиганд через химическую модификацию или путем биологической инженерии.

[147] В другом варианте осуществления звено лиганда происходит из антитела, и сульфгидрильную группу создают путем восстановления дисульфидной связи между цепями антитела. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления линкерное звено конъюгируют с остатком цистеина из восстановленной дисульфидной связи (связей) между цепями.

[148] В еще одном другом варианте осуществления звено лиганда происходит из антитела и сульфгидрильную функциональную группу химически вводят в антитело, например, посредством введения остатка цистеина. Соответственно, в некоторых

вариантах осуществления линкерное звено конъюгируют со звеном лекарственного средства через введенный остаток цистеина звена лиганда.

[149] Для биоконъюгатов наблюдали, что участок конъюгации лекарственного средства может влиять на множество параметров, в том числе легкость конъюгации, устойчивость лекарственного средства-линкера, эффекты, оказываемые на биофизические свойства получаемых биоконъюгатов, и цитотоксичность *in vitro*. В отношении стабильности лекарственного средства-линкера, участок конъюгации фрагмента лекарственное средство-линкер со звеном лиганда может влиять на способность конъюгированного фрагмента лекарственное средство-линкер подвергаться реакции элиминирования, чтобы вызывать преждевременное высвобождение свободного лекарственного средства и на перенос фрагмента линкер-лекарственное средство с лиганда в LDC на альтернативный реакционноспособный тиол, присутствующий в окружении LDC, например, такой как реакционноспособный тиол в альбумине, свободном цистеине или глутатионе, присутствующем в плазме. Участки для конъюгации на направленном лиганде включают, например, восстановленную дисульфидную связь между цепями, а также выбранный остаток цистеина в сконструированных участках. В некоторых вариантах осуществления в способах конъюгации для формирования конъюгатов лекарственного средства и лиганда, как описано в настоящем документе, используют остатки тиола в генетически сконструированных участках, которые менее восприимчивы к реакции элиминирования (например, положения 239 согласно EU индексу, как изложено у Kabat) в сравнении со способами конъюгации, в которых используют остатки тиолов из восстановленной дисульфидной связи. В других вариантах осуществления в способах конъюгации для того, чтобы формировать конъюгаты лекарственного средства и лиганда, как описано в настоящем документе, используют остатки тиолов в участках, которые более восприимчивы к реакции элиминирования (например, в результате восстановления дисульфидной связи между цепями).

[150] Когда конъюгат лекарственного средства и лиганда состоит не из иммунореактивного белка, полипептида или пептида,

его звено лиганда, вместо того, чтобы происходить из антитела, происходит из не иммунореактивного белка, полипептида или пептида, который включает, но не ограничиваясь этим, 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 осповакцины («VGF»), инсулин и инсулиноподобные факторы роста I и II, соматостатин, лектины и апопротеин из липопротеина низкой плотности.

[151] Особенно предпочтительные звенья лиганда происходят из антител. Фактически, в любом из вариантов осуществления, описанных в настоящем документе, звено лиганда может происходить из антитела. Эффективные поликлональные антитела представляют собой гетерогенные совокупности молекул антител, получаемых из сыворотки иммунизированных животных. Эффективные моноклональные антитела представляют собой гомогенные совокупности антител к конкретной антигенной детерминанте (например, к антигену клетки злокачественной опухоли, вирусному антигену, микробному антигену, белку, пептиду, углеводу, химическому соединению, нуклеиновой кислоте или их фрагментам). Моноклональное антитело (mAb) к интересующему антигену можно получать, используя любой способ, известный в данной области, который обеспечивает получение молекул антител с помощью непрерывных клеточных линий в культуре.

[152] Эффективные моноклональные антитела включают, но не ограничиваясь этим, моноклональные антитела человека, гуманизированные моноклональные антитела или химерные моноклональные антитела человека-мыши (или других биологических видов). Антитела включают полноразмерные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты. Моноклональные антитела человека можно создавать с помощью любого из множества 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).

[153] Антитело может представлять собой функционально активный фрагмент, производное или аналог антитела, который иммуноспецифически связывается с клетками-мишенями (например, с антигенами клетки злокачественной опухоли, вирусными антигенами или микробными антигенами) или другими антителами, связанными с опухолевыми клетками или матриксом. В связи с этим, «функционально активный» обозначает, что фрагмент, производное или аналог способен иммуноспецифически связываться с клетками-мишенями. Для того чтобы определять, какие последовательности CDR связывают антиген, синтетические пептиды, содержащие последовательности CDR, можно использовать в анализах связывания с антигеном с помощью любого способа анализа связывания, известного в данной области (например, анализ BIAcore) (См., например, Kabat et al., 1991, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5-е издание, National Institute of Health, Bethesda, Md; Kabat E et al., 1980, *J. Immunology* 125(3):961-969).

[154] Другие эффективные антитела включают фрагменты антител, такие как, но не ограничиваясь этим, фрагменты $F(ab')_2$, фрагменты Fab, Fv, одноцепочечные антитела, диатела, триатела, тетратела, scFv, scFv-Fv или какая-либо другая молекула с той же специфичностью, что и у антитела.

[155] Дополнительно, рекомбинантные антитела, такие как химерные и гуманизированные моноклональные антитела, которые содержат части, как относящиеся к человеку, так и не относящиеся к человеку, и которые можно получать с использованием стандартных способов рекомбинантной ДНК, можно использовать в качестве антител. Химерное антитело представляет собой молекулу, для которой различные части получают от различных видов животных, например, такую как те, которые имеют переменную область, полученную из моноклонального антитела мыши, и константные области иммуноглобулинов человека (см., например, патент США № 4816567; и патент США № 4816397, которые включены в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме). Гуманизированные антитела представляют собой молекулы

антител от не являющихся человеком биологических видов, имеющие одну или несколько определяющих комплементарность областей (CDR) от являющихся человеком биологических видов и каркасную область из молекулы иммуноглобулина человека (см., например, патент США № 5585089, включенный в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме). Такие химерные и гуманизированные моноклональные антитела можно получать способами рекомбинантной ДНК, известными в данной области, например, с использованием способов, описанных в международной публикации № WO 87/02671; публикации европейского патента № 0 184 187; публикации европейского патента № 0 171 496; публикации европейского патента № 0 173 494; международной публикации № WO 86/01533; патенте США № 4816567; публикации европейского патента № 012 023; 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, BioMethods 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; каждое включено в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

[156] Полностью антитела человека в некоторых случаях (например, когда может возникать иммуногенность к не относящемуся к человеку или химерному антителу) более желательны, и их можно получать с использованием трансгенных мышей, которые не способны экспрессировать эндогенные гены тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов, но которые могут экспрессировать гены тяжелых и легких цепей человека.

[157] Антитела включают аналоги и производные, которые или модифицированы, т. е., ковалентно прикреплена молекула любого типа, до тех пор, пока такое ковалентное прикрепление позволяет антителу сохранять свою иммуноспецифичность связывания

антигена. Например, но не в качестве ограничения, производные и аналоги антител включают те, которые дополнительно модифицированы, например, посредством гликозилирования, ацетилирования, пегилирования, фосфорилирования, амидирования, получения производных с помощью известных защитных/блокирующих групп, протеолитического расщепления, образования связи с клеточной субъединицей антитела или другим белком, и т. д. Любые из множества химических модификаций можно осуществлять известными способами, включая в качестве неограничивающих примеров специфичное химическое расщепление, ацетилирование, формилирование, метаболических синтез в присутствии туникамицина и т. д. Дополнительно, аналог или производное может содержать одну или несколько неприродных аминокислоты.

[158] Антитела могут иметь модификации (например, замены, делеции или вставки) в аминокислотных остатках, которые взаимодействуют с Fc рецепторами. В частности, антитела могут иметь модификации в аминокислотных остатках, идентифицированных в качестве вовлеченных во взаимодействие между доменом против Fc и рецептором FcRn (см., например, международную публикацию № WO 97/34631, включенную в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме).

[159] Антитела, иммуноспецифичные к антигену клеток злокачественной опухоли, можно получать на коммерческой основе или получать любым способом, известным специалисту в данной области, таким как способы рекомбинантной экспрессии. Нуклеотидную последовательность, кодирующую антитела, иммуноспецифичные к антигену клеток злокачественной опухоли, можно получать, например, из базы данных GenBank или базы данных, похожей на нее, литературных публикаций или посредством обычного клонирования и секвенирования.

[160] В конкретном варианте осуществления можно использовать известное антитело для лечения злокачественной опухоли.

[161] В другом конкретном варианте осуществления антитела для лечения аутоиммунного заболевания используют в соответствии с композициями и способами по изобретению.

[162] В определенных вариантах осуществления эффективные антитела могут связываться с рецептором или рецепторным комплексом, экспрессируемым на активированном лимфоците. Рецептор или рецепторный комплекс может содержать член суперсемейства генов иммуноглобулинов, член суперсемейства TNF рецепторов, интегрин, цитокиновый рецептор, хемокиновый рецептор, главный белок гистосовместимости, лектин или белок управления комплементом.

[163] В некоторых аспектах антитело, которое встраивают в конъюгат лекарственного средства и лиганда, специфично связывает CD19, CD20, CD30, CD33, CD70, NTBA, α -v- β -6, Liv-1 или антиген Льюиса Y.

Звенья лекарственного средства (D):

[164] Звено лекарственного средства (D) может быть из какого-либо цитотоксического, цитостатического или иммуносупрессорного лекарственного средства (также обозначаемого в настоящем документе как цитотоксическое, цитостатическое или иммуносупрессорное средство), которое имеет гидроксильную, тиоловую, аминную или амидную функциональную группу, в которой гетероатом кислорода, серы или необязательно замещенного азота способен ко встраиванию в звено метиленкарбамата, и которое способно к высвобождению из звена метиленкарбамата в виде функциональной группы свободного лекарственного средства. В некоторых аспектах эта функциональная группа предусматривает только участок на лекарственном средстве, доступный для прикрепления к этому компоненту линкерного звена. Получаемый фрагмент лекарственное средство-линкер представляет собой то, что может высвободить активное свободное лекарственное средство из LDC, имеющего этот фрагмент, в месте, на которое направлено его звено лиганда для того, чтобы оказывать цитотоксический, цитостатический или иммуносупрессорный эффект.

[165] «Свободное лекарственное средство» относится к лекарственному средству, как оно существует после высвобождения из фрагмента лекарственное средство-линкер. Свободное

лекарственное средство отличается от конъюгированного лекарственного средства в том отношении, что функциональная группа лекарственного средства для прикрепления к саморасщепляющемуся сборочному звену более не связана с компонентами конъюгата лекарственного средства и лиганда (отличается от ранее общего гетероатома). Например, свободную гидроксильную функциональную группу спиртосодержащего лекарственного средства можно представлять в виде $D-O^*H$, тогда как в конъюгированной форме гетероатом кислорода, обозначаемый как O^* , встроен в звено метиленкарбамата саморасщепляющегося сборочного звена. При активации саморасщепляющегося фрагмента и высвобождении свободного лекарственного средства, происходит замена ковалентной связи с O^* на атом водорода с тем, чтобы гетероатом кислорода, обозначаемый как O^* , присутствовал на свободном лекарственном средстве в виде $-O-H$. В другом примере O^* происходит из свободной гидроксильной функциональной группы предшественника для спиртосодержащего лекарственного средства, который представляют как $D'-O^*H$. После встраивания O^* из этого предшественника в звено метиленкарбамата саморасщепляющегося сборочного звена $D'-O^*-$, происходит превращение этого фрагмента в саморасщепляющемся сборочном звене впоследствии в $D-O^*-$.

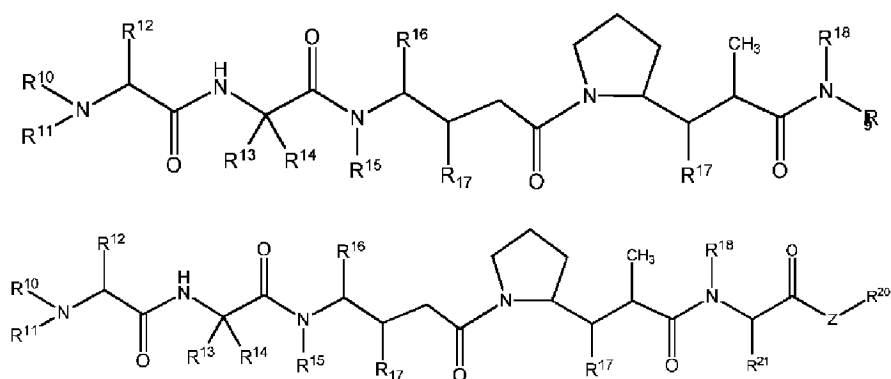
[166] Эффективные классы цитотоксических или иммуносупрессорных средств, которые имеют гидроксильную, сульфгидрильную, аминную или амидную функциональную группу, или которые можно модифицировать так, чтобы иметь такие функциональные группы, не подвергаясь неприемлемой утрате биологической активности, которые подходят для прикрепления к звену метиленкарбамата, включают, например, антитубулиновые средства, связующие средства для малой бороздки ДНК, ингибиторы репликации ДНК, алкилирующие средства, антибиотики, антифолаты, антиметаболиты, химиотерапевтические сенсibilизаторы, ингибиторы топоизомераз, алкалоиды барвинка или тому подобное. Примеры особенно эффективных классов цитотоксических средств включают, например, связующие средства для малой бороздки ДНК, ДНК алкилирующие средства и ингибиторы тубулина. Образцовые цитотоксические средства включают, например, ауристатины,

камптотецины, дуокармицины, этопозиды, майтанзины и майтанзиноиды, таксаны, бензодиазепины или бензодиазепин-содержащие лекарственные средства (например, пирроло[1,4]-бензодиазепины (PBD), индолинобензодиазепины и оксазолидинобензодиазепины) и алкалоиды барвинка.

[167] В некоторых вариантах осуществления звено лекарственного средства происходит из средства против тубулина. Примеры средств против тубулина включают, но не ограничиваясь этим, таксаны, алкалоиды барвинка, майтанзин и майтанзиноиды, доластатин и ауристатины.

[168] В определенных вариантах осуществления цитотоксическое средство происходит из майтанзина или майтанзиноида.

[169] В некоторых вариантах осуществления звено лекарственного средства происходит из ауристатина, причем предпочтительно то, которое имеет гидроксильную функциональную группу, гетероатом которой встраивается в звено МАК. Образцовые предпочтительные ауристатины включают соединения, которые имеют одну из следующих структур:



в которых R¹⁰ и R¹¹ независимо представляют собой водород или C₁-C₈ алкил; R¹² представляет собой водород, C₁-C₈ алкил, C₃-C₈ циклоалкил, арил, -X₁-арил, -X₁-(C₃-C₈ циклоалкил), C₃-C₈ гетероцикл или -X₁-(C₃-C₈ гетероцикл); R¹³ представляет собой водород, C₁-C₈ алкил, C₃-C₈ циклоалкил, арил, -X₁-арил, -X₁-(C₃-C₈ циклоалкил), C₃-C₈ гетероцикл и -X₁-(C₃-C₈ гетероцикл); R¹⁴ представляет собой водород или метил, или R¹³ и R¹⁴, взятые вместе с углеродом, к которому они присоединены, содержат C₃-C₈ циклоалкил; R¹⁵ представляет собой водород или C₁-C₈ алкил; R¹⁶

представляет собой водород, C₁-C₈ алкил, C₃-C₈ циклоалкил, арил, -X₁-арил, -X₁-(C₃-C₈ циклоалкил), C₃-C₈ гетероцикл и -X₁-(C₃-C₈ гетероцикл); R¹⁷ независимо представляют собой водород, -ОН, C₁-C₈ алкил, C₃-C₈ циклоалкил и O-(C₁-C₈ алкил); R¹⁸ представляет собой водород или C₁-C₈ алкил; R¹⁹ представляет собой -C(R^{19A})₂-C(R^{19A})₂-арил, -C(R^{19A})₂-C(R^{19A})₂-(C₃-C₈ гетероцикл) или -C(R^{19A})₂-C(R^{19A})₂-(C₃-C₈ циклоалкил), в которых каждый R^{19A} независимо представляет собой водород, C₁-C₈ алкил, -ОН или -O-C₁-C₈ алкил, при условии, что по меньшей мере один R^{19A} представляет собой -ОН; R²⁰ представляет собой гидроксилалкил, в том числе -CH(CH₃)-ОН; Z представляет собой O, S, NH и X₁ представляет собой C₁-C₁₀ алкилен.

[170] Синтез и структуры ауристатинов, имеющих гидроксильную функциональную группу, в которой гетероатом кислорода способен ко встраиванию в звено МАК, описаны в публикациях патентных заявок США №№ 2003-0083263, 2005-0238649 2005-0009751, 2009-0111756 и 2011-0020343; публикации международного патента № WO 04/010957, публикации международного патента № WO 02/088172 и патентах США №№ 7659241 и 8343928; каждое из которых включено по ссылке в полном объеме и для всех целей. Образцовые спиртосодержащие ауристатины, высвобождаемые из LDC по настоящему изобретению, связывают тубулин и оказывают цитотоксический или цитостатический эффект на желаемые клетки (т. е., клетки-мишени) в качестве результата этого связывания.

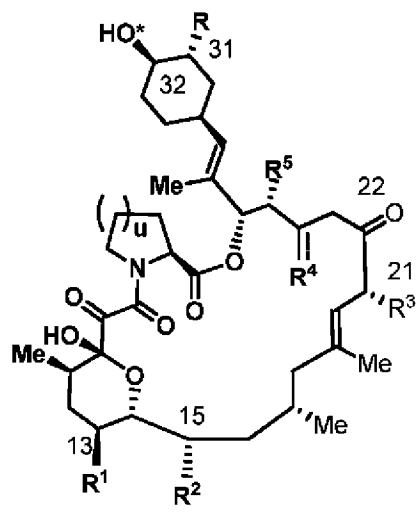
[171] Более предпочтительные ауристатины, имеющие гидроксильную функциональную группу, гетероатом которой встраивают в звено МАК, представляют собой монометилауристатин Е и ауристатин Т.

[172] В некоторых вариантах осуществления звено лекарственного средства происходит из бензодиазепина (в том числе бензодиазепин-содержащих лекарственных средств (например, пирроло [1,4]бензодиазепины (PBD), индолинобензодиазепины и оксазолидинобензодиазепины), которые имеют или модифицированы для того, чтобы иметь гидроксильную, аминную, амидную или тиоловую функциональную группу, подходящую для встраивания в

звено лекарственного средства, ковалентно прикрепленное к звену метиленкарбамата через гетероатом этой функциональной группы.

[173] В других аспектах, звено лекарственного средства представляет собой иммунофилин класса FKBP (как описано у Wiederrecht and Etzhorn «Immunophilins» *Perspec. Drug Discov. Des.* (1994) 2(1): 57-84), обозначаемый в настоящем документе как иммунофилин FKBP, который имеет гидроксильную функциональную группу, подходящую для встраивания в звено лекарственного средства, ковалентно прикрепленное к звену МАК через гетероатом кислорода этой функциональной группы.

[174] В одной группе вариантов осуществления иммунофилин, подходящий для встраивания в звено лекарственного средства, ковалентно прикрепленного к звену МАК, связывается с FKBP-12 в виде свободного лекарственного средства для того, чтобы ингибировать эффекторную функцию кальциневрина, необходимого для Т-клеточной пролиферации. В одном из вариантов осуществления иммунофилин FKBP, который способен ко встраиванию в звено МАК и в виде свободного лекарственного средства связывается с FKBP-12 для того, чтобы ингибировать эффекторную функцию кальциневрина, имеет общую структуру формулы VIIa

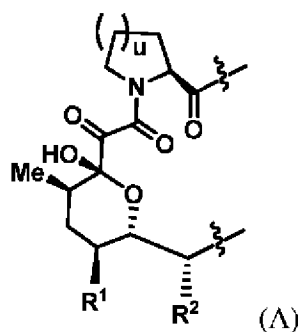


в которой u равно 0 или 1 для того, чтобы определять фрагмент пролина или пиперидиновой кислоты, в котором R , R^1 и R^2 независимо представляют собой $-OH$, необязательно замещенный C_1-C_6 простой эфир или необязательно замещенный C_1-C_6 сложный эфир (предпочтительно R , R^1 и R^2 представляют собой $-OMe$); R^3

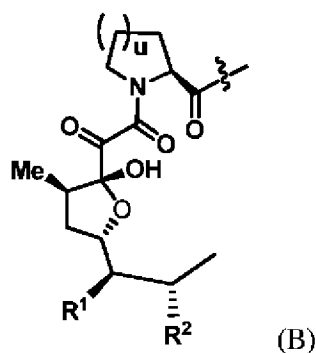
представляет собой необязательно замещенный C₁-C₄ алкил (предпочтительно метил, этил, -CH₂CH=CH₂, -CH₂CH₂CH₂CH₃; R⁴ представляет собой оксо (т. е., =O) или -ОН или C₁-C₆ сложный эфир в α- или β-конфигурации (предпочтительно =O или α-ОН); и R⁵ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₄ алкил (предпочтительно водород или метил).

[175] В предпочтительных вариантах осуществления формулы VIIa, u равно 2; R, R¹ и R² представляют собой -OMe; R³ представляет собой этил; R⁴ представляет собой α-ОН; и R⁵ представляет собой метил, или u равно 2; R, R¹ и R² представляют собой -OMe; R³ представляет собой метил; R⁴ представляет собой α-ОН; и R⁵ представляет собой метил, или u равно 1; R, R¹ и R² представляют собой -OMe; R³ представляет собой -CH₂CH=CH₂; R⁴ представляет собой α-ОН; и R⁵ представляет собой метил, или u равно 2; R, R¹ и R² представляют собой -OMe; R³ представляет собой метил; R⁴ представляет собой α-ОН; и R⁵ представляет собой метил, или u равно 1; R, R¹ и R² представляют собой -OMe; R³ представляет собой этил; R⁴ представляет собой α-ОН; и R⁵ представляет собой водород, или u равно 1; R, R¹ и R² представляют собой -OMe; R³ представляет собой этил; R⁴ представляет собой α-ОН; и R⁵ представляет собой метил, или u равно 2; R, R¹ и R² представляют собой -OMe, R³ представляет собой -CH₂CH=CH₂; R⁴ представляет собой α-ОН; и R⁵ представляет собой метил, или u равно 2; R представляет собой -OMe; R¹ представляет собой -ОН; R² представляет собой метил; R³ представляет собой -CH₂CH=CH₂; R⁴ представляет собой α-ОН; и R⁵ представляет собой метил.

[176] В других вариантах осуществления фрагмент А в формуле VIIa

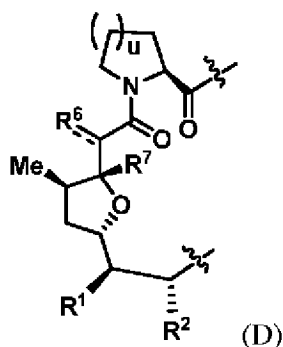
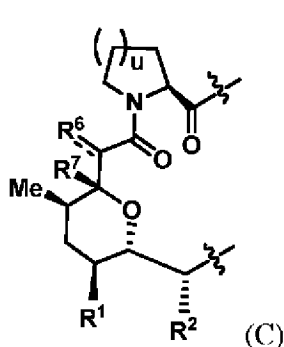


заменяют на фрагмент В



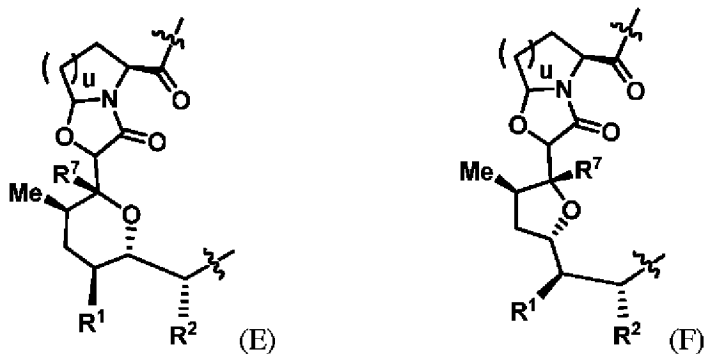
для того, чтобы определять иммунофилины FKBP формулы VIIb, в которой волнистая линия обозначает ковалентное прикрепление к остальной части макролида; u , R , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 и R^5 как определено в формуле VIIa. В предпочтительных вариантах осуществления формулы VIIb, u равно 2, R представляет собой -OMe; R^1 представляет собой -OH; R^2 представляет собой -OMe; R^3 представляет собой метил, этил или $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$; R^4 представляет собой α -OH; и R^5 представляет собой водород или метил.

[177] В других вариантах осуществления фрагмент А в формуле VIIa заменяют на фрагмент С или D



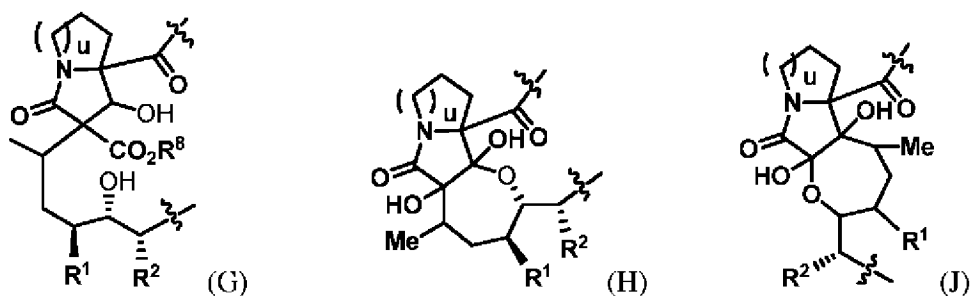
для того, чтобы определять иммунофилины FKBP формулы VIIc или VIId, соответственно, в которых R^6 представляет собой водород, оксо (т. е., =O), -OH в α - или β -конфигурации, эпоксид (т. е., $-\text{CH}_2\text{O}-$), $=\text{N}(\text{R}^{6'})$ или $=\text{C}(\text{R}^{6'})_2$; R^7 представляет собой -OH или $-\text{N}(\text{R}^{6'})_2$; и u , R , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 и R^5 как определено для формулы VIIa, в которой при каждом проявлении $R^{6'}$ независимо выбирают из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного C_1 - C_4 алкила.

[178] В других вариантах осуществления фрагмент А в формуле VIIa заменяют на фрагмент Е или F



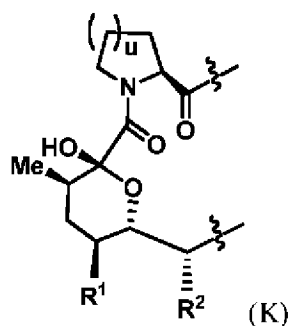
для того, чтобы определять иммунофилины FKBP формулы VIIe или VIIf, соответственно, в которых u , R , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 и R^5 как определено в формуле VIa и R^7 как определено в формуле VIc/VId. Предпочтительно в формуле VIIe R , R^1 и R^2 представляют собой $-OMe$; R^3 представляет собой метил, этил или $-CH_2CH=CH_2$; R^4 представляет собой $\alpha-OH$; R^5 представляет собой водород или метил; и R^7 представляет собой $-OH$, и предпочтительно в формуле VIIf u равно 2, R представляет собой $-OMe$, R^1 представляет собой $-OH$; R^2 представляет собой $-OMe$; R^3 представляет собой метил, этил или $-CH_2CH=CH_2$; R^4 представляет собой $\alpha-OH$; R^5 представляет собой водород или метил; и R^7 представляет собой $-OH$.

[179] В других вариантах осуществления фрагмент формулы A в формуле VIa заменяют фрагментом G, H или J



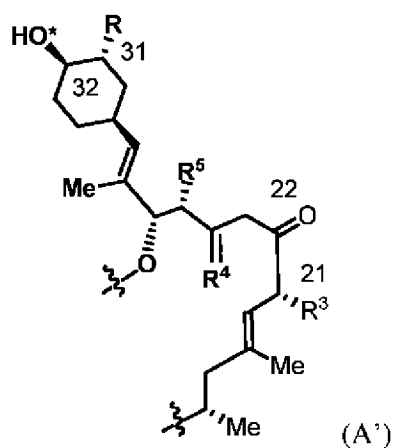
для того, чтобы определять иммунофилины FKBP формулы VIIg, VIIh и VIIj, соответственно, в которых R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 и R^6 как определено в формуле VIIa; и R^8 представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил. Предпочтительно в этих формулах u равно 2; R , R^1 и R^2 представляют собой $-OMe$; R^3 представляет собой метил, этил или $-CH_2CH=CH_2$; R^4 представляет собой $\alpha-OH$; R^5 представляет собой водород или метил; и R^8 представляет собой метил или этил.

[180] В других вариантах осуществления фрагмент А в формуле VIIa заменяют фрагментом К

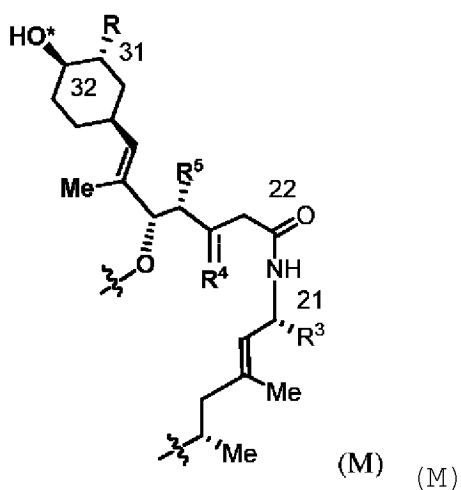


для того, чтобы определять иммунофилины FKBP формулы VIIk, в которой u, R, R¹, R², R³, R⁴ и R⁵ как определено в формуле VIIa.

[181] В других вариантах осуществления фрагмент А' в формуле VIIa, VIIb, VIIc, VIId, VIIe, VIIf, VIIg, VIIh, VIIj или VIIk заменяют фрагментом,



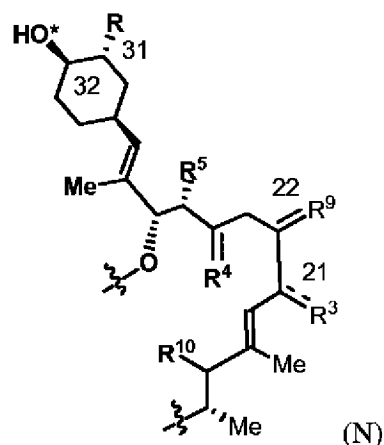
заменяют фрагментом М



для того, чтобы определять иммунофилины FKBP формулы VIIm(i), VIIm(ii), VIIm(iii), VIIm(iv), VIIm(v), VIIm(vi),

VIIIm(vii), VIIIm(viii), VIIIm(ix) и VIIIm(x), соответственно, в которых переменные группы как определено в соответствующей им исходной структуре. Предпочтительная замена A' с использованием фрагмента M предназначена для формулы VIa, которая определяет иммунофилины FKBP формулы VIIIm(i), в которых R, R¹ и R² представляют собой -OMe; R³ представляет собой метил, этил или -CH₂CH=CH₂; R⁴ представляет собой α-OH; и R⁵ представляет собой водород или метил.

[182] В других вариантах осуществления фрагмент A' в формуле VIIa, VIIb, VIIc, VIId, VIIe, VIIf, VIIg, VIIh, VIIj или VIIk заменяют фрагментом N

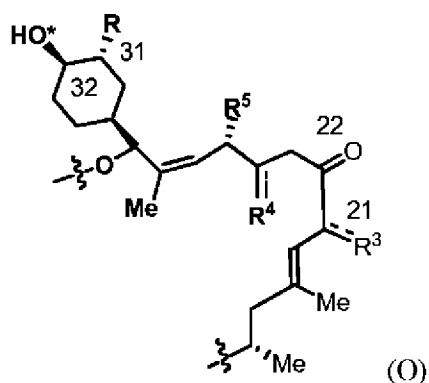


для того, чтобы определять иммунофилины FKBP формулы VIIIn(i), VIIIn(ii), VIIIn(iii), VIIIn(iv), VIIIn(v), VIIIn(vi), VIIIn(vii), VIIIn(viii), VIIIn(ix) и VIIIn(x), в которых R³ представляет собой R^{3A}, R^{3B} (т. е., C-21 связан с R^{3A} и R^{3B}), в котором R^{3A} в α-конфигурации представляет собой необязательно замещенный C₁-C₆ алкил (предпочтительно метил, этил, -CH₂CH=CH₂, -CH₂CH₂CH₂CH₃) и R^{3B} в β-конфигурации представляет собой водород или -OH, или R^{3A} в α-конфигурации представляет собой -OH и R^{3B} в β-конфигурации представляет собой необязательно замещенный C₁-C₆ алкил (предпочтительно метил, этил, -CH₂CH=CH₂, -CH₂CH₂CH₂CH₃); R⁹ представляет собой оксо или -OH в α- или β-конфигурации; и R¹⁰ представляет собой водород или фтор в α- или β-конфигурации, при условии, что когда R^{3B} представляет собой водород и R⁹ представляет собой оксо, тогда R¹⁰ не представляет собой водород; и остальные переменные группы как определено в

соответствующей им исходной структуре.

[183] предпочтительная замена A' с использованием фрагмента N предназначена для формулы VIa, которая определяет иммунофилины FKBP формулы VIIn(i), в которых R, R^1 и R^2 представляют собой -OMe; R^{3A} представляет собой метил или этил и R^{3B} представляет собой водород; R^4 представляет собой α -ОН; R^5 представляет собой водород или метил; R^9 представляет собой оксо; и R^{10} представляет собой фтор в α - или β -конфигурации или R, R^1 и R^2 представляют собой -OMe; R^{3A} представляет собой метил или этил и R^{3B} представляет собой -ОН или R^{3A} представляет собой -ОН и R^{3B} представляет собой метил или этил; R^4 представляет собой α -ОН; R^5 представляет собой водород или метил; R^9 представляет собой оксо; и R^{10} представляет собой водород или -ОН в α - или β -конфигурации.

[184] В других вариантах осуществления фрагмент A' в формуле VIIa, VIIb, VIIc, VIId, VIIe, VIIf, VIIg, VIIh, VIIj или VIIk заменяют фрагментом O



для того, чтобы определять иммунофилины FKBP формулы VIIo(i), VIIo(ii), VIIo(iii), VIIo(iv), VIIo(v), VIIo(vi), VIIo(vii), VIIo(viii), VIIo(ix) и VIIo(x), соответственно, в которых R, R^3 , R^4 и R^5 как определено для VIIn-иммунофилинов, и остальные переменные группы как определено в соответствующей им исходной структуре.

[185] Предпочтительная замена A' с использованием фрагмента O предназначена для формулы VIa, которая определяет иммунофилины FKBP формулы VIIo(i), в которой R, R^1 и R^2 представляют собой -OMe; R^{3A} в α -конфигурации представляет

собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил (предпочтительно метил, этил, $-CH_2CH=CH_2$, $-CH_2CH_2CH_2CH_3$); R^{3B} представляет собой β -конфигурации представляет собой водород; R^4 представляет собой α -ОН; R^5 представляет собой водород или метил.

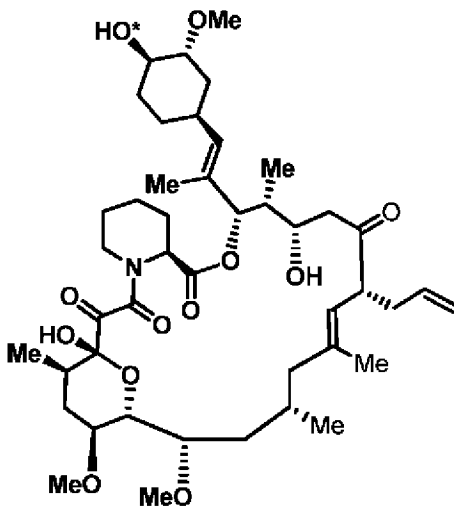
[186] В более предпочтительных вариантах осуществления формулы VIIa и равно 2; R , R^1 и R^2 представляют собой $-OMe$, R^3 представляет собой $-CH_2CH=CH_2$; R^4 представляет собой α -ОН; и R^5 представляет собой метил, или и равно 2; R представляет собой $-OMe$; R^1 представляет собой $-ОН$; R^2 представляет собой метил, R^3 представляет собой $-CH_2CH=CH_2$; R^4 представляет собой α -ОН; и R^5 представляет собой метил. В более предпочтительных вариантах осуществления формулы VIIb и равно 2; R представляет собой $-OMe$; R^1 представляет собой $-ОН$; R^2 представляет собой метил, R^3 представляет собой $-CH_2CH=CH_2$; R^4 представляет собой α -ОН; и R^5 представляет собой метил. В более предпочтительных вариантах осуществления формулы VIIc, и равно 2; R , R^1 и R^2 представляют собой $-OMe$, R^3 представляет собой $-CH_2CH=CH_2$; R^4 представляет собой α -ОН; R^5 представляет собой метил; R^6 представляет собой водород, $=CH_2$ или $-ОН$ в α - или β -конфигурации (предпочтительно $-ОН$); и R^7 представляет собой $-ОН$. В более предпочтительных вариантах осуществления формулы VIId и равно 2; R представляет собой $-OMe$; R^1 представляет собой $-ОН$; R^2 представляет собой метил, R^3 представляет собой $-CH_2CH=CH_2$; R^4 представляет собой α -ОН; R^5 представляет собой метил; R^6 представляет собой водород, $=CH_2$ или $-ОН$ в α - или β -конфигурации (предпочтительно $-ОН$); и R^7 представляет собой $-ОН$. В более предпочтительных вариантах осуществления формулы VIIe R , R^1 и R^2 представляют собой $-OMe$; R^3 представляет собой $-CH_2CH=CH_2$; R^4 представляет собой α -ОН; R^5 представляет собой метил; и R^7 представляет собой $-ОН$. В более предпочтительных вариантах осуществления формулы VIIf и равно 2, R представляет собой $-OMe$, R^1 представляет собой $-ОН$; R^2 представляет собой $-OMe$; R^3 представляет собой $-CH_2CH=CH_2$; R^4 представляет собой α -ОН; R^5 представляет собой метил; и R^7 представляет собой $-ОН$.

[187] В более предпочтительных вариантах осуществления VIIg, VIIh или VIIj R, R¹ и R² представляют собой -OMe; R³ представляет собой -CH₂CH=CH₂; R⁴ представляет собой α-OH; R⁵ представляет собой метил; и R⁸ представляет собой метил. В более предпочтительных вариантах осуществления формулы VIIk или формулы VIIm(i) u равно 2; R, R¹ и R² представляют собой -OMe, R³ представляет собой -CH₂CH=CH₂; R⁴ представляет собой α-OH. В более предпочтительных вариантах осуществления формулы VIIn(i) R, R¹ и R² представляют собой -OMe; R³ представляет собой этил; R⁴ представляет собой α-OH; R⁵ представляет собой метил; R⁹ представляет собой оксо; и R¹⁰ представляет собой -OH в α- или β-конфигурации. В более предпочтительных вариантах осуществления формулы VIIn(i) R, R¹ и R² представляют собой -OMe; R^{3A} в α-конфигурации представляет собой -CH₂CH=CH₂, -CH₂CH₂CH₂CH₃; R^{3B} в β-конфигурации представляет собой водород; R⁴ представляет собой α-OH; и R⁵ представляет собой метил.

[188] В других более предпочтительных вариантах осуществления звено лекарственного средства в любом одном формулы I, I', Ia, Ia', II, II', IIIa(i), IIIa(ii), IIIb(i), IIIb(ii), IIIc(i), IIIc(ii), Va, Vb, Vc, Va', Vb', Vc', VIa, VIb, VIc, VIa', VIb', VIc', VIa(i), VIa(ii), VIb(i), VIb(ii), VIc(i), VIc(ii), VIa(i)', VIa(ii)', VIb(i)', VIb(ii)', VIc(i)' и VIc(ii)', происходит из иммунофилина FKBP формулы VIIa, VIIb, VIIc, VIId, VIIe, VIIf, VIIg, VIIh, VIIj, VIIm(i), VIIm(ii), VIIm(iii), VIIm(iv), VIIm(v), VIIm(vi), VIIm(vii), VIIm(viii), VIIm(ix), VIIm(x), VIIn(i), VIIn(ii), VIIn(iii), VIIn(iv), VIIn(v), VIIn(vi), VIIn(vii), VIIn(viii), VIIn(ix) VIIn(x), VIIo(i), VIIo(ii), VIIo(iii), VIIo(iv), VIIo(v), VIIo(vi), VIIo(vii), VIIo(viii), VIIo(ix) и VIIo(x), в которых гетероатом кислорода из гидроксильной функциональной группы в положении C-32 в любом одном из этих иммунофилинов FKBP представлен как O* или T* в формуле I, I', Ia, Ia', II, II', IIIa(i), IIIa(ii), IIIb(i), IIIb(ii), IIIc(i), IIIc(ii), Va, Vb, Vc, Va', Vb', Vc', VIa, VIb, VIc, VIa', VIb', VIc', VIa(i), VIa(ii), VIb(i), VIb(ii), VIc(i), VIc(ii), VIa(i)', VIa(ii)', VIb(i)', VIb(ii)',

VIc(i)' и VIc(ii)'.

[189] В особенно предпочтительных вариантах осуществления звено лекарственного средства в любой одной формулы I, I', Ia, Ia', II, II', IIIa(i), IIIa(ii), IIIb(i), IIIb(ii), IIIc(i), IIIc(ii), Va, Vb, Vc, Va', Vb', Vc', VIa, VIb, VIc, VIa', VIb', VIc', VIa(i), VIa(ii), VIb(i), VIb(ii), VIc(i), VIc(ii), VIa(i)', VIa(ii)', VIb(i)', VIb(ii)', VIc(i)' и VIc(ii)' происходит из иммунофилина FKBP такролимус (FK-506), структура которого приведена далее:

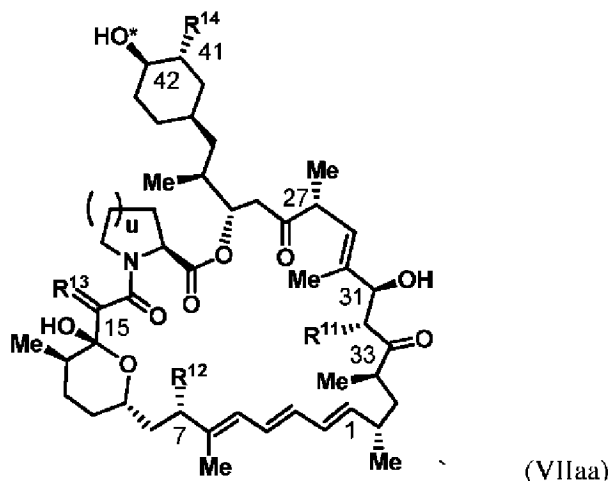


в котором указанный O* представляет собой гетероатом O* или T*, который встроен в звено метиленкарбамата в любом одном этих формул, или происходит из другого макролидного ингибитора эффекторной функции кальциневрина, имеющего гидроксильную функциональную группу, гетероатом кислорода которой способен ко встраиванию в звено МАК или происходит из другого макролидного ингибитора эффекторной функции кальциневрина, имеющего гидроксильную функциональную группу, гетероатом кислорода которой способен ко встраиванию в звено МАК. Гидроксильный гетероатом функциональной группы, встроенный в звено МАК, показан как O* для такролимуса.

[190] В другой группе вариантов осуществления иммунофилин, подходящий для встраивания в звено лекарственного средства при ковалентном прикреплении к звену МАК, связывается с FKBP-12 в виде свободного лекарственного средства для того, чтобы ингибировать эффекторную функцию мишени рапамицина у

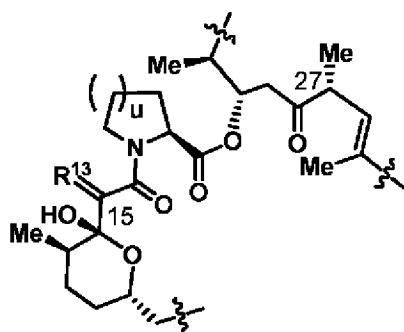
млекопитающих (mTOR), необходимую для повышенного синтеза белка, чтобы поддерживать пролиферацию и выживаемость клеток злокачественной опухоли.

[191] В одном из вариантов осуществления иммунофилин FKBP, который способен ко встраиванию в звено МАК и в виде свободного лекарственного средства связывается с FKBP-12 для того, чтобы ингибировать эффекторную функцию mTOR, имеет общую структуру формулы VIIaа



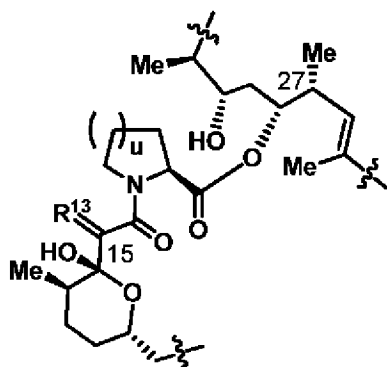
в которой u равно 1 или 2, чтобы определять фрагмент пролинила или пипеколиновой кислоты; R^{14} и R^{12} независимо представляют собой, $-OH$, необязательно замещенный C_1-C_6 простой эфир или необязательно замещенный C_1-C_6 сложный эфир (предпочтительно $-OH$ или необязательно замещенный C_1-C_6 простой эфир; более предпочтительно $-OH$ или $-OCH_3$); R^{11} представляет собой водород, $-OH$, необязательно замещенный C_1-C_6 простой эфир или необязательно замещенный C_1-C_6 сложный эфир (предпочтительно водород, $-OH$ или необязательно замещенный C_1-C_6 простой эфир; более предпочтительно водород, $-OH$ или $-OCH_3$); и R^{13} представляет собой O (т. е., определяет $=O$ в C_{15}) или CH_2 (т. е., определяет $=CH_2$ в C_{15}).

[192] В других вариантах осуществления фрагмент AA в формуле VIIaа



(AA)

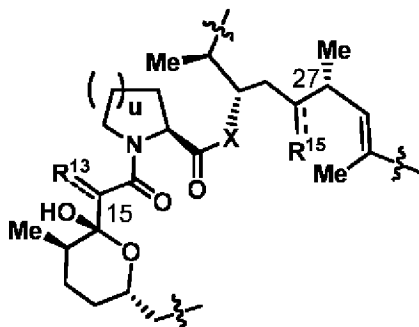
заменяют фрагментом формулы ВВ



(BB)

для того, чтобы определять иммунофилины FKBP формулы VIIbb, в которой u , R , R^{11} , R^{12} и R^{13} как определено для формулы VIIaa. В предпочтительных вариантах осуществления формулы VIIaa u равно 2; R и R^{12} независимо представляют собой, $-OH$ или необязательно замещенный C_1-C_6 простой эфир (более предпочтительно $-OH$ или $-OCH_3$); R^{11} представляет собой водород, $-OH$ или необязательно замещенный C_1-C_6 простой эфир (более предпочтительно водород, $-OH$ или $-OCH_3$); и R^{13} представляет собой O (т. е., определяет $=O$ в $C-15$) или CH_2 (т. е., определяет $=CH_2$ в $C-15$) (более предпочтительно R^{13} представляет собой O).

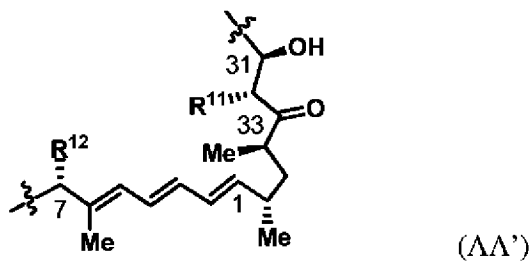
[193] В других вариантах осуществления фрагмент AA заменяют фрагментом формулы CC



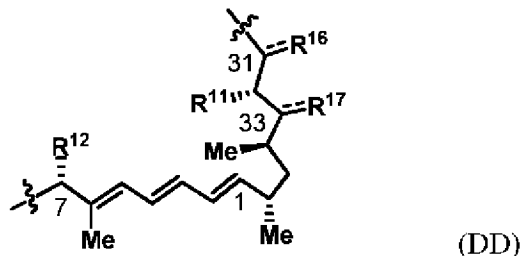
(CC)

для того, чтобы определять иммунофилины FKBP формулы VIIсс, в которой u равно 1 или 2; X представляет собой O или $-OCH_2CH_2S-$; R^{13} представляет собой O, $NOR^{13'}$ (т. е., определяет оксим в C_{15}) или $NHNHR^{13'}$ (т. е., определяет гидразон в C_{15}), в котором $R^{13'}$ независимо выбирают из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного C_1-C_4 алкила; R^{13} представляет собой R^{13A} , R^{13B} (т. е., C-15 связан с R^{13A} и R^{13B}), в котором R^{13A} в α -конфигурации представляет собой водород и R^{13B} в β -конфигурации представляет собой $-OH$ или R^{13A} в α -конфигурации представляет собой $-OH$ и R^{13B} в β -конфигурации представляет собой водород; R^{15} представляет собой O или R^{15} представляет собой R^{15A} , R^{15B} (т. е., C-15 связан с R^{15A} и R^{15B}), в котором R^{15A} в α -конфигурации представляет собой водород и R^{15B} в β -конфигурации представляет собой $-OH$ или R^{15A} в α -конфигурации представляет собой $-OH$ и R^{15B} в β -конфигурации представляет собой водород.

[194] В других вариантах осуществления фрагмент AA' в формуле VIIаа, VIIбб или VIIсс



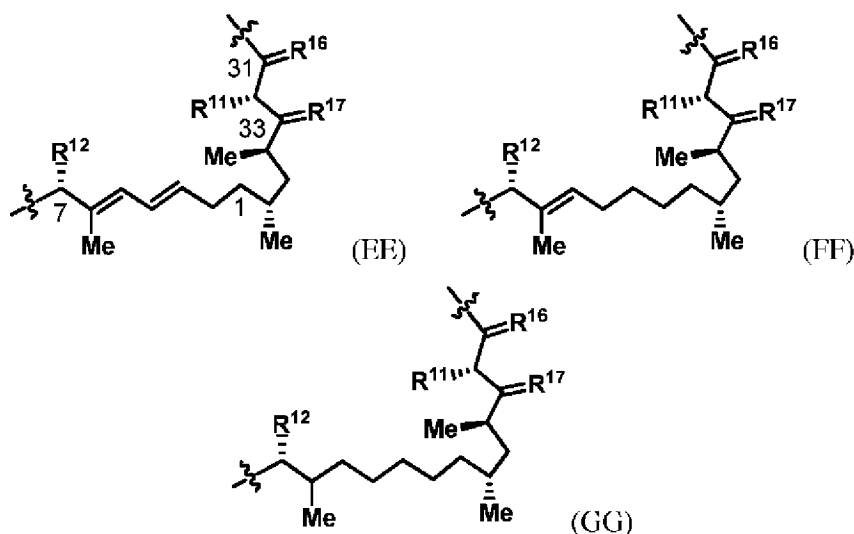
заменяют фрагментом формулы DD



для того, чтобы определять иммунофилины FKBP формулы VIIdd(i), VIIdd(ii) и VIIdd(iii), соответственно, в которых R^{11} и R^{12} как определено в формуле VIIаа, R^{16} представляет собой O (т. е., чтобы определять $=O$ в C-31) или R^{16} представляет собой R^{16A} , R^{16B} (т. е., C-31 связан с R^{16A} и R^{16B}), в котором R^{16A} в α -

конфигурации представляет собой водород и R^{16B} в β -конфигурации представляет собой $-OH$ или R^{16A} в α -конфигурации представляет собой $-OH$ и R^{16B} в β -конфигурации представляет собой водород; R^{17} представляет собой O (т. е., чтобы определять $=O$ в С-33) или R^{17} представляет собой R^{17A} , R^{17B} (т. е., С-33 связан с R^{17A} и R^{17B}), в котором R^{17A} в α -конфигурации представляет собой водород и R^{17B} в β -конфигурации представляет собой $-OH$, необязательно замещенный C_1-C_6 простой эфир (предпочтительно $-OR^{17B'}$) или необязательно замещенный O -связанный карбамат (предпочтительно $-O(C=O)NHR^{17B'}$) или R^{17A} в α -конфигурации представляет собой $-OH$, необязательно замещенный C_1-C_6 простой эфир (предпочтительно $-OR^{17A'}$) или необязательно замещенный O -связанный карбамат (предпочтительно $-O(C=O)NHR^{17B'}$) и R^{17B} в β -конфигурации представляет собой водород, в котором $R^{17A'}$ и $R^{17B'}$ независимо представляют собой водород или C_1-C_4 алкил (предпочтительно водород, метил или этил) или R^{16} и R^{17} представляют собой N (чтобы определять $=N$ в С-31 и С-32) и вместе с углеродами С-31 и С-32, к которым они присоединены, определяют пиразол гетероцикло; и остальные переменные группы как определено в соответствующей им исходной структуре.

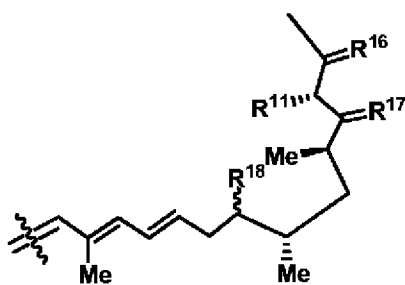
[195] В других вариантах осуществления фрагмент AA' в формуле VIIaa, VIIbb или VIIcc заменяют фрагментом формулы EE, FF или GG



для того, чтобы определять из формулы EE иммунофилины FKBP

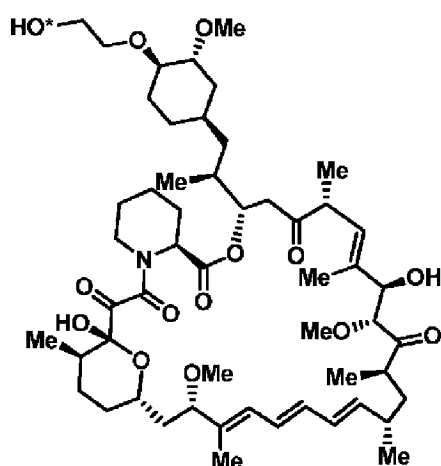
формулы VIIee(i), VIIee(ii) и VIIee(iii), соответственно, из формулы FF иммунофилины FKBP формулы VIIff(i), VIIff(ii) и VIIff(iii), соответственно, или из формулы GG иммунофилины FKBP формулы VIIff(i), VIIff(ii) и VIIff(iii), в которых R¹¹ и R¹² как определено в формуле VIIaa; R¹⁶ и R¹⁷ как определено в формуле DD и остальные переменные группы как определено с помощью соответствующей им исходной структуры.

[196] В других вариантах осуществления фрагмент AA' в формуле VIIaa, VIIbb или VIIcc заменяют фрагментом формулы HH или JJ

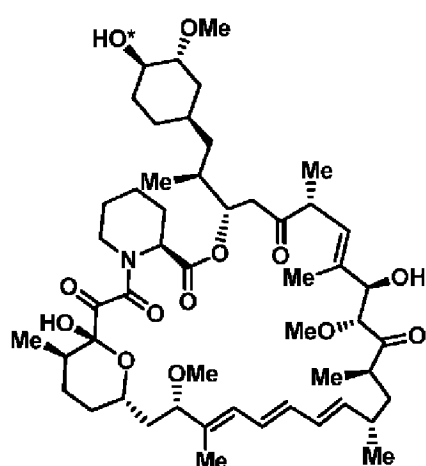


для того, чтобы определять из формулы HH иммунофилины FKBP формулы VIIhh(i), VIIhh(ii) и VIIhh(iii), соответственно, или из формулы JJ иммунофилины FKBP формулы VIIjj(i), VIIff(ii) и VIIff(iii), соответственно.

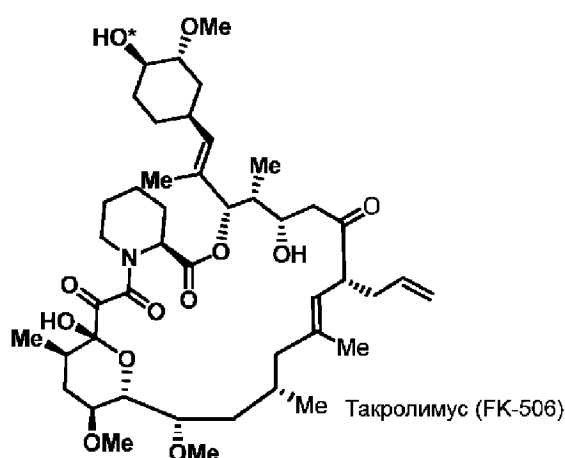
[197] В особенно предпочтительных вариантах осуществления звено лекарственного средства в любом одном формулы I, I', Ia, Ia', II, II', IIIa(i), IIIa(ii), IIIb(i), IIIb(ii), IIIc(i), IIIc(ii), Va, Vb, Vc, Va', Vb', Vc', VIa, VIb, VIc, VIa', VIb', VIc', VIa(i), VIa(ii), VIb(i), VIb(ii), VIc(i), VIc(ii), VIa(i)', VIa(ii)', VIb(i)', VIb(ii)', VIc(i)' и VIc(ii)' происходит из иммунофилина FKBP, эверолимуса, сиролимуса (рапамицина) или другого макролидного ингибитора эффекторной функции мишени рапамицина у млекопитающих (mTOR), который имеет гидроксильную функциональную группу, гетероатом кислорода которой способен ко встраиванию в звено МАК. Гетероатом гидроксильной функциональной группы, встроенный в звено МАК, обозначают как O* для такролимуса, эверолимуса и сиролимуса в следующих структурах.



Эверолимус



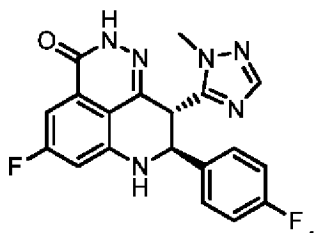
Сиролимус (рапамацин)



Такролимус (FK-506)

[198] В других вариантах осуществления звено лекарственного средства ADC или соединение лекарственного средства и линкера представляет тетрагидрохинолин-содержащее лекарственное средство, которое встроено в звено метиленкарбамата через его функциональную аминогруппу (т. е., ее анилин амина). В любом одном из вариантов осуществления формулы I, Ia, II, IIIa(i), IIIa(ii), IIIB(i), IIIB(ii), IIIC(i), IIIC(ii), Va, Vb, Vc, VIa, VIB, VIC, VIa(i), VIa(ii), VIB(i), VIB(ii), VIC(i) или VIC(ii), описанных в настоящем документе, T* представляет азот циклического амина (т. е. анилина), соответствующий тетрагидрохинолин-содержащему свободному лекарственному средству и, соответственно, включен в T* в виде необязательно замещенного азота. В этих вариантах осуществления ингибиторы PARP, структуры которых состоят из фрагмента тетрагидрохинолина, имеющего анилиновый азот, способный ко встраиванию в звено метиленкарбамата, являются

предпочтительными. В одном таком варианте осуществления ингибитор PARP имеет следующую структуру:



[199] В некоторых аспектах звено лекарственного средства представляет собой спиртосодержащее лекарственное средство, в котором гидроксильная функциональная группа спирта встроена в звено метиленкарбамата саморасщепляющегося сборочного звена через атом кислорода этой функциональной группы. В некоторых таких аспектах спирт лекарственного средства представляет собой алифатический спирт (например, первичный, вторичный или третичный спирт). В других таких аспектах лекарственное средство представляет собой ароматический спирт. В других вариантах осуществления лекарственное средство содержит аминную (например, первичный или вторичный алифатический или ароматический амин) функциональную группу, которая становится встроенной в звено метиленкарбамата саморасщепляющегося сборочного звена через необязательно замещенный гетероатом азота амина. В других вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой тиолосодержащее лекарственное средство и встраивание в звено метиленкарбамата саморасщепляющегося сборочного звена происходит через атом серы сульфгидрильной функциональной группы тиолосодержащего лекарственного средства. В других аспектах, лекарственное средство содержит амидную функциональную группу и встраивание в звено метиленкарбамата саморасщепляющегося сборочного звена происходит через необязательно замещенный гетероатом азота из амида, (например, карбоксамида).

[200] Существует множество различных анализов, которые можно использовать для определения проявления конъюгатом лекарственного средства и лиганда цитостатического или цитотоксического эффекта, оказываемого на клеточную линию. В одном из примеров для определения проявления конъюгатом

лекарственного средства и лиганда цитостатического или цитотоксического эффекта, оказываемого на клеточную линию, используют анализ встраивания тимидина. Например, клетки с плотностью 5000 клеток/лунка в 96-луночной планшете культивируют в течение 72-часового периода и подвергают 0,5 мкКи ³H-тимидина во время последних 8 часов 72-часового периода, и встраивание ³H-тимидина в клетки культуры измеряют в присутствии и отсутствии конъюгата лекарственного средства и лиганда. Конъюгат лекарственного средства и лиганда оказывает цитостатический или цитотоксический эффект на клеточную линию, если клетки культуры имеют сниженное встраивание ³H-тимидина по сравнению с клетками той же клеточной линии, культивируемыми в тех же условиях, но без контакта с конъюгатом лекарственного средства и лиганда.

[201] В другом примере для определения проявления конъюгатом лекарственного средства и лиганда цитостатического или цитотоксического эффекта, оказываемого на клеточную линию, жизнеспособность клеток измеряют посредством определения в клетке накопления красителя, такого как нейтральный красный, трипановый синий или ALAMAR™ синий (см., например, Page et al., 1993, Intl. J. of Oncology 3:473-476). В таком анализе клетки инкубируют в среде, содержащей краситель, клетки промывают и остающийся краситель, отражающий накопление красителя в клетках, измеряют спектрофотометрически. Краситель сульфородамин В (SRB), связывающийся с белками, также можно использовать для того, чтобы измерять цитотоксичность (Skehan et al., 1990, J. Nat'l Cancer Inst. 82:1107-12). Предпочтительные конъюгаты лекарственного средства и лиганда включают те, у которых значение IC₅₀ (определяемое как концентрация mAb, которая дает гибель 50% клеток) меньше чем 1000 нг/мл, предпочтительно меньше чем 500 нг/мл, более предпочтительно меньше чем 100 нг/мл, даже наиболее предпочтительно меньше чем 50 или даже меньше чем 10 нг/мл в клеточной линии.

[202] Основные процедуры для образования связи лекарственного средства с фрагментом линкера, чтобы

предоставлять соединение лекарственного средства и линкера, и конъюгации таких соединений с фрагментом лиганда, чтобы предоставлять конъюгат лекарственного средства и линкера, известны в данной области, и их можно использовать в комбинации со способами, описанными в настоящем документе. См., например, патенты США №№ 8163888, 7659241, 7498298, публикацию США № US20110256157 и международные заявки №№ WO 2011023883, и WO 2005112919.

Звено носителя (Z) или (Z'):

[203] Звено носителя (Z) представляет собой компонент LDC или соединения лекарственного средства и линкера или другого промежуточного соединения, которое действует для того, чтобы соединять звено лиганда с саморасщепляющимся сборочным звеном. В этом отношении звено носителя перед прикреплением к звену лиганда (т. е. предшественник звена носителя, Z') имеет функциональную группу, которая может образовывать связь с функциональной группой направленного лиганда. В аспектах, когда внутри линкерного звена имеет место ветвление, прикрепление к саморасщепляющемуся сборочному звену происходит через звено ветвления, В (необязательно через промежуточное соединительное звено, А). В аспектах, когда желательно предоставить больше расстояния между саморасщепляющимся сборочным звеном и звеном носителя, прикрепление саморасщепляющегося сборочного звена к В или Z, в зависимости от присутствия или отсутствия В, может происходить через соединительное звено (А).

[204] В некоторых аспектах, предшественник звена носителя (Z') имеет электрофильную группу, которая способна взаимодействовать с реакционноспособной нуклеофильной группой, присутствующей на звене лиганда (например, антители), чтобы предоставлять ковалентную связь между звеном лиганда и звеном носителя линкерного звена. Нуклеофильные группы на антители, обладающие такой способностью, включают, но не ограничиваясь этим, функциональные сульфгидрильные, гидроксильные и аминогруппы. Гетероатом нуклеофильной группы антителя способен к реакции с электрофильной группой на предшественнике звена носителя и предоставляет ковалентную связь между звеном лиганда

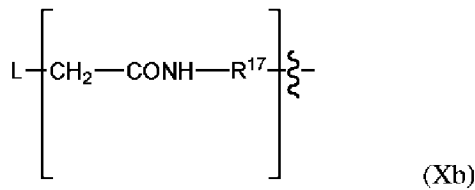
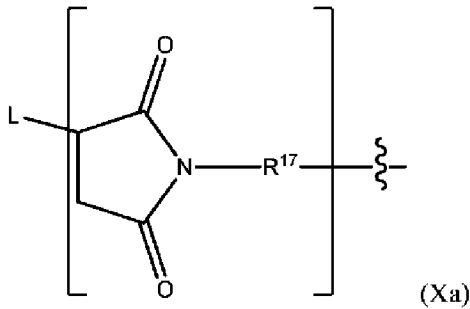
и звеном носителя линкерного звена или фрагментом лекарственное средство-линкер. Эффективные электрофильные группы с этой целью включают, но не ограничиваясь этим, малеимидные, галоацетамидные группы и сложные NHS эфиры. Электрофильная группа предоставляет удобный участок для прикрепления антитела, чтобы формировать LDC или промежуточное соединение лиганд-линкер.

[205] В другом варианте осуществления предшественник звена носителя имеет реакционный центр, который имеет нуклеофильную группу, которая способна к реакции с электрофильной группой, присутствующей на звене лиганда (например, антителе). Эффективные электрофильные группы на антителе с этой целью включают, но не ограничиваясь этим, альдегидные и кетонные карбонильные группы. Гетероатом нуклеофильной группы предшественника звена носителя может вступать в реакцию с электрофильной группой на антителе и образовывать ковалентную связь с антителом. Эффективные нуклеофильные группы на предшественнике звена носителя с этой целью включают, но не ограничиваясь этим, гидразид, гидроксилламин, амино, гидразин, тиосемикарбазон, гидразинкарбоксилат и арилгидразид. Электрофильная группа на антителе предоставляет удобный участок для прикрепления антитела, чтобы формировать LDC или промежуточное соединение лиганд-линкер.

[206] В некоторых вариантах осуществления атом серы звена лиганда связан с сукцинимидной кольцевой системой звена носителя, сформированного посредством реакции тиоловой функциональной группы направленного лиганда с фрагментом малеимида соответствующего предшественника звена носителя. В других вариантах осуществления тиоловая функциональная группа звена лиганда вступает в реакцию с фрагментом α -галоацетамида, чтобы предоставлять связанное с серой звено носителя посредством нуклеофильного замещения его галогенового заместителя.

[207] Репрезентативные звенья носителя по этим вариантам осуществления включают те, которые представлены в квадратных

скобках, формул Xa и Xb:



в которых волнистая линия обозначает прикрепление к звену ветвления (В) или соединительному звену (А), если В отсутствует, или саморасщепляющемуся сборочному звену (Х), если А и В отсутствуют, и R¹⁷ представляет собой -C₁-C₁₀ алкилен-, C₁-C₁₀ гетероалкилен-, -C₃-C₈ карбоцикло-, -O-(C₁-C₈ алкил)-, -арилен-, -C₁-C₁₀ алкилен-арилен-, -арилен-C₁-C₁₀ алкилен-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ карбоцикло)-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-, -C₃-C₈ гетероцикло-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-, -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-, -C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, C₁-C₁₀ гетероалкилен-C(=O)-, -C₃-C₈ карбоцикло-C(=O)-, -O-(C₁-C₈ алкил)-C(=O)-, -арилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-арилен-C(=O)-, -арилен-C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ карбоцикло)-C(=O)-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₃-C₈ гетероцикло-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-C(=O)-, -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-NH-, C₁-C₁₀ гетероалкилен-NH-, -C₃-C₈ карбоцикло-NH-, -O-(C₁-C₈ алкил)-NH-, -арилен-NH-, -C₁-C₁₀ алкилен-арилен-NH-, -арилен-C₁-C₁₀ алкилен-NH-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ карбоцикло)-NH-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-NH-, -C₃-C₈ гетероцикло-NH-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-NH-, -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-NH-, -C₁-C₁₀ алкилен-S-, C₁-C₁₀ гетероалкилен-S-, -C₃-C₈ карбоцикло-S-, -O-(C₁-C₈ алкил)-S-, -арилен-S-, -C₁-C₁₀ алкилен-арилен-S-, -арилен-C₁-C₁₀ алкилен-S-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈

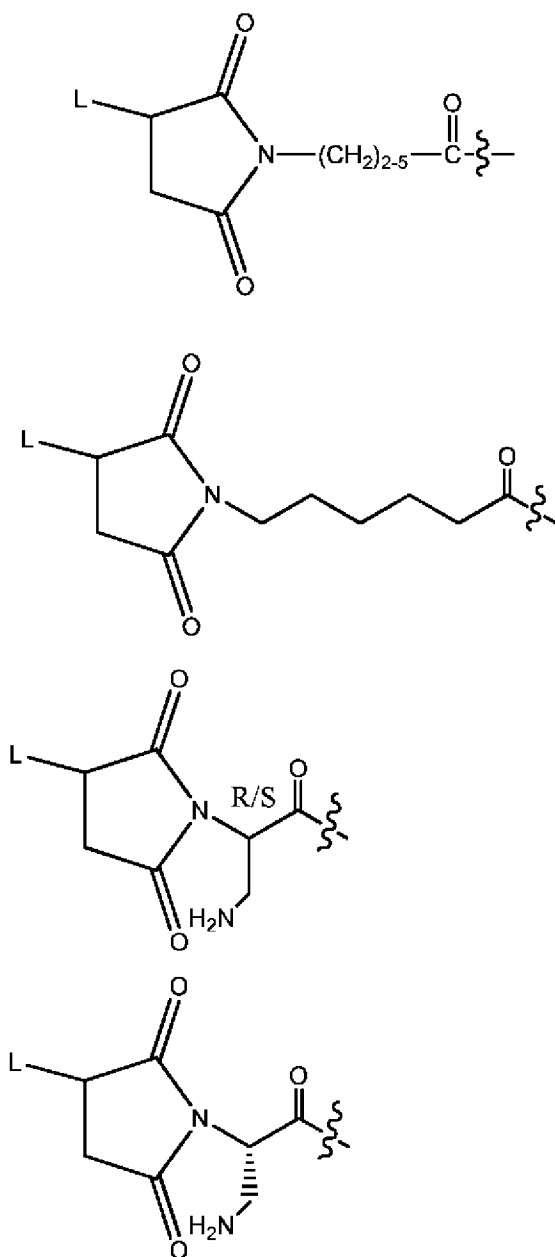
карбоцикло)-S-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-S-, -C₃-C₈ гетероцикло-S-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-S-, или -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-S-.

[208] В некоторых аспектах, группа R¹⁷ формулы Ха необязательно замещена основным звеном (BU), таким как аминоалкильный фрагмент, например, -(CH₂)_xNH₂, -(CH₂)_xNHR^a и -(CH₂)_xNR^a₂, в которых x представляет собой целое число от 1 до 4 и каждый R^a независимо выбирают из группы, состоящей из C₁₋₆ алкила и C₁₋₆ галоалкила, или две группы R^a комбинируют с азотом, к которому они присоединены, чтобы формировать азетидинильную, пирролидинильную или пиперидинильную группу.

[209] Иллюстративное звено носителя представляет собой таковое формулы Ха или Хb, в которых R¹⁷ представляет собой -C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ гетероалкилен-C(=O)-, -C₃-C₈ карбоцикло-C(=O)-, -O-(C₁-C₈ алкил)-C(=O)-, -арилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-арилен-C(=O)-, -арилен-C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ карбоцикло)-C(=O)-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₃-C₈ гетероцикло-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-C(=O)- или -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-.

[210] Другое иллюстративное звено носителя представляет собой таковое формулы Ха, в которой R¹⁷ представляет собой -C₂-C₅ алкилен-C(=O)-, в котором алкилен необязательно замещен основным звеном (BU), таким как необязательно замещенный аминоалкил, например, -(CH₂)_xNH₂, -(CH₂)_xNHR^{op} и -(CH₂)_xN(R^{op})₂, в которых x представляет собой целое число от 1 до 4 и каждый R^{op} независимо выбирают из группы, состоящей из C₁₋₆ алкила и C₁₋₆ галоалкила, или две группы R^{op} комбинируют с азотом, к которому они присоединены, чтобы формировать азетидинильную, пирролидинильную или пиперидинильную группу. Во время синтеза основную функциональную аминогруппу основного звена можно защищать с помощью защитной группы.

[211] Образцовые варианты осуществления звеньев носителя, связанных со звеном лиганда, представляют собой следующее:



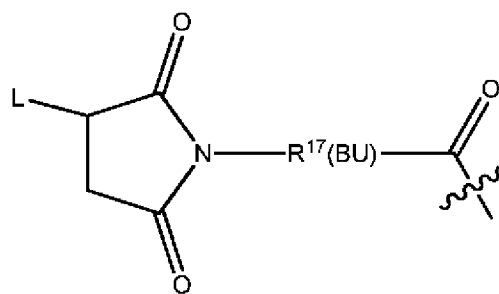
в которых волнистая линия смежно с карбонилем показывает прикрепление к В, А или Х саморасщепляющегося сборочного звена в формуле II, IIa, IIb, II', IIa' или IIb',

или к В, А или W формулы III(i), IIa(i), IIb(i), III(i)', IIIa(i)' или IIIb(i)',

или к В, А или Y формулы III(ii), IIa(ii), IIb(ii), III(ii)', IIIa(ii)' или IIIb(ii)',

в зависимости от присутствия или отсутствия А и/или В.

[212] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления звено носителя (Z) состоит из сукцинимидного фрагмента, который, когда связан с L, представлен структурой формулы Xa' :



(Xa'),

в которой волнистая линия смежно с карбонилем, связанным с R^{17} , обозначает прикрепление к В, А или Х саморасщепляющегося сборочного звена в формуле II, IIa, IIb, II', IIa' или IIb',

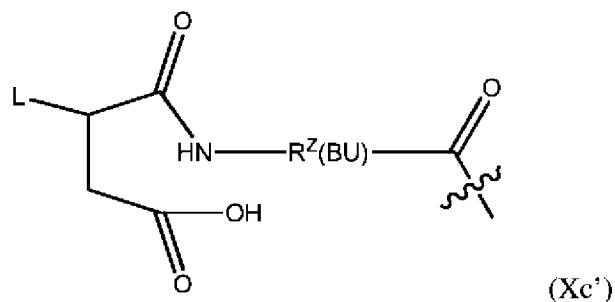
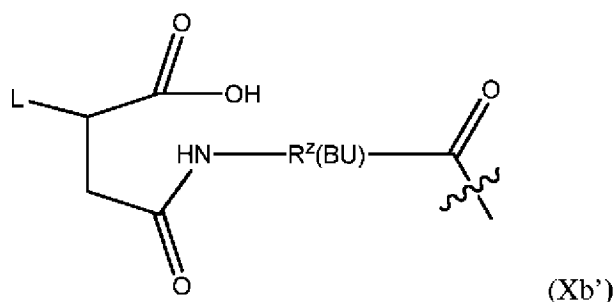
или к В, А или W формулы III(i), IIa(i), IIb(i), III(i)', IIIa(i)' или IIIb(i)',

или к В, А или Y формулы III(ii), IIa(ii), IIb(ii), III(ii)', IIIa(ii)' или IIIb(ii)',

в зависимости от присутствия или отсутствия А и/или В,

R^{17} представляет собой $-C_2-C_5$ алкилен- $C(=O)-$, в котором алкилен замещен основным звеном (BU), в котором BU представляет собой $-(CH_2)_xNH_2$, $-(CH_2)_xNHR^{op}$ или $-(CH_2)_xN(R^{op})_2$, в которых x представляет собой целое число от 1 до 4 и каждый R^a независимо выбирают из группы, состоящей из C_{1-6} алкила и C_{1-6} галоалкила или оба R^{op} вместе с азотом, к которому они присоединены, определяют азетидинильную, пирролидинильную или пиперидинильную группу.

[213] Понятно, что замещенный лигандом сукцинимид может существовать в гидролизованной форме (формах). Далее в качестве примера гидролиза Xa', связанной с L, приведены те формы, в которых структуры, представляющие региоизомеры из этого гидролиза, представляют собой формулы Xb' и Xc'. Соответственно, в других предпочтительных вариантах осуществления звено носителя (Z) состоит из фрагмента амида кислоты, который, когда связан с L, представляют с помощью следующего:



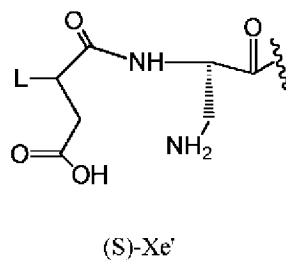
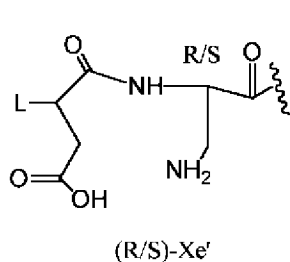
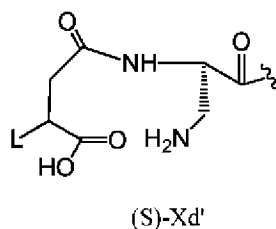
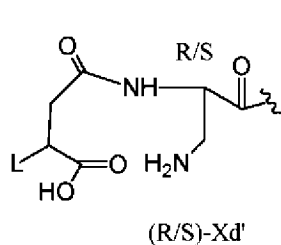
волнистая линия смежно с карбонилем, связанным с R^{17} , представляет собой то, что определено для Xa' ,

в зависимости от присутствия или отсутствия А и/или В; и

R^Z представляет собой $-C_2-C_5$ алкилен- $C(=O)-$, в котором алкилен замещен основным звеном (BU),

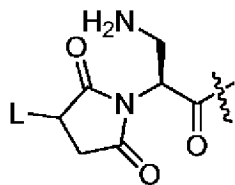
в котором BU представляет собой $-(CH_2)_xNH_2$, $-(CH_2)_xNHR^{op}$ или $-(CH_2)_xN(R^{op})_2$, в которых x представляет собой целое число от 1 до 4 и каждый R^{op} независимо выбирают из группы, состоящей из C_{1-6} алкила и C_{1-6} галоалкила, или оба R^{op} вместе с азотом, к которому они присоединены, определяет азетидинильную, пирролидинильную или пиперидинильную группу.

[214] В некоторых вариантах осуществления звено носителя (Z) состоит из фрагмента амида кислоты, который, когда связан с L, представлен структурой формулы Xd' или Xe' :

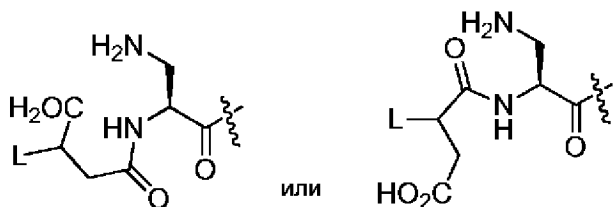


в которых волнистая линия смежно с карбонилем как определено для Ха'.

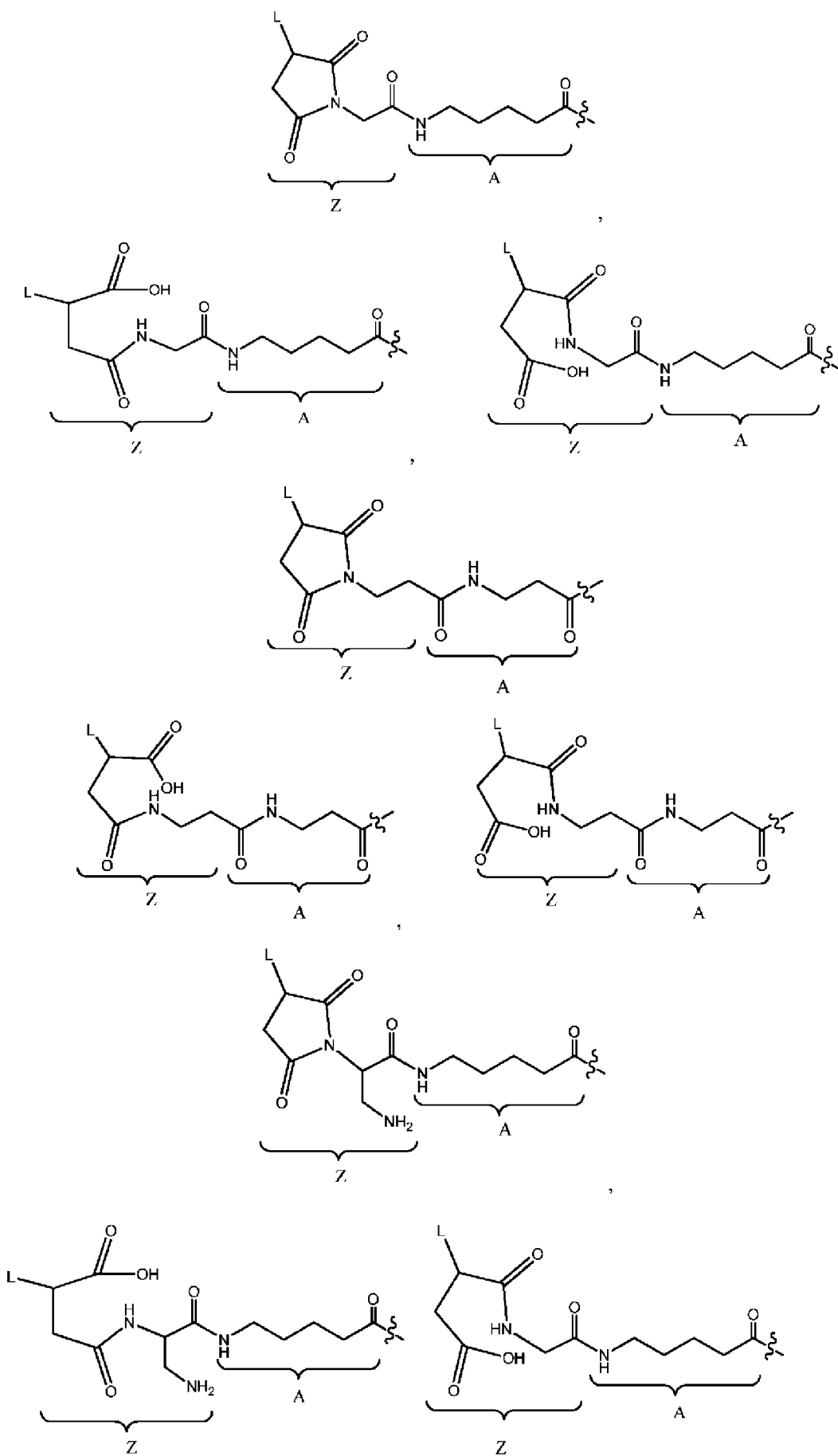
[215] В предпочтительных вариантах осуществления звено носителя (Z) состоит из сукцинимидного фрагмента, который, когда связан с L, представляют структурой



или состоит из фрагмента амида кислоты, который, когда связан с L, представляют структурой:



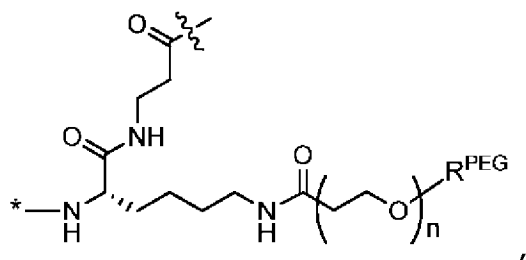
[216] Иллюстративные звенья носителя, связанные со звеном лиганда (L) и соединительным звеном (A), имеют следующие структуры, которые состоят из структуры из Ха, Ха', Хb' или Хс', в которых -R^z- или -R^z(BU)- представляют собой -CH₂-, -CH₂CH₂- или -CH(CH₂NH₂)-:



В КОТОРЫХ ВОЛНИСТАЯ ЛИНИЯ СМЕЖНО С КАРБОНИЛОМ КАК

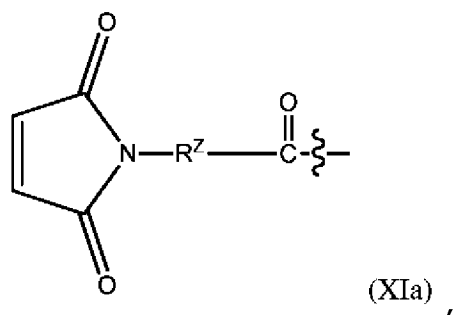
определено для Xa' .

[217] Другие звенья носителя, связанные со звеном лиганда (L) и соединительным звеном (A), имеют вышеприведенные структуры, в которых А в вышеприведенных структурах Z-A заменяют на соединительное звено, которое имеет структуру



в которой n находится в диапазоне от 8 до 24; R^{PEG} представляет собой блокирующую группу звена PEG, предпочтительно $-CH_3$ или $-CH_2CH_2CO_2H$, звездочка (*) обозначает ковалентное прикрепление к звену носителя, соответствующему по структуре формуле Xa , Xa' , Xb' или Xc' , и волнистая линия обозначает ковалентное прикрепление к X саморасщепляющегося сборочного звена.

[218] Иллюстративные звенья носителя перед конъюгацией со звеном лиганда (т. е., предшественники звена носителя) состоят из фрагмента малеимида и представлены структурами, включающими такие формулы XIa:

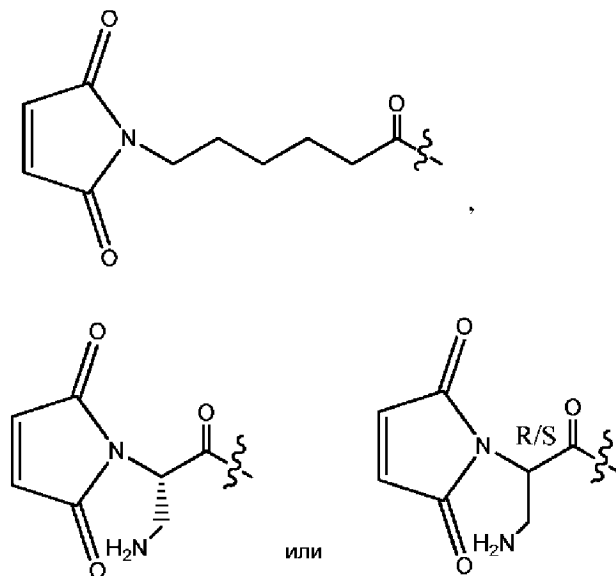


в которой волнистая линия смежно с карбонилем как определено для Xa' ; и

R^Z представляет собой $-(CH_2)_{2-5}-$, необязательно замещенный основным звеном, таким как необязательно замещенный аминоалкил, например, $-(CH_2)_xNH_2$, $-(CH_2)_xNHR^{op}$ и $-(CH_2)_xN(R^{op})_2$, в которых x представляет собой целое число от 1 до 4 и каждый R^{op} независимо выбирают из группы, состоящей из C_{1-6} алкила и C_{1-6} галоалкила, или две группы R^{op} комбинируют с азотом, к которому они

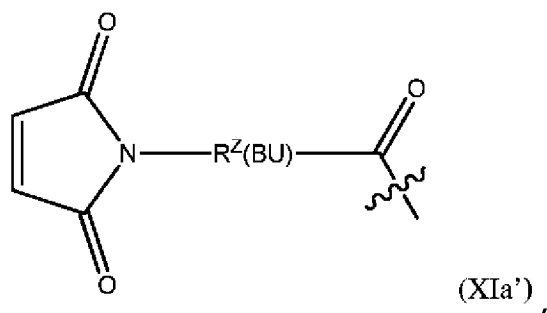
присоединены, чтобы формировать азетидинильную, пирролидинильную или пиперидинильную группу.

[219] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления формулы XIa, предшественник звена носителя (Z') представляют одной из следующих структур:



в которых волнистая линия смежно с карбонилем как определено для Ха'.

[220] В других предпочтительных вариантах осуществления предшественник звена носителя (Z') состоит из фрагмента малеимида и представлен структурой формулы XIa' :

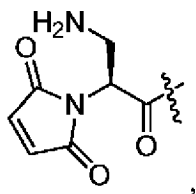


в которой волнистая линия смежно с карбонилем, связанным с R¹⁷, представляет собой то, что определено для Ха'; и

R² представляет собой -C₂-C₅ алкилен-C(=O)-, в котором алкилен замещен основным звеном (BU), в котором BU представляет собой -(CH₂)_xNH₂, -(CH₂)_xNHR^{op} или -(CH₂)_xN(R^{op})₂, в которых x представляет собой целое число от 1 до 4 и каждый R^{op} независимо выбирают из группы, состоящей из C₁₋₆ алкила и C₁₋₆ галоалкила, или оба R^{op} вместе с азотом, к которому они присоединены,

определяют азетидинильную, пирролидинильную или пиперидинильную группу.

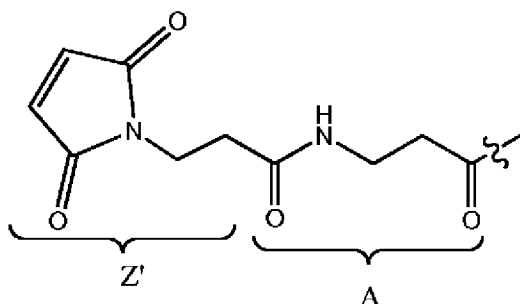
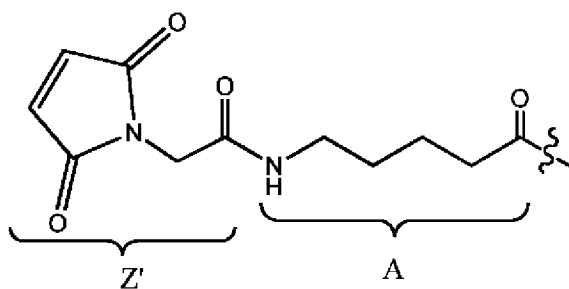
[221] В более предпочтительных вариантах осуществления предшественник звена носителя (Z') состоит из фрагмента малеимида, и его представляют структурой:

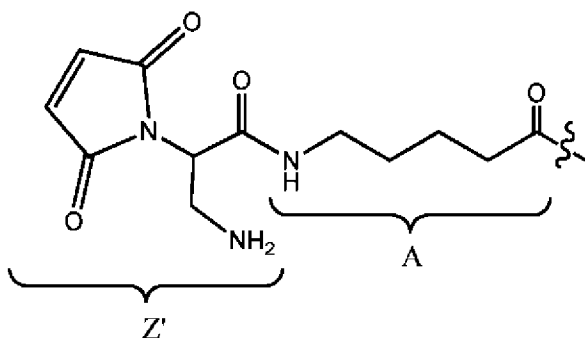


в которой волнистая линия смежно с карбонилем как определено для Xa' .

[222] Понятно, что в звеньях носителя, имеющих фрагмент BU, функциональная аминогруппа этого фрагмента может быть защищена с помощью защитной аминогруппы во время синтеза, например, кислотнo-неустойчивой защитной группой (например, BOC).

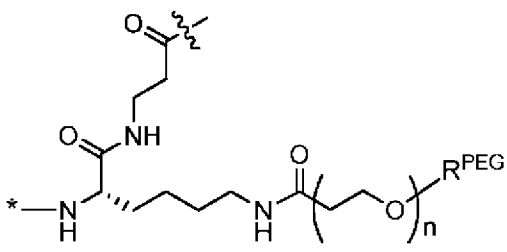
[223] Иллюстративные предшественники звена носителя, ковалентно прикрепленного к соединительному звену, которые состоят из структуры из XIa или XIa' , в которых $-R^2-$ или $-R^2(BU)-$ представляют собой $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$ или $-CH(CH_2NH_2)-$, имеют следующие структуры:





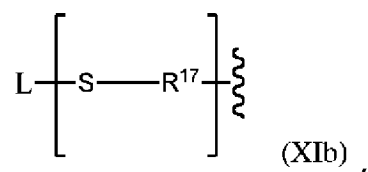
в которых волнистая линия смежно с карбонилем как определено для Ха'.

[224] Другие предшественники звена носителя, связанные с соединительным звеном (А), имеют вышеприведенные структуры, в которых А в вышеприведенных структурах Z'-А заменяют соединительным звеном, имеющим структуру



в которой n находится в диапазоне от 8 до 24; R^{PEG} представляет собой блокирующую группу звена PEG, предпочтительно -CH₃ или -CH₂CH₂CO₂H, звездочка (*) обозначает ковалентное прикрепление к предшественнику звена носителя, соответствующему по структуре формуле XIa или XIa' и волнистая линия обозначает ковалентное прикрепление к X саморасщепляющегося сборочного звена.

[225] В другом варианте осуществления звено носителя прикрепляют к звену лиганда через дисульфидную связь между атомом серы звена лиганда и атомом серы звена носителя. Репрезентативное звено носителя по этому варианту осуществления изображено в квадратных скобках формулы XIb:

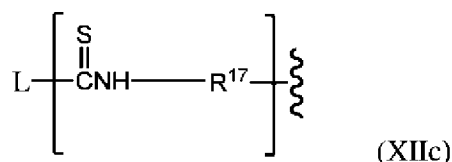
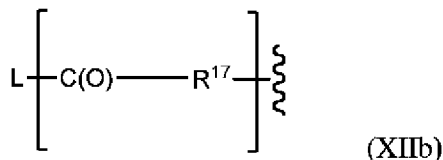
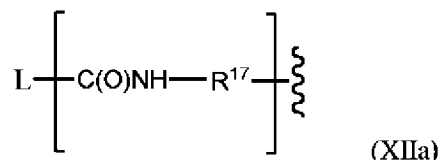


в которой волнистая линия обозначает прикрепление к звену ветвления (В), соединительному звену (А), если В отсутствует,

или саморасщепляющемуся фрагменту (X) саморасщепляющегося сборочного звена, если А и В отсутствуют, как определено в настоящем документе, и R¹⁷ представляет собой -C₁-C₁₀ алкилен-, -C₁-C₁₀ гетероалкилен-, -C₃-C₈ карбоцикло-, -O-(C₁-C₈ алкил)-, -ариллен-, -C₁-C₁₀ алкилен-ариллен-, -ариллен-C₁-C₁₀ алкилен-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ карбоцикло)-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-, -C₃-C₈ гетероцикло-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-, -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-, -C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ гетероалкилен-C(=O)-, -C₃-C₈ карбоцикло-C(=O)-, -O-(C₁-C₈ алкил)-C(=O)-, -ариллен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-ариллен-C(=O)-, -ариллен-C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ карбоцикло)-C(=O)-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₃-C₈ гетероцикло-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-C(=O)-, -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-NH-, C₁-C₁₀ гетероалкилен-NH-, -C₃-C₈ карбоцикло-NH-, -O-(C₁-C₈ алкил)-NH-, -ариллен-NH-, -C₁-C₁₀ алкилен-ариллен-NH-, -ариллен-C₁-C₁₀ алкилен-NH-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ карбоцикло)-NH-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-NH-, -C₃-C₈ гетероцикло-NH-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-NH-, -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-NH-, -C₁-C₁₀ алкилен-S-, -C₁-C₁₀ гетероалкилен-S-, -C₃-C₈ карбоцикло-S-, -O-(C₁-C₈ алкил)-S-, -ариллен-S-, -C₁-C₁₀ алкилен-ариллен-S-, -ариллен-C₁-C₁₀ алкилен-S-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ карбоцикло)-S-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-S-, -C₃-C₈ гетероцикло-S-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-S- или -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-S-.

[226] В еще одном другом варианте осуществления реакционноспособная группа предшественника звена носителя содержит реакционный центр, который может образовывать связь с первичной или вторичной аминогруппой звена лиганда. Примеры этих реакционных центров включают, но не ограничиваясь этим, активированные сложные эфиры, такие как сложные сукцинимидные эфиры, сложные эфиры 4-нитрофенилов, сложные эфиры пентафторфенила, сложные эфиры тетрафторфенила, ангидриды, хлорангидриды, сульфонилхлориды, изоцианаты и изотиоцианаты. Репрезентативные звенья носителя по этому варианту осуществления изображены в квадратных скобках формул XIIa, XIIb

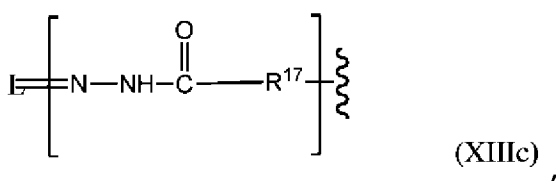
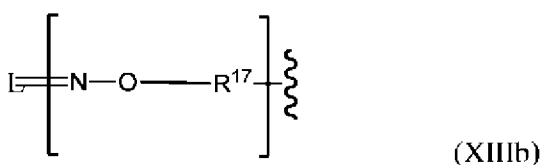
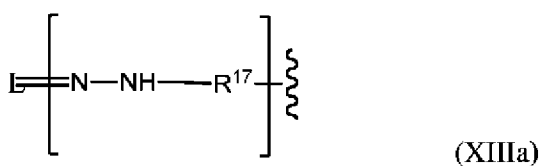
и XIIc:



в которых волнистая линия обозначает прикрепление к звену ветвления (B), соединительному звену (A) или саморасщепляющемуся фрагменту (X) саморасщепляющегося сборочного звена и R¹⁷ представляет собой -C₁-C₁₀ алкилен-, -C₁-C₁₀ гетероалкилен-, -C₃-C₈ карбоцикло-, -O-(C₁-C₈ алкил)-, -арилен-, -C₁-C₁₀ алкилен-арилен-, -арилен-C₁-C₁₀ алкилен-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ карбоцикло)-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-, -C₃-C₈ гетероцикло-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-, -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-, -C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ гетероалкилен-C(=O)-, -C₃-C₈ карбоцикло-C(=O)-, -O-(C₁-C₈ алкил)-C(=O)-, -арилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-арилен-C(=O)-, -арилен-C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ карбоцикло)-C(=O)-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₃-C₈ гетероцикло-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-C(=O)-, -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-NH-, C₁-C₁₀ гетероалкилен-NH-, -C₃-C₈ карбоцикло-NH-, -O-(C₁-C₈ алкил)-NH-, -арилен-NH-, -C₁-C₁₀ алкилен-арилен-NH-, -арилен-C₁-C₁₀ алкилен-NH-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ карбоцикло)-NH-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-NH-, -C₃-C₈ гетероцикло-NH-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-NH-, -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-NH-, -C₁-C₁₀ алкилен-S-, -C₁-C₁₀ гетероалкилен-S-, -C₃-C₈ карбоцикло-S-, -O-(C₁-C₈ алкил)-S-, -арилен-S-, -C₁-C₁₀ алкилен-арилен-S-, -арилен-C₁-C₁₀ алкилен-S-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ карбоцикло)-S-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-S-, -C₃-C₈

гетероцикло-S-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-S- или -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-S-.

[227] В еще одном аспекте реакционноспособная группа предшественника звена носителя содержит реакционноспособный нуклеофил, который способен вступать в реакцию с электрофилом, присутствующим на лиганде или введенным в него. Например, молекула углевода на направленном лиганде может быть умеренно окислена с использованием такого реактива, как периодат натрия, и получаемую электрофильную функциональную группу (-CHO) окисленного углевода можно конденсировать с предшественником звена носителя, который содержит реакционноспособный нуклеофил, такой как гидразид, оксим, первичный или вторичный амин, гидразин, тиосемикарбазон, гидразинкарбоксилат или арилгидразид, такие как те, которые описаны у Kaneko, T. et al. (1991) Bioconjugate Chem. 2:133 41. Репрезентативные звенья носителя по этому варианту осуществления изображены в квадратных скобках формул XIIIa, XIIIb и XIIIc:



в которых волнистая линия обозначает прикрепление к звену ветвления или саморасщепляющемуся сборочному звену или соединительному звену, как определено в настоящем документе, и R¹⁷ представляет собой -C₁-C₁₀ алкилен-, C₁-C₁₀ гетероалкилен-, -C₃-C₈ карбоцикло-, -O-(C₁-C₈ алкил)-, -арилен-, -C₁-C₁₀ алкилен-арилен-, -арилен-C₁-C₁₀ алкилен-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ карбоцикло)-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-, -C₃-C₈ гетероцикло-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-, -(C₃-C₈

гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-, -C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, C₁-C₁₀ гетероалкилен-C(=O)-, -C₃-C₈ карбоцикло-C(=O)-, -O-(C₁-C₈ алкил)-C(=O)-, -арилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-арилен-C(=O)-, -арилен-C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ карбоцикло)-C(=O)-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₃-C₈ гетероцикло-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-C(=O)-, -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-NH-, -C₁-C₁₀ гетероалкилен-NH-, -C₃-C₈ карбоцикло-NH-, -O-(C₁-C₈ алкил)-NH-, -арилен-NH-, -C₁-C₁₀ алкилен-арилен-NH-, -арилен-C₁-C₁₀ алкилен-NH-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ карбоцикло)-NH-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-NH-, -C₃-C₈ гетероцикло-NH-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-NH-, -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-NH-, -C₁-C₁₀ алкилен-S-, -C₁-C₁₀ гетероалкилен-S-, -C₃-C₈ карбоцикло-S-, -O-(C₁-C₈ алкил)-S-, -арилен-S-, -C₁-C₁₀ алкилен-арилен-S-, -арилен-C₁-C₁₀ алкилен-S-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ карбоцикло)-S-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-S-, -C₃-C₈ гетероцикло-S-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-S-, или -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-S-.

[228] В некоторых аспектах настоящего изобретения звено носителя имеет массу не больше чем приблизительно 1000 дальтонов, не больше чем приблизительно 500 дальтонов, не больше чем приблизительно 200 дальтонов, приблизительно от 30, 50 или 100 дальтонов приблизительно до 1000 дальтонов, приблизительно от 30, 50 или 100 дальтонов приблизительно до 500 дальтонов или приблизительно от 30, 50 или 100 дальтонов приблизительно до 200 дальтонов.

Необязательное звено ветвления (B):

[229] Звено ветвления (B) включено в конъюгаты лекарственного средства и лиганда в случаях, где желательно иметь множество саморасщепляющихся сборочных звеньев в линкерном звене и, таким образом, иметь множество звеньев лекарственного средства для каждого фрагмента лекарственное средство-линкер, прикрепленного к звену лиганда в LDC и, в конечном итоге, увеличивать число звеньев лекарственного средства в LDC за пределами множества участков прикрепления в его звене лиганда. Звено ветвления предоставляет ковалентную

связь между В и звеном носителя (Z) или его предшественником (Z') и двумя, тремя или четырьмя саморасщепляющимися (CP) сборочными звеньями, необязательно каждое через независимо выбранное промежуточное соединительное звено, А. Специалист в данной области примет во внимание, что звено ветвления разрабатывают таким образом, чтобы сделать возможным необходимое ветвление в пределах линкерного звена. Например, для того, чтобы действовать в качестве звена ветвления для двух звеньев лекарственного средства (т. е., t равно 2), звено ветвления имеет по меньшей мере первый, второй и третий участок прикрепления в пределах конъюгата (т. е., первый участок прикрепления к Z и второй и третий участок прикрепления для прикрепления к каждому А или X, в зависимости от присутствия или отсутствия каждого А. Другими словами, звено ветвления должно быть по меньшей мере трехфункциональным.

[230] В настоящем изобретении рассмотрены те LDC и соединения лекарственного средства и линкера, в которых нижний индекс t равен 3 или 4. В таких аспектах, звено ветвления будет иметь четыре или пять участков ковалентного прикрепления в пределах конъюгата. В некоторых аспектах, звено ветвления состоит из одной или нескольких (например, от 1 до 10, предпочтительно от 1 до 5, например, 1, 2, 3, 4 или 5) природных или неприродных остатков аминокислот, аминоспиртов, аминоальдегидов или полиаминов или их сочетания, которые совместно обеспечивают необходимую функциональность для ветвления. В определенном варианте осуществления звено ветвления состоит из трехфункционального остатка и может иметь фланкирующие остатки, которые являются бифункциональными, чтобы предоставлять первый и второй участки прикрепления. В вариантах осуществления, имеющих ветвление для того, чтобы вмещать 3 или 4 звена лекарственного средства в одном линкерном звене, звенья ветвления типично состоят из 2 или 3 трехфункциональных ветвящихся остатков, и дополнительно могут состоять из фланкирующих и/или промежуточных остатков, которые являются бифункциональными.

[231] Следует принимать во внимание, что когда упоминают о

природных или неприродных аминокислотах, аминоспиртах, аминоальдегидах или полиаминах в качестве присутствующих в конъюгате лекарственного средства и лиганда или их промежуточных соединениях, таких как соединение лекарственного средства и линкера (будь то часть звена ветвления или другого компонента LDC или его промежуточного соединения лекарственное средство-линкер), аминокислота, аминоспирт, аминоальдегид или полиамины должны существовать в форме остатков. Например, в вариантах осуществления, в которых звено ветвления представляет собой две аминокислоты, две аминокислоты должны существовать в виде остатков с пептидной связью между ними.

[232] В вариантах осуществления, где звено ветвления состоит из аминоспирта, аминоспирт должен существовать в виде остатка, где, например, его аминогруппа связана с другим остатком звена ветвления или другим компонентом LDC или его промежуточного соединения лекарственное средство-линкер через карбонил-содержащую функциональную группу этого другого остатка/компонента, тогда как его гидроксильная группа связана в виде простого эфира с, или связана через карбонил-содержащую функциональную группу, еще одного другого остатка звена ветвления или другого компонента LDC или его промежуточного соединения лекарственное средство-линкер.

[233] В вариантах осуществления, где звено ветвления состоит из аминоальдегида, аминоальдегид должен существовать в виде остатка, где, например, его аминогруппа связана с другим остатком звена ветвления или другим компонентом LDC или его промежуточного соединения через карбонил-содержащую функциональную группу этого другого остатка/компонента, тогда как его альдегидную функциональную группу превращают в функциональную иминогруппу или через ее последующее восстановление, чтобы предоставить связь азот-углерод, когда связь образована с аминогруппой еще одного другого остатка звена ветвления или другого компонента конъюгата. Аминоальдегид можно получать из природной или неприродной аминокислоты посредством частичного восстановления ее функциональной группы карбоновой кислоты до альдегидной (т. е., $-CHO$) функциональной

группы.

[234] Чтобы иметь третью функциональную группу для выполнения функции трехфункционального ветвящего остатка в звене ветвления, аминокислота или другой аминокислотный остаток в звене ветвления может иметь или может быть замещенным функционализированной боковой цепью, чтобы предоставлять необходимые три точки прикрепления, которые нужны для такого ветвящего остатка. Например, серин имеет три функциональные группы, т. е., кислотную, аминную и гидроксильную функциональные группы, и его можно рассматривать как комбинированный остаток аминокислоты и аминспирта в целях действия в качестве звена ветвления. Тирозин также содержит гидроксильную группу, в этом случае в его фенольной боковой цепи, и его также можно рассматривать аналогично серину в целях его встраивания в качестве трехфункционального ветвящего остатка в звено ветвления.

[235] В другом примере, когда трехфункциональный ветвящийся остаток звена ветвления представляет собой цистеин, его аминогруппа и группа карбоновой кислоты будет существовать в форме остатка таким образом, который предварительно рассмотрен для аминокислот или аминокислот, чтобы предоставлять две из трех необходимых точек прикрепления для ветвящего остатка, тогда как его тиоловая группа будет существовать в форме остатка, когда связана с фрагментом $-X-D$ или $-A-X-D$ линкерного звена, в виде дисульфида или в связи сера-углерод, например, когда тиоловая функциональная группа цистеина вступает в реакцию с малеимид-содержащим фрагментом предшественника соединительного звена. В некоторых случаях остаточная тиоловая группа находится в ее окисленной форме (т. е., $-S(=O)-$ или $-S(=O)_2-$), когда связана с другим остатком звена ветвления или с другим компонентом линкерного звена. В еще одном другом примере α аминогруппа и группа карбоновой кислоты лизина будет существовать в форме остатка, чтобы предоставлять две из трех требуемых точек прикрепления, которые необходимы в ветвящем остатке звена ветвления, тогда как ее ϵ

аминогруппа в форме ее остатка предоставляет третью точку прикрепления. Гистидин также можно рассматривать как аминокислоту с двумя аминогруппами, где вторая аминогруппа представляет собой NH имидазолосодержащей боковой цепи.

[236] В другом примере, когда трехфункциональный ветвящийся остаток звена ветвления представляет собой аспарагиновую или глутаминовую кислоту, α аминогруппа и группа С-концевой карбоновой кислоты из аминокислоты в формах их остатков предоставляют две из трех требуемых точек прикрепления, которые необходимы для ветвящего остатка звена ветвления, тогда как ее группа β или γ карбоновой кислоты в форме ее остатка предоставляет третью точку прикрепления. В тех случаях, когда встречающаяся в природе аминокислота представляет собой остаток звена ветвления, но в природе не содержит функционализированную боковую цепь аминокислоты, и все еще нужно, чтобы был трехфункциональный ветвящийся остаток внутри звена ветвления, понятно, что структуру аминокислоты модифицируют, чтобы иметь дополнительную функциональную группу помимо ее функциональных аминогруппы и группы карбоновой кислоты, когда в форме остатка, чтобы предоставлять требуемую третью точку прикрепления. Например, аминокислота, которая имеет алифатическую боковую цепь, может быть замещенной по углероду боковой цепи функциональной гидроксильной, амино-, альдегидной, тиоловой группой, группой карбоновой кислоты или другой группой или другим фрагментом (например, арил или арилалкил), замещенным любой одной из этих функциональных групп, чтобы предоставлять неприродную аминокислоту, которая имеет требуемые три точки прикрепления. Такие неприродные аминокислоты встраивают в звено ветвления, как описано выше для аминокислот и форм остатков введенных функциональных групп.

[237] Аналогичным образом, когда аминокальдегид или аминоспирт встраивают в звено ветвления в качестве трехфункционального ветвящего остатка, этот аминокальдегид или аминоспирт будет иметь третью функциональную группу, чтобы предоставлять, наряду с его функциональными амино группы и

альдегидными группами, требуемые три точки прикрепления. В этих случаях аминокальдегид или аминокспирт может соответствовать по структуре природной аминокислоте, которая имеет функционализированную боковую цепь, или неприродной аминокислоте, которая имеет функциональную группу, которая введена в боковую цепь природной аминокислоты, как описано выше, в которой карбоновая кислота природной или неприродной аминокислоты восстановлена до гидроксильной или альдегидной функциональной группы.

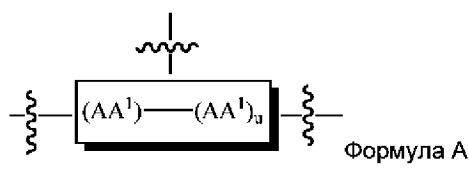
[238] Аминокислота, встроенная в звено ветвления в качестве трехфункционального ветвящего остатка, может представлять собой α , β или γ аминокислоту или другое соединение аминокислоты, и может являться своим D или L изомером, если она содержит хиральный углерод, с которым связана боковая цепь природной или неприродной аминокислоты. Когда звено ветвления состоит из больше чем одного остатка природной или неприродной аминокислоты, аминокспирта, аминокальдегида или полиамина, остатков аминокислот, аминокспиртов, аминокальдегидов, полиаминов или их сочетаний, в которых по меньшей мере один из этих остатков является трехфункциональным ветвящим остатком, эти остатки связаны вместе через ковалентные связи, чтобы формировать звено ветвления.

[239] Аминокислота, аминокспирт или аминокальдегид могут быть неприродными, и их можно модифицировать, чтобы иметь функционализированную боковую цепь для прикрепления к компонентам конъюгатов или промежуточных соединений (как описано выше для ветвящего остатка звена ветвления), в зависимости от случая. Образцовые функционализированные аминокислоты, аминокспирты или аминокальдегиды включают, например, функционализированные азидами или алкинами аминокислоты, аминокспирты или аминокальдегиды (например, аминокислоту, аминокспирт или аминокальдегид, модифицированный для того, чтобы иметь азидную группу или алкиновую группу для прикрепления с использованием клик-химии). Способы независимой

активации и проведения реакций функциональных групп, присутствующих на аминокислотах, например, аминной части, части карбоновой кислоты и части боковой цепи (будь то, например, аминокислотный фрагмент, гидроксильная группа, другая карбоновая кислота, тиол, азид или алкин), хорошо известны в данной области.

[240] Звено ветвления может содержать 1 или больше (типично от 1 до 5 или от 1 до 4 или от 1 до 3 или 1 или 2) аминокислот, необязательно замещенных C_{1-20} гетероалкиленов (предпочтительно необязательно замещенный C_{1-12} гетероалкилен), необязательно замещенных C_{3-8} гетероцикло, необязательно замещенных C_{6-14} ариленов, необязательно замещенных C_{3-8} карбоцикло или их сочетания. В некоторых вариантах осуществления звено ветвления содержит не больше чем 2 или не больше чем один необязательно замещенный C_{1-20} гетероалкилен, необязательно замещенный C_{3-8} гетероцикло, необязательно замещенный C_{6-14} арилен или необязательно замещенный C_{3-8} карбоцикло. Необязательные заместители включают $(=O)$, $-X$, $-R$, $-OR$, $-SR$, $-NR^2$, $-NR^3$, $=NR$, $-CX_3$, $-CN$, $-OCN$, $-SCN$, $-N=C=O$, $-NCS$, $-NO$, $-NO_2$, $=N_2$, $-N_3$, $-NRC(=O)R$, $-C(=O)R$, $-C(=O)NR^2$, $-SO_3^-$, $-SO_3H$, $-S(=O)_2R$, $-OS(=O)_2OR$, $-S(=O)_2NR$, $-S(=O)R$, $-OP(=O)(OR)_2$, $-P(=O)(OR)_2$, $-PO^=3$, $-PO_3H_2$, $-AsO_2H_2$, $-C(=O)R$, $-C(=O)X$, $-C(=S)R$, $-CO_2R$, $-CO_2^-$, $-C(=S)OR$, $-C(=O)SR$, $-C(=S)SR$, $-C(=O)NR^2$, $-C(=S)NR^2$ или $-C(=NR)NR^2$, где каждый X представляет собой независимо галоген: $-F$, $-Cl$, $-Br$ или $-I$; и каждый R независимо представляет собой водород или $-C_1-C_{20}$ алкил, $-C_6-C_{20}$ арил, или $-C_3-C_{14}$ гетероцикл, необязательно замещенный, или защитную группу или фрагмент пролекарственного средства. Предпочтительные необязательные заместители представляют собой $(=O)$, $-X$, $-R$, $-OR$, $-SR$ и $-NR^2$. Понятно, что такие фрагменты, действующие в качестве ветвящего остатка будут замещены с использованием функциональности для предоставления необходимых участков прикрепления.

[241] Звено ветвления или ветвящий остаток звена ветвления может представлять собой неразветвленную цепь или разветвленную цепь и может быть представлен формулой А:



в которой

AA¹ представляет собой подзвено звена ветвления, независимо выбранное из аминокислоты, необязательно замещенного C₁₋₂₀ гетероалкилена (предпочтительно необязательно замещенного C₁₋₁₂ гетероалкилена), необязательно замещенного C₃₋₈ гетероцикло, необязательно замещенного C₆₋₁₄ арилена или необязательно замещенного C₃₋₈ карбоцикло;

и нижний индекс u независимо выбирают из от 0 до 4; и волнистая линия обозначает участки ковалентного прикрепления в конъюгате лекарственного средства и лиганда или его промежуточном соединении лекарственное средство-линкер. Необязательно замещенный гетероалкилен, гетероцикл, арилен или карбоцикло будет иметь функциональные группы для скрепления между подзвеньями звена ветвления и внутри конъюгата лекарственного средства и лиганда или его промежуточного соединения лекарственное средство-линкер, которое имеет это звено ветвления.

[242] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один экземпляр AA¹ представляет собой аминокислоту. Нижний индекс u может быть равен 0, 1, 2, 3 или 4. В некоторых вариантах осуществления AA¹ представляет собой аминокислоту и u равен 0. В некоторых вариантах осуществления звено ветвления состоит из не больше чем 2 необязательно замещенных C₁₋₂₀ гетероалкиленов, необязательно замещенных C₃₋₈ гетероцикло, необязательно замещенных C₆₋₁₄ ариленов или необязательно замещенных C₃₋₈ карбоцикло. В некоторых аспектах, в которых звено ветвления имеет формулу А, звено ветвления содержит не больше чем 1 необязательно замещенный C₁₋₂₀ гетероалкилен, необязательно замещенный C₃₋₈ гетероцикло, необязательно замещенный C₆₋₁₄ арилен или необязательно замещенный C₃₋₈ карбоцикло.

[243] Звено ветвления или его аминокислотное подзвено

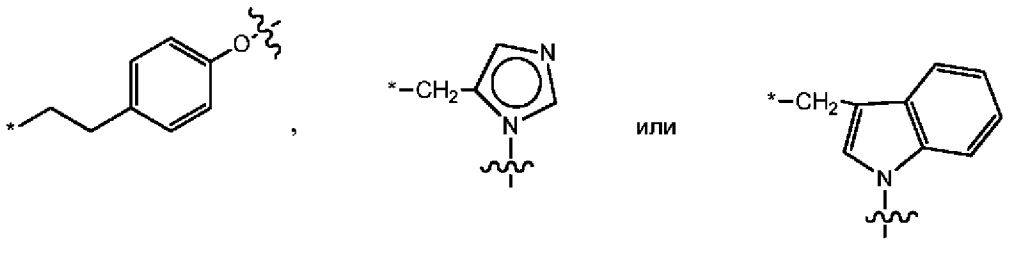
может представлять собой α , β или γ аминокислоту и может быть природным или неприродным. Аминокислота может представлять собой D или L изомер. Прикрепление внутри звена ветвления или с использованием других компонентов LDC или его промежуточного соединения лекарственное средство-линкер может происходить, например, через аминную, карбоксильную или другие функциональные группы. Способы независимой активации и проведения реакций функциональных групп хорошо известны в данной области.

[244] Звено ветвления или его аминокислотное подзвено можно независимо выбирать из D или L изомера тиолосодержащей аминокислоты. Тиолосодержащей аминокислотой может быть, например, цистеин, гомоцистеин или пеницилламин.

[245] Звено ветвления или его аминокислотное подзвено можно независимо выбирать из группы, состоящей из L- или D-изомеров следующих аминокислоты: 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, В-аланин, аминоалкиновая кислота, аминоалкандиовая кислота, гетероциклокарбоновая кислота, цитруллин, статин, диаминоалкановая кислота и их производные.

[246] 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.

[247] В некоторых вариантах осуществления, в которых звено ветвления способно соединять два саморасщепляющихся сборочных звена со звеном носителя (каждое необязательно через независимо выбранное соединительное звено, А), звено ветвления, после сборки, имеет формулу, приведенную далее:



в которых звездочка обозначает прикрепление к углероду, помеченному x , и волнистая линия обозначает один из участков прикрепления;

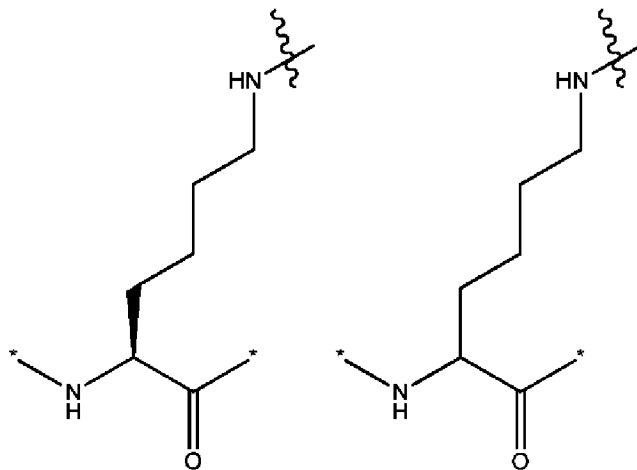
каждый R^{100} независимо выбирают из водорода или $-C_1-C_3$ алкила, предпочтительно водорода или CH_3 ;

Y независимо выбирают из N или CH;

каждый Y' независимо выбирают из NH, O или S; и

нижний индекс s представляет собой целое число, независимо выбранное из от 1 до 10, предпочтительно от 1 до 3.

[248] Образцовое звено ветвления или трехфункциональный ветвящийся остаток в звене ветвления представляет собой лизин, как показано ниже, в котором волнистая линия и звездочки показывают ковалентную связь внутри линкерного звена из LDC или его промежуточного соединения лекарственное средство-линкер:



[249] В некоторых аспектах настоящего изобретения звено ветвления имеет массу не больше чем приблизительно 1000 дальтонов, не больше чем приблизительно 500 дальтонов, не больше чем приблизительно 200 дальтонов, приблизительно от 10, 50 или 100 дальтонов приблизительно до 1000 дальтонов, приблизительно от 10, 50 или 100 дальтонов приблизительно до 500 дальтонов или приблизительно от 10, 50 или 100 дальтонов

приблизительно до 200 дальтонов.

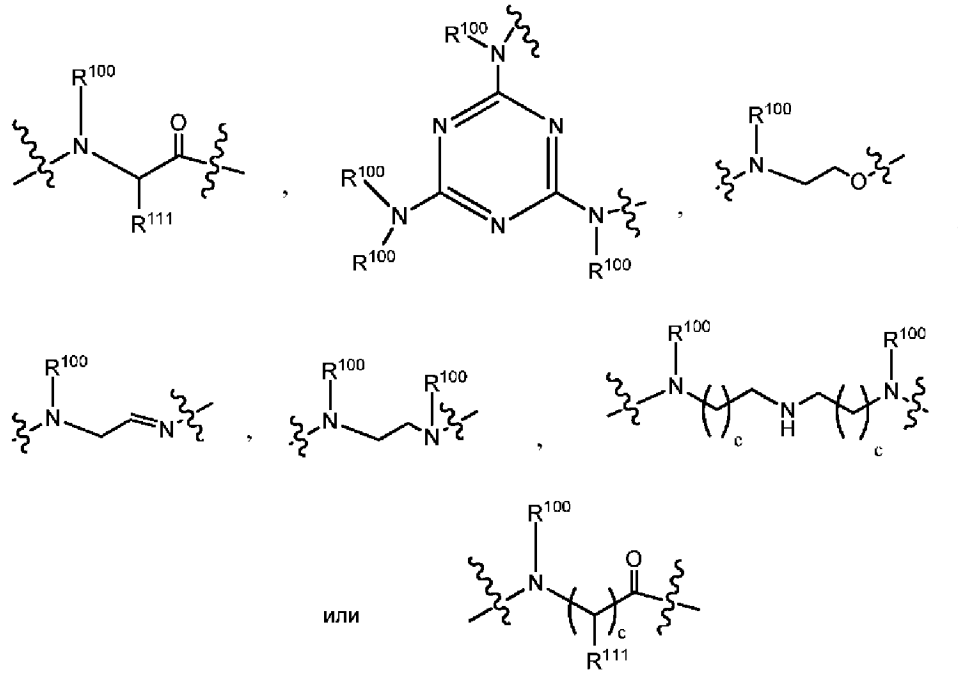
Соединительное звено (A)

[250] Соединительное звено, A, включают в конъюгат лекарственного средства и лиганда или соединение лекарственного средства и линкера в случаях, где желательно добавлять дополнительное расстояние между звеном носителя (Z) или его предшественником (Z') и саморасщепляющимся фрагментом (X) саморасщепляющегося сборочного звена. В некоторых аспектах, дополнительное расстояние будет помогать при активации внутри X. Соответственно, соединительное звено (A), когда присутствует, продлевает каркас линкерного звена. В этом отношении соединительное звено (A) ковалентно связано с необязательным звеном ветвления или звеном носителя (или его предшественником), когда B отсутствует, на одном конце и ковалентно связано с саморасщепляющимся фрагментом (X) саморасщепляющегося сборочного звена на его другом конце. В одной группе вариантов осуществления саморасщепляющийся фрагмент (X) состоит из саморасщепляющегося спейсерного звена (Y) и активационного звена (W) с тем, чтобы связывать A с Y. В другой группе вариантов осуществления саморасщепляющийся фрагмент состоит из саморасщепляющегося спейсерного звена (Y) и активационного звена (W) с тем, чтобы связывать A с W.

[251] Специалист в данной области примет во внимание, что соединительное звено может представлять собой любую группу, которая служит для того, чтобы обеспечивать прикрепление саморасщепляющегося звена к остальной части линкерного звена. Соединительное звено может, например, состоять из одной или нескольких (например, 1-10, предпочтительно, 1, 2, 3 или 4) остатков природных или неприродных аминокислот, аминокспиртов, аминокальдегидов, диамино. В некоторых аспектах, соединительное звено представляет собой один остаток природной или неприродной аминокислоты, аминокспирта, аминокальдегида или диамино. Образцовой аминокислотой, способной действовать в качестве соединительных звеньев, является β -аланин.

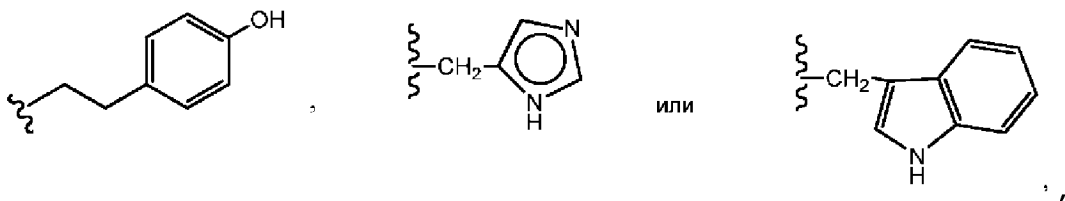
[252] В некоторых аспектах, соединительное звено имеет

формулу, которая приведена далее:



в которых волнистые линии обозначают прикрепление соединительного звена внутри конъюгата лекарственного средства и лиганда или его промежуточного соединения лекарственное средство-линкер;

в которых R^{111} независимо выбирают из группы, состоящей из водорода, *p*-гидроксбензила, 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-пиридилметил-, 3-пиридилметил-, 4-пиридилметил-,



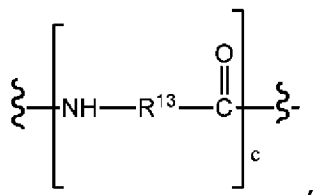
в которых волнистая линия обозначает ковалентное прикрепление к остальной части соединительного звена;

каждый R^{100} независимо выбирают из водорода или $-\text{C}_1-\text{C}_3$ алкила, предпочтительно водорода или CH_3 ; и

c представляет собой независимо выбранное целое число в

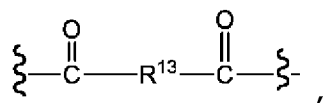
диапазоне от 1 до 10, предпочтительно от 1 до 3.

[253] Репрезентативное соединительное звено, которое имеет карбонильную группу для прикрепления к активационному звену (W) или саморасщепляющемуся спейсерному звену (Y) саморасщепляющегося фрагмента (X) саморасщепляющегося сборочного звена, представляет собой следующее:



где в каждом экземпляре R^{13} независимо выбирают из группы, состоящей из $-\text{C}_1-\text{C}_6$ алкилена-, $-\text{C}_3-\text{C}_8$ карбоцикло-, -арилена-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ гетероалкилена-, $-\text{C}_3-\text{C}_8$ гетероцикло-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-арилена-, -арилен- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилена-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен- ($-\text{C}_3-\text{C}_8$ карбоцикло)-, - ($-\text{C}_3-\text{C}_8$ карбоцикло)- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилена-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен- ($-\text{C}_3-\text{C}_8$ гетероцикло)- и - ($-\text{C}_3-\text{C}_8$ гетероцикло)- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилена-, а нижний индекс c представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 4. В некоторых вариантах осуществления R^{13} представляет собой $-\text{C}_1-\text{C}_6$ алкилен и c равен 1.

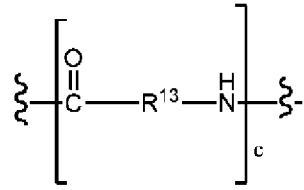
[254] Репрезентативное соединительное звено, которое имеет карбонильную группу для прикрепления к активационному звену (W) или спейсерному звену (Y) саморасщепляющегося фрагмента (X) саморасщепляющегося сборочного звена представляет собой следующее:



где R^{13} представляет собой $-\text{C}_1-\text{C}_6$ 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- ($-\text{C}_3-\text{C}_8$ карбоцикло)-, - ($-\text{C}_3-\text{C}_8$ карбоцикло)- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен- ($-\text{C}_3-\text{C}_8$ гетероцикло)- или - ($-\text{C}_3-\text{C}_8$ гетероцикло)- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-. В некоторых вариантах осуществления R^{13} представляет собой $-\text{C}_1-\text{C}_6$ алкилен.

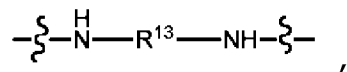
[255] Репрезентативное соединительное звено, которое имеет NH фрагмент, которым прикрепляют к активационному звену (W) или

спейсерному звену (Y) саморасщепляющегося фрагмента (X) саморасщепляющегося сборочного звена, представляет собой следующее:



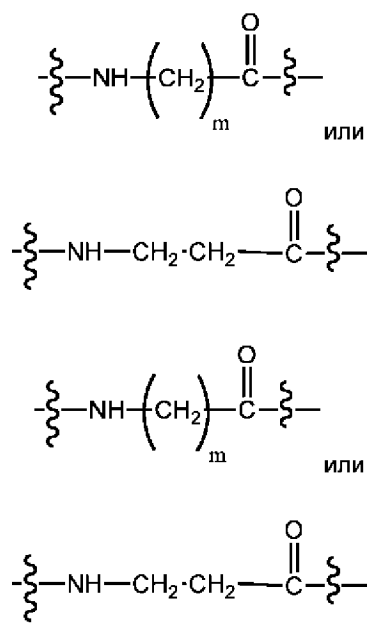
где в каждом экземпляре R^{13} независимо выбирают из группы, состоящей из $-C_1-C_6$ алкилена-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-, -арилена-, $-C_1-C_{10}$ гетероалкилена-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилена-, -арилен- $-C_1-C_{10}$ алкилена-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- ($-C_3-C_8$ карбоцикло)-, - ($-C_3-C_8$ карбоцикло)- $-C_1-C_{10}$ алкилена-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- ($-C_3-C_8$ гетероцикло)-, и - ($-C_3-C_8$ гетероцикло)- $-C_1-C_{10}$ алкилена-, а нижний индекс с равен от 1 до 14. В некоторых вариантах осуществления R^{13} представляет собой $-C_1-C_6$ алкилен и нижний индекс с равен 1.

[256] Репрезентативное соединительное звено, которое имеет NH фрагмент, которым прикрепляют к активационному звену (W) или спейсерному звену (Y) саморасщепляющегося фрагмента (X) саморасщепляющегося сборочного звена, представляет собой следующее:



где R^{13} представляет собой $-C_1-C_6$ алкилен-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-, -арилен-, $-C_1-C_{10}$ гетероалкилен-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен-, -арилен- $-C_1-C_{10}$ алкилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- ($-C_3-C_8$ карбоцикло)-, - ($-C_3-C_8$ карбоцикло)- $-C_1-C_{10}$ алкилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- ($-C_3-C_8$ гетероцикло)- или - ($-C_3-C_8$ гетероцикло)- $-C_1-C_{10}$ алкилен- или $-C(=O)-C_1-C_6$ алкилен- или $-C_1-C_6$ алкилен- $-C(=O)-C_1-C_6$ алкилен.

[257] Выбранные варианты осуществления соединительных звеньев включают те, которые имеют следующую структуру



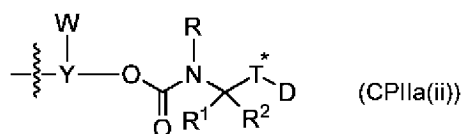
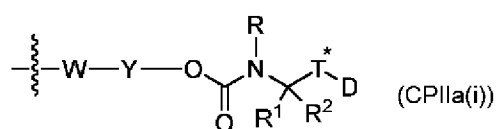
в которых волнистая линия смежно с примеом обозначает ковалентное прикрепление звена носителя (Z) (или его предшественника Z'), или непосредственно или опосредованно через В, и волнистая линия смежно с карбонилем обозначает ковалентное прикрепление к активационному звену (W) или спейсерному звену (Y) саморасщепляющегося фрагмента (X) саморасщепляющегося сборочного звена, или волнистая линия смежно с карбонилем обозначает ковалентное прикрепление к звену носителя (Z) (или его предшественнику Z'), или непосредственно или опосредованно через В, и волнистая линия смежно с азотом обозначает ковалентное прикрепление к активационному звену (W) или спейсерному звену (Y) саморасщепляющегося фрагмента (X) саморасщепляющегося сборочного звена; и m представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 6, предпочтительно от 2 до 6, более предпочтительно от 2 до 4.

Саморасщепляющееся сборочное звено

[258] Саморасщепляющееся сборочное звено соединяет звено лекарственного средства с остальной частью конъюгата или его промежуточного соединения лекарственное средство-линкер. Основная функция саморасщепляющегося сборочного звена состоит в том, чтобы при определенных условиях высвободить свободное лекарственное средство в месте, на которое направлено звено лиганда. Таким образом, саморасщепляющееся сборочное звено содержит активируемый саморасщепляющийся фрагмент (X) и

метиленкарбаматный линкер. Активируемый саморасщепляющийся фрагмент содержит активационное звено (W) и саморасщепляющееся спейсерное звено (Y). Саморасщепляющееся спейсерное звено может представлять собой одно звено или может содержать два или более саморасщепляющихся подзвена. Активация W для того, чтобы вызывать саморасщепление Y, происходит через расщепление на этом активационном звене, и типично проходит по связи между W и Y. Расщепление может быть ферментативным (например, опухоль-ассоциированная протеаза или гликозидаза, такая как глюкуронидаза) или через восстановление дисульфидной связи (например, дисульфидное расщепление (например, с помощью глутатиона-SH)). При расщеплении происходит инициация последовательности реакций саморасщепления, которая ведет к высвобождению свободного лекарственного средства. В одной группе вариантов осуществления саморасщепляющееся сборочное звено можно прикреплять к остальной части звена лиганда конъюгата лекарственного средства и лиганда через активационное звено. В другой группе вариантов осуществления саморасщепляющееся сборочное звено можно прикреплять к остальной части линкерного звена конъюгата лекарственного средства и лиганда через или саморасщепляющееся спейсерное звено.

[259] В определенных вариантах осуществления саморасщепляющееся сборочное звено, связанное со звеном лекарственного средства, представлено формулой CPIa(i) или CPIa(ii):



в которых

W представляет собой активационное звено;

Y представляет собой саморасщепляющееся спейсерное звено;

D представляет собой звено лекарственного средства, представляющее лекарственное средство, которое имеет функциональную группу перед встраиванием в указанное звено метиленалккоксикарбамата;

T* представляет собой необязательно замещенный гетероатом из указанной функциональной группы, который становится встроенным в указанное звено метиленакарбамата;

R, R¹ и R² как определено предварительно в настоящем документе; и

волнистая линия обозначает точку прикрепления к остальной части LDC или соединению лекарственного средства и линкера, в котором саморасщепляющееся сборочное звено высвобождает свободное лекарственное средство после активации активационного звена.

[260] Как показано в настоящем документе, активация активационного звена, происходит через расщепление этого звена, в котором расщепление является ферментативным (например, через опухоль-ассоциированную протеазу или гликозидазу, например, глюкуронидазу (например, β-глюкуронидазу)) или через реакцию восстановления дисульфидной связи (например, расщепление дисульфидной связи с помощью глутатиона-SH).

[261] В некоторых аспектах по настоящему изобретению, саморасщепляющееся сборочное звено имеет массу не больше чем приблизительно 5000 дальтонов, не больше чем приблизительно 4000 дальтонов, не больше чем приблизительно 3000 дальтонов, не больше чем приблизительно 2000 дальтонов, не больше чем приблизительно 1000 дальтонов, не больше чем приблизительно 800 дальтонов или не больше чем приблизительно 500 дальтонов. В некоторых аспектах саморасщепляющееся сборочное звено имеет массу приблизительно от 100 дальтонов, или приблизительно от 200 дальтонов, или приблизительно от 300 дальтонов приблизительно до 5000 дальтонов, приблизительно от 100 дальтонов, или приблизительно от 200 дальтонов, или приблизительно от 300 дальтонов приблизительно до 4000 дальтонов, приблизительно от 100 дальтонов, или приблизительно

от 200 дальтонов, или приблизительно от 300 дальтонов приблизительно до 3000 дальтонов, приблизительно от 100 дальтонов, или приблизительно от 200 дальтонов, или приблизительно от 300 дальтонов приблизительно до 2000 дальтонов, приблизительно от 100 дальтонов, или приблизительно от 200 дальтонов, или приблизительно от 300 дальтонов приблизительно до 1000 дальтонов, приблизительно от 100 дальтонов, или приблизительно от 200 дальтонов, или приблизительно от 300 дальтонов приблизительно до 800 дальтонов, или приблизительно от 100 дальтонов, или приблизительно от 200 дальтонов, или приблизительно от 300 дальтонов приблизительно до 500 дальтонов.

[262] Специалисту в данной области будет понятно, что компоненты соединений лекарственного средства и линкера могут быть связаны аналогичным образом, как конъюгаты лекарственного средства и лиганда, в которых в сравнении с соответствующими LDC звено лиганда отсутствует, а звено носителя (Z), когда присутствует, заменяют соответствующим ему предшественником звена носителя (Z').

Активационное звено (W)

[263] W представляет собой активационное звено, и его можно обозначать как «триггер» или «активируемый» триггер (т. е., способный к активации); который при активации инициирует последовательность реакций саморасщепления в спейсерном звене (в виде одного звена или имеющего 2 или больше саморасщепляющихся подзвеньев). В некоторых аспектах активационное звено представляет собой органический фрагмент, прикрепленный через расщепляемую связь к саморасщепляющемуся спейсерному звену. Соответственно, в таких вариантах осуществления структуру и/или последовательность W выбирают так, что расщепляемую связь формируют с саморасщепляющимся спейсерным звеном. В различных вариантах осуществления, рассмотренных в настоящем документе, свойства W могут варьировать. Например, W можно разрабатывать так, что расщепляемую связь расщепляют под действием ферментов, присутствующих в целевом месте, или через событие

восстановления в случае дисульфидной связи. Расщепляемые связи включают, например, дисульфидные связи, амидные связи и гликозидные связи.

[264] В некоторых вариантах осуществления активационное звено содержит одну аминокислоту или одну или несколько непрерывных или прерывающихся последовательностей аминокислот (например, с тем, чтобы W имело от 1 до не больше чем 12 аминокислот). Активационное звено может содержать или состоять, например, из монопептидного, дипептидного, трипептидного, тетрапептидного, пентапептидного, гексапептидного, гептапептидного, октапептидного, нонапептидного, декапептидного, ундекапептидного или додекапептидного звена. В некоторых аспектах, в присутствии фермента (например, опухоль-ассоциированной протеазы) расщепляют амидную связь между активационным звеном (W) и саморасщепляющимся спейсерным звеном (Y), что в конечном итоге ведет к высвобождению свободного лекарственного средства из-за саморасщепления Y .

[265] Каждая аминокислота может быть природной или не природной и/или D- или L-изомером, конечно, при условии, что имеет место сформированная расщепляемая связь, которая при расщеплении инициирует саморасщепление в Y . В некоторых вариантах осуществления активационное звено содержит только природные аминокислоты. В некоторых аспектах активационное звено имеет от 1 до не больше чем 12 аминокислот в непрерывной последовательности.

[266] В некоторых вариантах осуществления каждую аминокислоту независимо выбирают из группы, состоящей из аланина, аргинина, аспарагиновой кислоты, аспарагина, гистидина, глицина, глутаминовой кислоты, глутамина, фенилаланина, лизина, лейцина, серина, тирозина, треонина, изолейцина, пролина, триптофана, валина, цистеина, метионина, селеноцистеина, орнитина, пеницилламина, β -аланина, аминоалкановой кислоты, аминоалкиновой кислоты, аминоалкандиовой кислоты, аминобензойной кислоты, аминокетогетероцикло-алкановой кислоты, гетероцикло-карбоновой кислоты,

цитруллина, статина, диаминоалкановой кислоты и их производных. В некоторых вариантах осуществления каждую аминокислоту независимо выбирают из группы, состоящей из аланина, аргинина, аспарагиновой кислоты, аспарагина, гистидина, глицина, глутаминовой кислоты, глутамина, фенилаланина, лизина, лейцина, серина, тирозина, треонина, изолейцина, пролина, триптофана, валина, цистеина, метионина и селеноцистеина. В некоторых вариантах осуществления каждую аминокислоту независимо выбирают из группы, состоящей из аланина, аргинина, аспарагиновой кислоты, аспарагина, гистидина, глицина, глутаминовой кислоты, глутамина, фенилаланина, лизина, лейцина, серина, тирозина, треонина, изолейцина, пролина, триптофана и валина. В некоторых вариантах осуществления каждую аминокислоту выбирают из протеиногенных или непротеиногенных аминокислот.

[267] В другом варианте осуществления каждую аминокислоту независимо выбирают из группы, состоящей из следующих L- (природных) аминокислот: аланин, аргинин, аспарагиновая кислота, аспарагин, гистидин, глицин, глутаминовая кислота, глутамин, фенилаланин, лизин, лейцин, серин, тирозин, треонин, изолейцин, триптофан и валин.

[268] В другом варианте осуществления каждую аминокислоту независимо выбирают из группы, состоящей из следующих D- изомеров этих природных аминокислот: аланин, аргинин, аспарагиновая кислота, аспарагин, гистидин, глицин, глутаминовая кислота, глутамин, фенилаланин, лизин, лейцин, серин, тирозин, треонин, изолейцин, триптофан и валин.

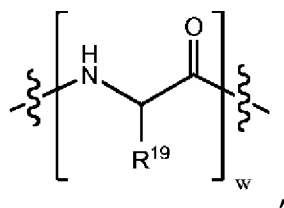
[269] В определенных вариантах осуществления активационное звено состоит только из природных аминокислот. В других вариантах осуществления активационное звено состоит только из неприродных аминокислот. В некоторых вариантах осуществления активационное звено состоит из природной аминокислоты, прикрепленной к неприродной аминокислоте. В некоторых вариантах осуществления активационное звено состоит из природной аминокислоты, прикрепленной к D-изомеру природной аминокислоты.

[270] Образцовые активационные звенья включают дипептиды с -Val-Cit-, -Phe-Lys- или -Val-Ala.

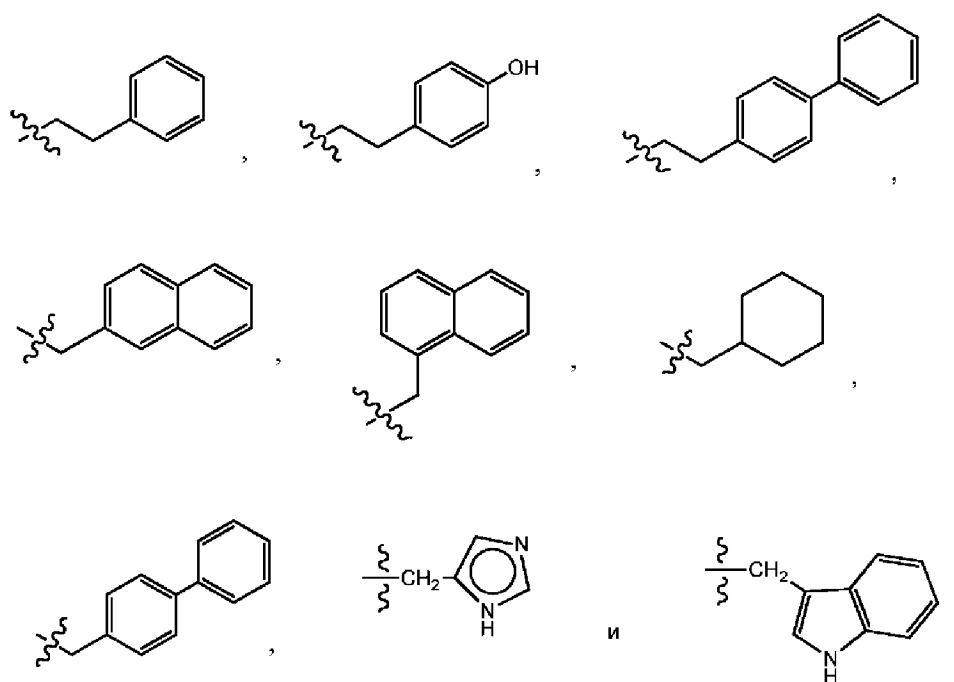
[271] Эффективные активационные звенья можно разрабатывать и оптимизировать их избирательность к ферментативному расщеплению конкретным ферментом, например, опухоль-ассоциированной протеазой. В некоторых вариантах осуществления расщепление связи (через промежуточную функциональную группу или связь) между активационным звеном и саморасщепляющимся спейсерным звеном для того, чтобы инициировать саморасщепление в саморасщепляющемся спейсерном звене, катализируют катепсином В, С или D или протеазой плазмينا.

[272] В некоторых вариантах осуществления активационное звено представляют как $(-AA-)_{1-12}$, или $(-AA-AA-)_{1-6}$, в которых AA при каждом появлении независимо выбирают из природных или неприродных аминокислот. В одном из аспектов AA при каждом появлении независимо выбирают из природных аминокислот.

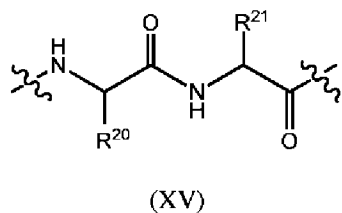
[273] В некоторых вариантах осуществления активационное звено имеет формулу, приведенную далее в квадратных скобках, волнистую линию смежно с карбонилем прикрепляют к саморасщепляющемуся спейсерному звену, и другую волнистую линию прикрепляют к звену носителя (Z) (или его предшественнику Z'), непосредственно или опосредованно через промежуточное соединительное звено (A) и/или звено ветвления (B), и нижний индекс w представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 12:



в которой R^{19} в каждом случае независимо выбирают из группы, состоящей из водорода, метила, изопропила, изобутила, втор-бутила, бензила, п-гидроксibenзила, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{COOH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCH}_3$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCHO}$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCOCH}_3$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCHO}$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NH}_2$, 2-пиридилметила-, 3-пиридилметила-, 4-пиридилметила-, фенила, циклогексила,

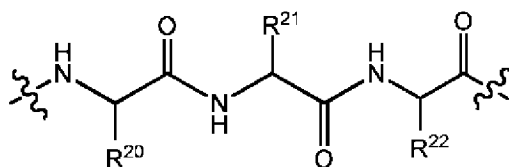


[274] Иллюстративные активационные звенья представлены формулами (XV), (XVI) и (XVII)



в которой R^{20} и R^{21} представляют собой следующее:

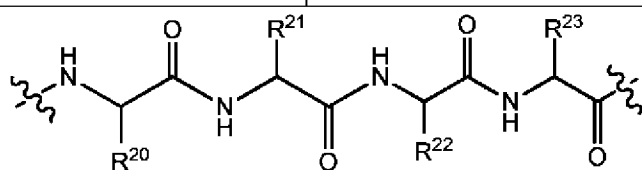
R^{20}	R^{21}
бензил	$(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
метил	$(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
изопропил	$(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
изопропил	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$
бензил	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$
изобутил	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$
втор-бутил	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$
	$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$;
бензил	метил; и
бензил	$(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(\text{=NH})\text{NH}_2$;



(XVI)

в которой R^{20} , R^{21} и R^{22} представляют собой следующее:

R^{20}	R^{21}	R^{22}
бензил	бензил	$(CH_2)_4NH_2$;
изопропил	бензил	$(CH_2)_4NH_2$; и
H	бензил	$(CH_2)_4NH_2$;

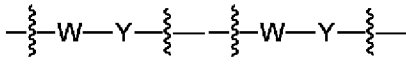


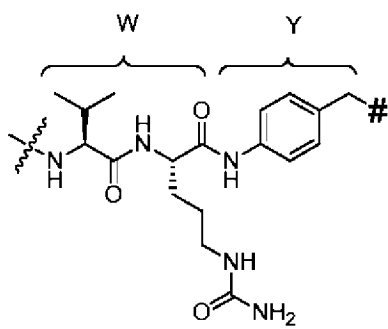
(XVII)

в которой R^{20} , R^{21} , R^{22} и R^{23} представляют собой следующее:

R^{20}	R^{21}	R^{22}	R^{23}
H	Бензил	изобутил	H; и
Метил	Изобутил	метил	Изобутил.

[275] В некоторых таких аспектах саморасщепляющийся

фрагмент X представляет собой  и представлен структурой формулы XVIII:

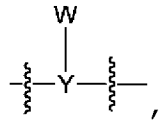


(XVIII)

в которой волнистая линия обозначает ковалентное прикрепление к звену носителя Z (или его предшественнику Z'), или непосредственно или опосредованно через соединительное звено (A) или звено ветвления (B) или A и B, и знак диэз (#) обозначает ковалентное прикрепление бензильвого углерода к

звену метиленкарбамата.

[276] В других аспектах саморасщепление активируют через расщепление гликозидного звена гликозидазой. Гликозидное звено представляет собой другой пример саморасщепляющегося фрагмента (X), в котором X имеет структуру $-Y(W)-$, представленную далее



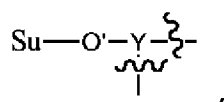
в которой одна волнистая линия обозначает ковалентное прикрепление к звену носителя Z (или его предшественнику Z'), или непосредственно или опосредованно через соединительное звено (A) или звено ветвления (B) или A и B), и другая волнистая линия обозначает ковалентное прикрепление к остальной части саморасщепляющегося сборочного звена (т. е., звена метиленкарбамата или звена МАК).

[277] Гликозидное звено типично содержит фрагмент сахара (Su), связанный через кислородную гликозидную связь с саморасщепляющимся спейсером, Y, который имеет структуру, представленную как $-Y(W)-$. Расщепление кислородной гликозидной связи инициирует последовательность реакций саморасщепления, которые ведут к высвобождению свободного лекарственного средства. В таких вариантах осуществления, сахар представляет активационное звено, когда его прикрепляют к саморасщепляющемуся спейсеру через расщепляемую связь, и расщепление этой связи инициирует последовательность реакций саморасщепления.

[278] В некоторых аспектах, активируемый саморасщепляющийся фрагмент (X), представленный как $-Y(W)-$, активируют через расщепление β -глюкуронидазой глюкуронидного звена, которое представляет собой образцовое гликозидное звено. глюкуронидное звено содержит активационное звено и саморасщепляющееся спейсерное звено. Глюкуронидное звено содержит фрагмент сахара (Su), связанный через кислородную гликозидную связь с саморасщепляющимся спейсерным звеном. Расщепление кислородной гликозидной связи инициирует последовательность реакций саморасщепления, которые ведут к

высвобождению свободного лекарственного средства. В таких вариантах осуществления сахар представляет активационное звено, когда его прикрепляют к саморасщепляющемуся спейсерному звену через расщепляемую связь, и расщепление этой связи инициирует последовательность реакций саморасщепления.

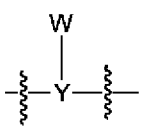
[279] В некоторых вариантах осуществления гликозидное звено или глюкуронидное звено содержит фрагмент сахара (Su), связанный через кислородную гликозидную связь ($-O'$) с саморасщепляющимся спейсерным звеном (Y) формулы:

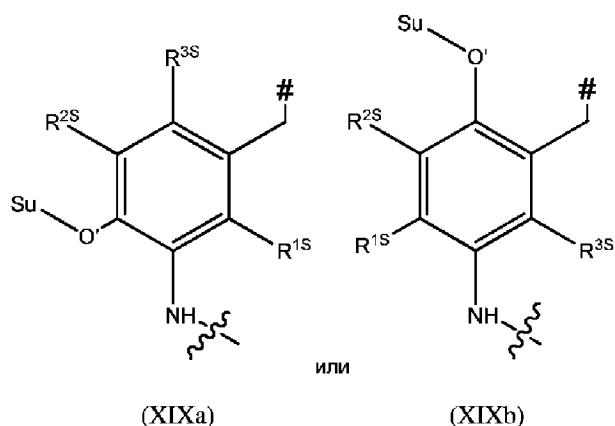


в которой волнистые линии обозначают ковалентное прикрепление к звену метиленкарбамата и к звену носителя (Z) или его предшественнику (Z'), или непосредственно или опосредованно через соединительное звено или звено ветвления или соединительное звено и звено ветвления, в зависимости от случая.

[280] Кислородная гликозидная связь ($-O'$) типично представляет собой сайт расщепления β -глюкуронидазы (т. е., Su происходит из глюкуронида), такой как гликозидная связь, расщепляемая лизосомальной β -глюкуронидазой человека.

[281] Активируемый саморасщепляющийся фрагмент X, который

имеет структуру , которая расщепляется гликозидазой для того, чтобы инициировать последовательность реакций саморасщепления, можно представлять формулой XIXa или XIXb:



в которых Su представляет собой фрагмент сахара, $-O'$ - представляет кислородную гликозидную связь;

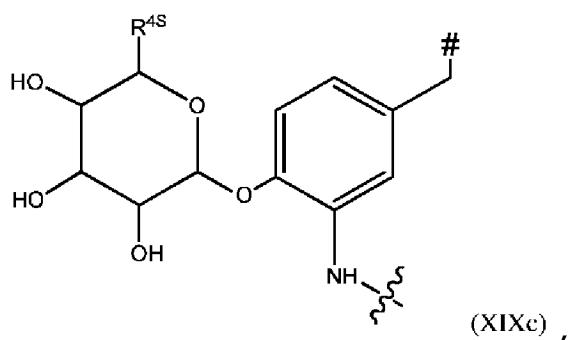
R^{1s} , R^{2s} и R^{3s} независимо представляют собой водород, галоген, $-CN$, $-NO_2$ или другую электроноакцепторную группу или электронодонорную группу; и

в которых волнистая линия обозначает прикрепление к звену носителя (Z) (или его предшественнику (Z')), или непосредственно или опосредованно через соединительное звено или звено ветвления или соединительное звено и звено ветвления);

и # обозначает прикрепление к звену метиленкарбамата (или непосредственно или опосредованно через промежуточную функциональную группу или другой фрагмент).

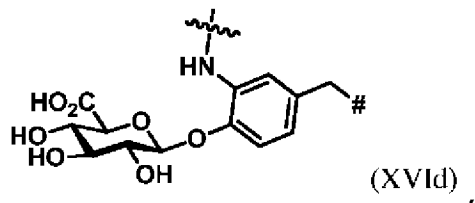
[282] В предпочтительных вариантах осуществления R^{1s} , R^{2s} и R^{3s} независимо выбирают из водорода, галогена, $-CN$ или $-NO_2$. В других предпочтительных вариантах осуществления каждый из R^{1s} , R^{2s} и R^{3s} представляет собой водород. В других предпочтительных вариантах осуществления R^{2s} представляет собой электроноакцепторную группу, предпочтительно NO_2 , и каждый из R^{1s} и R^{3s} представляет собой водород.

[283] В некоторых таких аспектах активируемую саморасщепляющуюся группу, способную к расщеплению гликозидазой для того, чтобы инициировать последовательность реакций саморасщепления, представляют формулой XIXc:



в которой R^{4s} представляет собой CH_2OH или $-CO_2H$, волнистая линия обозначает ковалентное прикрепление к звену носителя (Z) (или его предшественнику Z'), или непосредственно или опосредованно через соединительное звено или звено ветвления или соединительное звено и звено ветвления, и знак диэз (#) обозначает ковалентное прикрепление к звену метиленкарбамата.

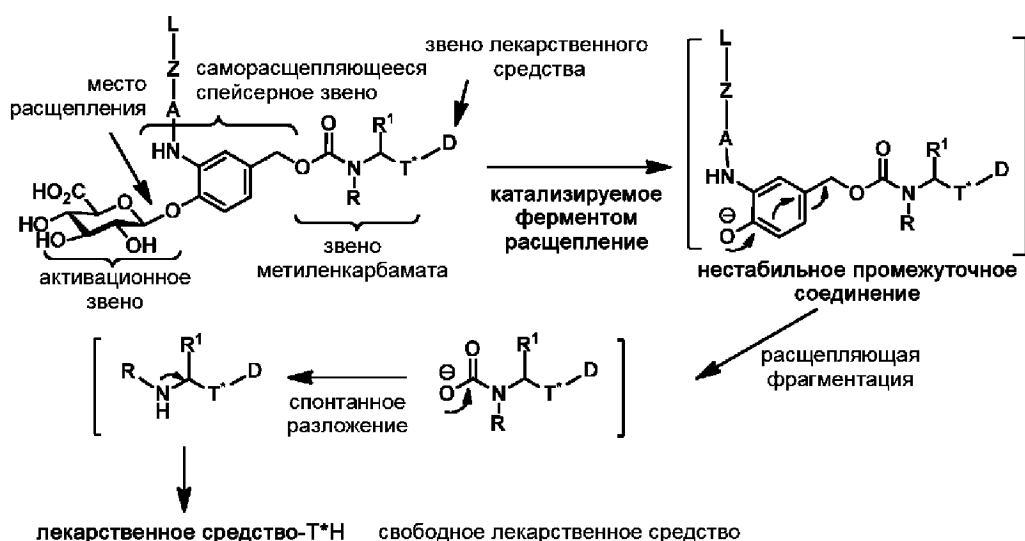
[284] В некоторых вариантах осуществления, в которых активируемый саморасщепляющийся фрагмент состоит из глюкуронидного звена, его представляют следующей формулой XVIId:



в которой волнистая линия обозначает ковалентное прикрепление к звену носителя (Z) (или его предшественнику Z'), или непосредственно или опосредованно через соединительное звено или звено ветвления или соединительное звено и звено ветвления, и знак диез (#) обозначает ковалентное прикрепление бензильного углерода из Y к звену метиленкарбамата.

[285] Без ограничения теорией, на схеме 1a изображен механизм высвобождения свободного лекарственного средства из звена лекарственного средства, прикрепленного к звену метиленкарбамата в LDC, который имеет саморасщепляющийся фрагмент со структурой -Y(W)-, как в формуле XVIId, тогда как на схеме 1b изображен аналогичный механизм высвобождения свободного лекарственного средства из LDC, который не имеет эффекта промежуточного звена метиленкарбамата.

Схема 1a:



[286] В некоторых вариантах осуществления событие расщепления, которое инициирует последовательность реакций

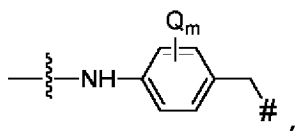
саморасщепления, представляет собой расщепление дисульфидной связи. В некоторых таких аспектах, восстанавливающее средство (например, глутатион-SH) будет действовать для того, чтобы расщеплять дисульфидную связь, тем самым инициируя последовательность реакций саморасщепления. Соответственно, в таких вариантах осуществления, активационное звено представляет собой химический фрагмент, который содержит атом серы, который принимает участие в расщепляемой дисульфидной связи между активационным звеном и саморасщепляющимся спейсерным звеном.

Саморасщепляющееся спейсерное звено (Y)

[287] Саморасщепляющееся спейсерное звено представляет собой химический фрагмент, который может проходить последовательность реакций саморасщепления (т. е., фрагментации), которая ведет к высвобождению свободного лекарственного средства. Они типично представляют собой саморасщепляющиеся спейсерные звенья двух типов. Первый можно обозначать как саморасщепляющееся спейсерное звено с каскадом электронов. Каскад электронов в таком саморасщепляющемся спейсерном звене вызывает реакцию элиминирования в качестве последствия смещения конъюгированных пар электронов. За этой перекомпоновкой пары электронов следует самопроизвольное разложение звена метиленкарбамата, в конечном итоге ведущее к высвобождению свободного лекарственного средства из звена лекарственного средства. Активация активационного звена инициирует реакцию элиминирования (например, реакцию 1,6- или 1,4-элиминирования). Саморасщепляющееся спейсерное звено второго типа представляет собой саморасщепляющееся спейсерное звено с замыканием кольца. Саморасщепляющееся спейсерное звено с замыканием кольца действует через инициацию самопроизвольного разложения звена метиленкарбамата вслед за реакцией внутримолекулярного замыкания кольца, тем самым приводя к высвобождению свободного лекарственного средства. Активация активационного звена инициирует реакцию замыкания кольца. Соответственно, саморасщепляющееся спейсерное звено представляет собой химический фрагмент, который способен подвергаться фрагментации или реакции замыкания кольца после

активации активационного звена, посредством чего фрагментация или реакция замыкания кольца ведет к самопроизвольному разложению звена метиленкарбамата и высвобождению свободного лекарственного средства.

[288] В некоторых аспектах, саморасщепляющееся спейсерное звено представляет собой химический фрагмент, который способен ковалентно связывать вместе три пространственно различных химических фрагмента (например, активационное звено (W), звено метиленкарбамата и носитель (Z) (или его предшественник Z'), или непосредственно или опосредованно через соединительное звено или звено ветвления или соединительное звено и звено ветвления. В других аспектах, саморасщепляющееся спейсерное звено представляет собой химический фрагмент, который способен ковалентно связывать два пространственно различных химических фрагмента (например, активационное звено и звено метиленкарбамата), где прикрепление к звену носителя происходит через активационное звено. В некоторых таких вариантах осуществления образцовое саморасщепляющееся спейсерное звено представляет собой группу PAB, которая имеет структуру, как показано ниже:

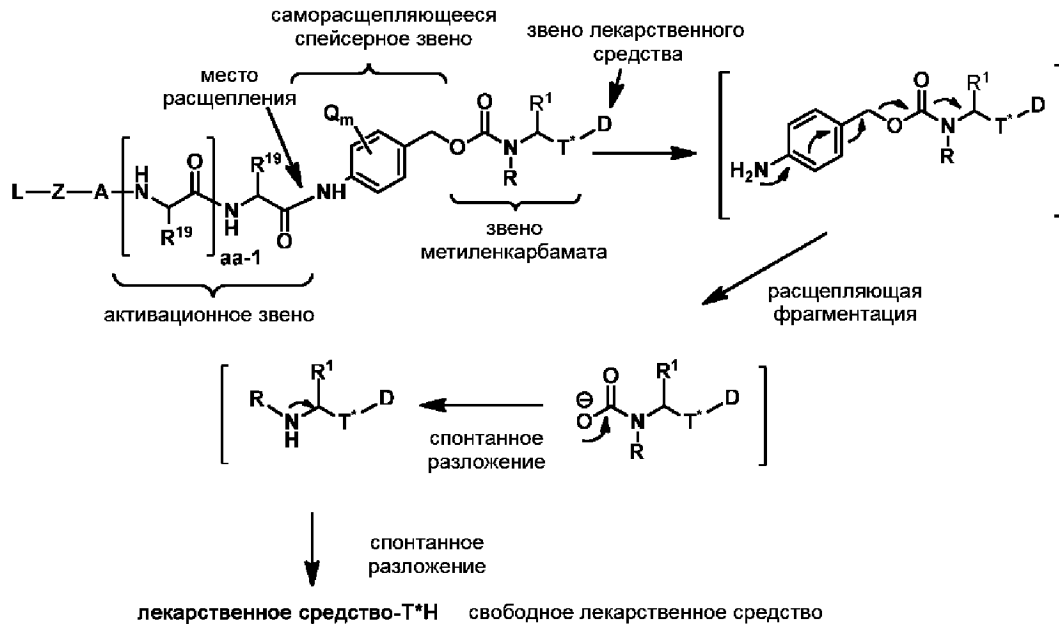


в которой волнистая линия обозначает ковалентное прикрепление к активационному звену и знак диез (#) обозначает ковалентное прикрепление бензильного углерода из группы PAB к звену метиленкарбамата, Q представляет собой -C₁-C₈ алкил, -O-(C₁-C₈ алкил) или другую электронодонорную группу, -галоген, -нитро или -циано или другую электроноакцепторную группу (предпочтительно, Q представляет собой -C₁-C₈ алкил, -O-(C₁-C₈ алкил), галоген, нитро или циано); и m представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 4 (т. е., центральный арилен не имеет других заместителей или 1-4 других заместителей). В предпочтительных вариантах осуществления m равно 0. В других предпочтительных вариантах осуществления m равно 1 или 2 и каждый Q представляет собой независимо выбранную

электронодонорную группу.

[289] На схеме 2 изображен возможный механизм высвобождения лекарственного средства образцовой группы РАВ саморасщепляющегося спейсерного звена (Y), которое прикрепляют непосредственно к -D через звено метиленкарбамата, в котором саморасщепляющийся фрагмент имеет структуру-W-Y-.

Схема 2



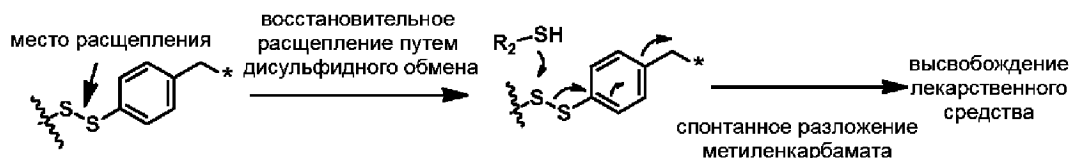
в которой Q представляет собой -C₁-C₈ алкил или -O-(C₁-C₈ алкил) или другую электронодонорную группу или -галоген, -нитро, -циано или другую электроноакцепторную группу (Q предпочтительно представляет собой C₁-C₈ алкил, -O-(C₁-C₈ алкил), галоген, нитро или циано); и m представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 4; и R¹⁹ независимо выбран, и aa как определено для активационных звеньев на пептидной основе

[290] Другие примеры саморасщепляющихся спейсерных звеньев включают, но не ограничиваясь этим, ароматические соединения, которые электронно схожи к группой РАВ, такие как производные 2-аминоимдазол-5-метанола (см., например, *Hay et al., 1999, Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237*) и орто- или пара-аминобензилацетали, а также пятичленные гетероциклы и N-гетероциклические четвертичные аммониевые соли. Также можно использовать саморасщепляющиеся спейсерные звенья, которые претерпевают замыкание кольца при гидролизе амидной связи,

такие как замещенные и незамещенные амиды 4-аминомасляной кислоты (см., например, Rodrigues et al., 1995, Chemistry Biology 2:223), надлежащим образом замещенные бицикло[2.2.1] и бицикло[2.2.2] кольцевые системы (см., например, Storm et al., 1972, J. Amer. Chem. Soc. 94:5815), амиды 2-аминофенилпропановой кислоты (см., например, Amsberry et al., 1990, J. Org. Chem. 55:5867) и спейсеры, основанные на блокировании триметилом. Элиминирование аминокосодержащих лекарственных средств, которые замещены в α -положении глицина (см., например, Kingsbury et al., 1984, J. Med. Chem. 27:1447) также является примером саморасщепляющихся спейсерных звеньев, которые можно использовать в образцовых конъюгатах лекарственного средства и лиганда, как тиофенолы. (см., например, Senter, P et al., 1990, J. Org. Chem. 55:2975).

[291] Образцовые саморасщепляющиеся спейсерные звенья дополнительно включают, например, тиофенил, сера сульфгидрила которого входит в дисульфидную связь, через которую происходит высвобождение свободного лекарственного средства, как показано ниже на схеме 3:

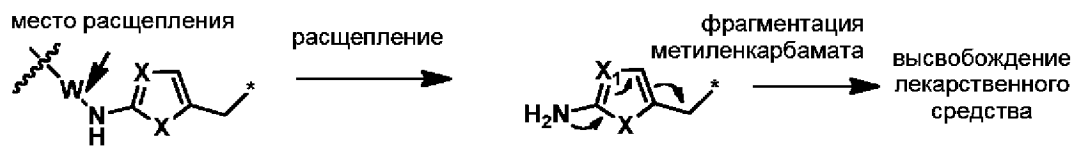
Схема 3



в которой волнистая линия обозначает участок прикрепления к звену носителя (Z) (или его предшественнику Z'), или непосредственно или опосредованно через соединительное звено или звено ветвления или соединительное звено и звено ветвления, и звездочка (*) обозначает участок прикрепления бензильного углерода из Y к звену метиленкарбамата.

[292] Образцовые саморасщепляющиеся спейсерные звенья дополнительно включают, например, 5-членный гетероцикл, который высвобождает лекарственное средство, как показано ниже на схеме 4.

Схема 4



в которой X представляет собой C, O или S, W представляет собой активационное звено, волнистая линия обозначает участок прикрепления к звену носителя (Z) (или его предшественнику Z'), или непосредственно или опосредованно через соединительное звено или звено ветвления или соединительное звено и звено ветвления, и звездочка показывает участок прикрепления к звену метиленкарбамата.

[293] В некоторых аспектах настоящего изобретения саморасщепляющееся спейсерное звено имеет массу не больше чем приблизительно 1000 дальтонов, не больше чем приблизительно 500 дальтонов, не больше чем приблизительно 400 дальтонов, не больше чем приблизительно 300 дальтонов или приблизительно от 10, 50 или 100 приблизительно до 1000 дальтонов, приблизительно от 10, 50 или 100 приблизительно до 500 дальтонов, приблизительно от 10, 50 или 100 дальтонов приблизительно до 400 дальтонов, приблизительно от 10, 50 или 100 дальтонов приблизительно до 300 дальтонов или приблизительно от 10, 50 или 100 дальтонов приблизительно до 200 дальтонов.

Нижний индекс «р»

[294] В одном аспектов изобретения нижний индекс р представляет число фрагментов лекарственное средство-линкер на звене лиганда отдельного конъюгата лекарственного средства и лиганда (LDC) и представляет собой целое предпочтительно в диапазоне от 1 до 16, от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8. Отдельные LDC также можно обозначать как соединение LDC. В любом из вариантов осуществления в настоящем документе могут иметь место 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 фрагментов лекарственное средство-линкер, конъюгированных со звеном лиганда отдельного LDC. В другом аспекте по изобретению, одна группа вариантов осуществления описывает совокупность отдельных конъюгатов лекарственного

средства и лиганда, по существу идентичных, за исключением числа фрагментов лекарственное средство-линкер, связанных с каждым звеном лиганда (т. е., композиции LDC) с тем, чтобы р представлял усредненное число фрагментов лекарственное средство-линкер, связанных со звеньями лиганда из композиции LDC. В этой группе вариантов осуществления р представляет собой число в диапазоне от 1 приблизительно до 16, от 1 приблизительно до 12, от 1 приблизительно до 10 или от 1 приблизительно до 8, от 2 приблизительно до 16, от 2 приблизительно до 12, от 2 приблизительно до 10 или от 2 приблизительно до 8. В некоторых аспектах значение р относится к усредненной нагрузке лекарственным средством, а также к нагрузке лекарственным средством для преобладающего ADC в композиции.

[295] В некоторых аспектах конъюгация происходит через дисульфидные связи между цепями и имеет место от 1 приблизительно до 8 молекул лекарственное средство-линкер, конъюгированных с молекулой лиганда. В некоторых аспектах конъюгация происходит через введенный остаток цистеина, а также дисульфидные связи между цепями, и имеет место от 1 до 10 или от 1 до 12 или от 1 до 14 или от 1 до 16 молекул лекарственное средство-линкер, конъюгированных с молекулой лиганда. В некоторых аспектах конъюгация происходит через введенный остаток цистеина, и имеют место 2 или 4 молекулы лекарственное средство-линкер, конъюгированных с молекулой лиганда.

Смеси и композиции конъюгата лекарственного средства и лиганда

[296] Настоящее изобретение предусматривает смеси и фармацевтические композиции конъюгатов лекарственного средства и лиганда, которые содержат любые из конъюгатов лекарственного средства и лиганда, описанных в настоящем документе. Смеси и фармацевтические композиции содержат множество конъюгатов. В некоторых аспектах каждый из конъюгатов в смеси или композиции идентичен или по существу идентичен, однако распределение лекарственного средства-линкера на лигандах в смеси или композициях может варьировать, как и нагрузка лекарственным

средством. Например, технология конъюгации, используемая для того, чтобы конъюгировать лекарственные средства-линкеры с антителами в качестве направленного лиганда, могут вести к композициям или смесям, которые гетерогенны в отношении распределения лекарственных средств-линкеров на антительных звеньях лиганда в смеси и/или композиции и/или в отношении нагрузки лекарственными средствами-линкерами на молекулах лиганда в смеси и/или композиции. В некоторых аспектах, нагрузка лекарственными средствами-линкерами на каждой из молекул антител в смеси или композиции таких молекул представляет собой целое число, которое находится в диапазоне от 1 до 14.

[297] В тех аспектах, когда говорят о композиции в целом, нагрузка лекарственными средствами-линкерами представляет собой число в диапазоне от 1 приблизительно до 14. В композиции или смеси также может иметь место небольшая процентная доля неконъюгированных антител. Усредненное число лекарственных средств-линкеров на звено лиганда в смеси или композиции (т. е., усредненная нагрузка лекарственным средством) является важным атрибутом, поскольку он определяет максимальное количество лекарственного средства, которое можно доставлять в клетку-мишень. Когда линкерные звенья в LDC не разветвлены, усредненное число лекарственных средств-линкеров в смеси или композиции таких LDC представляет усредненную нагрузку лекарственным средством и представляет собой число, которое может находиться в диапазоне от 1 приблизительно до 14, предпочтительно приблизительно от 2 приблизительно до 10 или приблизительно равно 8. Усредненная нагрузка лекарственным средством может составлять 1, 2 или приблизительно 2, 3 или приблизительно 3, 4 или приблизительно 4, 5 или приблизительно 5, 6 или приблизительно 6, 7 или приблизительно 7, 8 или приблизительно 8, 9 или приблизительно 9, 10 или приблизительно 10, 11 или приблизительно 11, 12 или приблизительно 12, 13 или приблизительно 13, 14 или приблизительно 14, 15 или приблизительно 15, 16 или приблизительно 16. Когда линкерные звенья в LDC разветвлены, усредненное число лекарственных

средств-линкеров в смесях или композициях таких LDC находится в диапазонах, соответствующих неразветвленным LDC, но усредненная нагрузка лекарственным средством будет составлять некоторое значение, кратное усредненным нагрузкам лекарственными средствами-линкерами, в зависимости от числа точек ветвления в каждом линкерном звене.

[298] В некоторых аспектах смеси и фармацевтические композиции содержат множество (т. е., совокупность) конъюгатов, однако, конъюгаты идентичны или существенно идентичны, и являются по существу гомогенными в отношении распределения лекарственных средств-линкеров на молекулах лиганда в смеси и/или композиции и в отношении нагрузки лекарственными средствами-линкерами на молекулах лиганда в смеси и/или композиции. В некоторых таких аспектах нагрузка лекарственными средствами-линкерами на антительном звене лиганда составляет 2 или 4. В композиции или смеси также может иметь место небольшая процентная доля неконъюгированных антител. Усредненная нагрузка лекарственным средством в таких вариантах осуществления составляет приблизительно 2 или приблизительно 4. Типично, такие композиции и смеси являются результатом использования способов сайт-специфичной конъюгации, а конъюгация обусловлена введением остатка цистеина.

[299] Усредненное число звеньев лекарственного средства или лекарственных средств-линкеров на звено лиганда при получении реакцией конъюгации можно охарактеризовать стандартными средствами, такими как масс-спектрометрия, анализ ELISA, ВЭЖХ (например, ХГВ). Также можно определять количественное распределение конъюгатов лекарственного средства и лиганда в единицах р. В некоторых случаях разделение, очистку и определение характеристик гомогенных конъюгатов лекарственного средства и лиганда можно выполнять с помощью таких средств, как ВЭЖХ с обращенной фазой или электрофорез.

[300] В некоторых аспектах композиции представляют собой фармацевтические композиции, которые содержат конъюгаты лекарственного средства и лиганда, описанные в настоящем документе, и фармацевтически приемлемый носитель. В

определенном аспекте, фармацевтическая композиция находится в жидкой форме. В некоторых аспектах, она представляет собой лиофилизированный порошок.

[301] Композиции, в том числе фармацевтические композиции, можно предоставлять в очищенной форме. Как используют в настоящем документе, «очищенный» обозначает, что при выделении выделенное вещество содержит по меньшей мере 95% и в другом аспекте по меньшей мере 98% конъюгата по массе выделенного вещества.

Способы использования

Лечение злокачественных опухолей

[302] Конъюгаты лекарственного средства и лиганда можно использовать для ингибирования размножения опухолевых клеток или клеток злокачественной опухоли, вызывая апоптоз в опухоли или клетке злокачественной опухоли, или для лечения злокачественной опухоли у пациента. Конъюгаты лекарственного средства и лиганда можно использовать соответственно в различных ситуациях для лечения злокачественных опухолей. Конъюгаты лекарственного средства и лиганда можно использовать для того, чтобы доставлять лекарственное средство в опухолевую клетку или клетку злокачественной опухоли. Без ограничения теорией, в одном из вариантов осуществления звено лиганда в конъюгате лекарственного средства и лиганда связывается с или образует ассоциат с антигеном, ассоциированным с клеткой злокачественной опухоли или опухолевой клеткой, и конъюгат лекарственного средства и лиганда может быть захвачен (интернализирован) внутрь опухолевой клетки или клетки злокачественной опухоли через опосредованный рецепторами эндоцитоз или другой механизм интернализации. Антиген можно прикреплять к опухолевой клетке или клетке злокачественной опухоли, или он может представлять собой белок внеклеточного матрикса, связанный с опухолевой клеткой или клеткой злокачественной опухоли. Находясь внутри клетки, через активацию активационного звена, лекарственное средство высвобождается в клетке. В альтернативном варианте осуществления высвобождение свободного лекарственного средства

из конъюгата лекарственного средства и лиганда происходит вне опухолевой клетки или клетки злокачественной опухоли, и впоследствии свободное лекарственное средство проникает в клетку.

[303] В одном из вариантов осуществления звено лиганда связывается с опухолевой клеткой или клеткой злокачественной опухоли.

[304] В другом варианте осуществления звено лиганда связывается с антигеном опухолевой клетки или клетки злокачественной опухоли, который находится на поверхности опухолевой клетки или клетки злокачественной опухоли.

[305] В другом варианте осуществления звено лиганда связывается с антигеном опухолевой клетки или клетки злокачественной опухоли, который представляет собой белок внеклеточного матрикса, связанный с опухолевой клеткой или клеткой злокачественной опухоли.

[306] Специфичность звена лиганда для конкретной опухолевой клетки или клетки злокачественной опухоли может быть важной для определения опухолей или злокачественных опухолей, которые можно лечить наиболее эффективно. Например, конъюгаты лекарственного средства и лиганда, которые направлены на антиген клетки злокачественной опухоли, присутствующий в гематопоэтических злокачественных опухолях, могут эффективно лечить гематологические злокачественные новообразования (например, анти-CD30, анти-CD70, анти-CD19, анти-CD33 связывающее звено лиганда (например, антитело) может быть эффективным для лечения гематологических злокачественных новообразований). Конъюгаты лекарственного средства и лиганда, которые направлены на антиген клетки злокачественной опухоли, присутствующий на солидных опухолях, может эффективно лечить такие солидные опухоли.

[307] Злокачественные опухоли, которые можно лечить конъюгатом лекарственного средства и лиганда, включают, но не ограничиваясь этим, гематопоэтические злокачественные опухоли, например, такие как лимфомы (лимфома Ходжкина и неходжкинские лимфомы) и лейкозы и солидные опухоли. Примеры

гематопоэтических злокачественных опухолей включают фолликулярную лимфому, анапластическую крупноклеточную лимфому, лимфому из клеток мантийной зоны, острый миелобластный лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, диффузную В-крупноклеточную лимфому и множественную миелому. Примеры солидных опухолей включают фибросаркому, миксосаркому, липосаркому, хондросаркому, остеогенную саркому, хордому, ангиосаркому, эндотелиосаркому, лимфангиосаркому, лимфангиоэндотелиосаркому, синовиому, мезотелиому, опухоль Юинга, лейомиосаркому, рабдомиосаркому, злокачественную опухоль ободочной кишки, злокачественную опухоль толстой кишки, злокачественную опухоль почки, злокачественную опухоль поджелудочной железы, злокачественную опухоль кости, злокачественную опухоль молочной железы, злокачественную опухоль яичников, злокачественную опухоль предстательной железы, злокачественную опухоль пищевода, злокачественную опухоль желудка, злокачественную опухоль ротовой полости, злокачественную опухоль носа, злокачественную опухоль горла, плоскоклеточную карциному, базально-клеточную карциному, аденокарциному, карциному потовых желез, карциному сальных желез, папиллярную карциному, папиллярную аденокарциному, цистаденокарциному, медуллярную карциному, бронхогенную карциному, почечноклеточную карциному, гепатому, карциному желчных протоков, хориокарциному, семиному, эмбриональную карциному, опухоль Вильмса, злокачественную опухоль шейки матки, злокачественную опухоль матки, злокачественную опухоль яичек, мелкоклеточную карциному легких, карциному мочевого пузыря, злокачественную опухоль легких, эпителиальную карциному, глиому, мультиформную глиобластому, астроцитому, медуллобластому, краниофарингиому, эпендимому, пинеалому, гемангиобластому, акустическую неврому, олигодендроглиому, менингиому, злокачественную опухоль кожи, меланому, нейробластому и ретинобластому.

[308] В предпочтительных вариантах осуществления лечению подлежит любая злокачественная опухоль из вышеперечисленных лимфом и лейкозов.

Мультимодальная терапия злокачественных опухолей

[309] Злокачественные опухоли, включая в качестве неограничивающих примеров опухоль, метастаз или другое заболевание или нарушение, отличающееся неконтролируемым клеточным ростом, можно лечить или ингибировать посредством введения конъюгата лекарственного средства и лиганда.

[310] В других вариантах осуществления предусмотрены способы лечения злокачественной опухоли, в том числе введение нуждающемуся в этом пациенту эффективного количества конъюгата лекарственного средства и лиганда и химиотерапевтического средства. В одном из вариантов осуществления химиотерапевтическое средство представляет собой то, для которого при лечении злокачественной опухоли не выявлена рефрактерность. В другом варианте осуществления химиотерапевтическое средство представляет собой то, для которого при лечении злокачественной опухоли выявлена рефрактерность. Конъюгаты лекарственного средства и лиганда можно вводить пациенту, который также перенес хирургическое вмешательство в качестве лечения злокачественной опухоли.

[311] В некоторых вариантах осуществления пациент также получает дополнительное лечение, такое как лучевая терапия. В конкретном варианте осуществления конъюгат лекарственного средства и лиганда вводят одновременно с химиотерапевтическим средством или с лучевой терапией. В другом конкретном варианте осуществления, химиотерапевтическое средство или лучевую терапию вводят до или после введения конъюгата лекарственного средства и лиганда.

[312] Химиотерапевтическое средство можно вводить за серию сеансов. Можно вводить любое одно или комбинацию химиотерапевтических средств, например, стандартное химиотерапевтическое средство (средства).

[313] Дополнительно, способы лечения злокачественной опухоли конъюгатом лекарственного средства и лиганда предусмотрены в качестве альтернативы химиотерапии или лучевой терапии, где доказана или может быть доказана чрезмерная токсичность химиотерапии или лучевой терапии, которая ведет,

например, к неприемлемым или непереносимым побочным эффектам для субъекта, подлежащего лечению. Пациента, подлежащего лечению, можно необязательно лечить другим лечением злокачественных опухолей, таким как хирургическое вмешательство, лучевая терапия или химиотерапия, в зависимости от того, какое лечение находят приемлемым или переносимым.

Лечение аутоиммунных заболеваний

[314] Конъюгаты лекарственного средства и лиганда можно использовать для уничтожения или ингибирования нежелательной репликации клеток, которые вызывают аутоиммунное заболевание, или для лечения аутоиммунного заболевания. Конъюгаты лекарственного средства и лиганда можно использовать соответствующим образом в различных обстоятельствах для лечения аутоиммунного заболевания у пациента. Конъюгаты лекарственного средства и лиганда можно использовать для того, чтобы доставлять лекарственное средство в клетку-мишень. Без ограничения теорией, в одном из вариантов осуществления конъюгат лекарственного средства и лиганда образует ассоциат с антигеном на поверхности провоспалительной или ненадлежащим образом стимулированной клетки иммунной системы, после чего происходит захват конъюгата лекарственного средства и лиганда внутрь клетки-мишени через опосредованный рецепторами эндоцитоз. Внутри клетки происходит расщепление линкерного звена, что ведет к высвобождению лекарственного средства или звена лекарственного средства. После этого высвобожденное лекарственное средство может свободно мигрировать в цитозоль и индуцировать цитотоксические или цитостатические активности. В альтернативном варианте осуществления отщепление лекарственного средства от конъюгата лекарственного средства и лиганда происходит вне клетки-мишени, и затем лекарственное средство или звено лекарственного средства проникает в клетку.

[315] В одном из вариантов осуществления звено лиганда связывается с аутоиммунным антигеном. В одном из аспектов антиген находится на поверхности клетки, вовлеченной в аутоиммунное состояние.

[316] В одном из вариантов осуществления звено лиганда

связывается с активированными лимфоцитам, которые связаны с состоянием аутоиммунного заболевания.

[317] В дополнительном варианте осуществления конъюгат лекарственного средства и лиганда уничтожает или ингибирует размножение клеток, которые продуцируют аутоиммунное антитело, связанное с конкретным аутоиммунным заболеванием.

[318] Конкретные типы аутоиммунных заболеваний, которые можно лечить конъюгатами лекарственного средства и лиганда, включают, но не ограничиваясь этим, нарушения, связанные с Th2-лимфоцитами (например, атопический дерматит, атопическая астма, риноконъюнктивит, аллергический ринит, синдром Оменна, системный склероз и реакция трансплантат против хозяина); нарушения, связанные с Th1-лимфоцитами (например, ревматоидный артрит, рассеянный склероз, псориаз, синдром Шегрена, тиреоидит Хашимото, базедову болезнь, первичный билиарный цирроз, гранулематоз Вегенера и туберкулез); и нарушения, связанные с активированными В-лимфоцитами (например, системная красная волчанка, синдром Гудпасчера, ревматоидный артрит и диабет I типа).

Терапия аутоиммунных заболеваний несколькими лекарственными средствами

[319] Также раскрыты способы лечения аутоиммунных заболеваний, включая введение нуждающемуся в этом пациенту эффективного количества конъюгата лекарственного средства и лиганда и другого терапевтического средства, известного для лечения аутоиммунного заболевания.

Композиции и способы введения

[320] Настоящее изобретение предусматривает фармацевтические композиции, которые содержат конъюгаты лекарственного средства и лиганда, описанные в настоящем документе, и фармацевтически приемлемый носитель. Конъюгаты лекарственного средства и лиганда могут быть в любой форме, которая делает возможным введение соединения пациенту для лечения нарушения, связанного с экспрессией антигена, с которым связывается звено лиганда. Например, конъюгат может быть в форме жидкости или твердого вещества. Предпочтительным путем

введения является парентеральный. Парентеральное введение включает подкожные инъекции, способы внутривенных, внутримышечных, интратеральных инъекций или инфузий. В одном из аспектов, композиции вводят парентерально. В одном из аспектов конъюгаты вводят внутривенно. Введение может происходить через любой удобный путь, например, посредством инфузии или инъекции болюса.

[321] Фармацевтические композиции можно формулировать с тем, чтобы позволять соединению быть биодоступным при введении композиции пациенту. Композиции могут принимать форму одной или нескольких единиц дозирования.

[322] Материалы, используемые при получении фармацевтических композиций, могут быть нетоксичными в используемых количествах. Специалистам в данной области очевидно, что оптимальная доза активного ингредиента (ингредиентов) в фармацевтической композиции зависит от различных факторов. Релевантные факторы включают, без ограничения, тип животного (например, человек), конкретную форму соединения, способ введения и используемую композицию.

[323] Композиция может быть, например, в форме жидкости. Жидкость можно использовать для доставки посредством инъекции. В композицию для введения посредством инъекции также может быть включено одно или несколько из поверхностно-активного вещества, консерванта, увлажняющего средства, диспергирующего средства, суспендирующего средства, буфера, стабилизатора и изотонического средства.

[324] Жидкие композиции, будь то растворы, суспензии или другая схожая форма, также могут содержать одно или несколько из следующего: стерильные разбавители, такие как вода для инъекций, солевой раствор, предпочтительно физиологический солевой раствор, раствор Рингера, изотонический хлорид натрия, жирные масла, такие как синтетические моно- или диглицериды, которые могут служить в качестве растворителя или суспендирующей среды, полиэтиленгликоли, глицерин, циклодекстрин, пропиленгликоль или другие растворители; антибактериальные средства, такие как бензиловый спирт или

метилпарабен; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или бисульфит натрия; хелатирующие средства, такие как этилендиаминтетрауксусная кислот; буферы, такие как аминокислоты, ацетаты, цитраты или фосфаты; детергенты, такие как неионные поверхностно-активные вещества, полиолы; и средства для корректировки тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. Парентеральная композиция может быть заключена в ампулу, одноразовый шприц или сосуд с множеством доз, выполненный из стекла, пластмассы или другого материала. Физиологический солевой раствор представляет собой образцовый адъювант. Инъецируемая композиция предпочтительно является стерильной.

[325] Количество конъюгата, которое эффективно при лечении конкретного нарушения или состояния, зависит от свойств нарушения или состояния, и его можно определять стандартными клиническими способами. Кроме того, анализы *in vitro* или *in vivo* можно необязательно использовать, чтобы помочь идентифицировать оптимальные диапазоны доз. Точная доза, подлежащая использованию в композициях, также зависит от пути введения и серьезности заболевания или нарушения, и решение о ней следует принимать в соответствии с суждением практика и обстоятельствами каждого пациента.

[326] Композиции содержат эффективное количество соединения так, что будет получена подходящая доза. Типично, это количество составляет по меньшей мере приблизительно 0,01% соединения по массе композиции.

[327] Для внутривенного введения композиция может содержать приблизительно от 0,01 приблизительно до 100 мг конъюгата лекарственного средства и лиганда на кг массы тела животного. В одном из аспектов, композиция может содержать приблизительно от 1 приблизительно до 100 мг конъюгата лекарственного средства и лиганда на кг массы тела животного. В другом аспекте вводимое количество находится в диапазоне приблизительно от 0,1 приблизительно до 25 мг соединения/кг массы тела. В зависимости от используемого лекарственного средства, доза даже может быть ниже, например, от 1,0 мкг/кг до

5,0 мг/кг, 4,0 мг/кг, 3,0 мг/кг, 2,0 мг/кг или 1,0 мг/кг, или от 1,0 мкг/кг до 500,0 мкг/кг массы тела субъекта.

[328] В целом, доза конъюгата, вводимого пациенту, типично составляет приблизительно от 0,01 мг/кг приблизительно до 100 мг/кг массы тела субъекта или от 1,0 мкг/кг до 5,0 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет между приблизительно 0,01 мг/кг и приблизительно 15 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет между приблизительно 0,1 мг/кг и приблизительно 15 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет между приблизительно 0,1 мг/кг и приблизительно 20 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления вводимая доза составляет между приблизительно 0,1 мг/кг и приблизительно 5 мг/кг или приблизительно от 0,1 мг/кг приблизительно до 10 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления вводимая доза составляет между приблизительно 1 мг/кг и приблизительно 15 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления вводимая доза составляет между приблизительно 1 мг/кг приблизительно и 10 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления вводимая доза составляет между приблизительно 0,1 и 4 мг/кг, даже более предпочтительно от 0,1 до 3,2 мг/кг или даже более предпочтительно от 0,1 до 2,7 мг/кг массы тела субъекта за цикл лечения.

[329] Термин «носитель» относится к разбавителю, адъюванту или эксципиенту, с которым вводят соединение. Такие фармацевтические носители могут представлять собой жидкости, такие как вода и масла, в том числе таковые, происходящие из нефти, животных, овощей или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, сезамовое масло. Носители могут представлять собой физиологический раствор, аравийскую камедь, желатин, крахмальную пасту, тальк, кератин, коллоидный диоксид кремния, мочевины. Кроме того, можно использовать вспомогательное средство, стабилизаторы, загустители, смазки и красители. В

одном из вариантов осуществления, когда вводят пациенту, соединение или композиции и фармацевтически приемлемые носители являются стерильными.

[330] Вода представляет собой образцовый носитель, когда соединения вводят внутривенно. Физиологические растворы и водные растворы декстрозы и глицерина также можно использовать в качестве жидких носителей, в частности, для инъеклируемых растворов. Подходящие фармацевтические носители также включают эксципиенты, такие как крахмал, глюкоза, лактоза, сахароза, желатин, солод, рис, мука, мел, силикагель, стеарат натрия, глицерин моностеарат, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропилен, гликоль, вода, этанол. Данные композиции, при желании, также могут содержать незначительные количества увлажняющих или эмульгирующих средств или pH буферные средства.

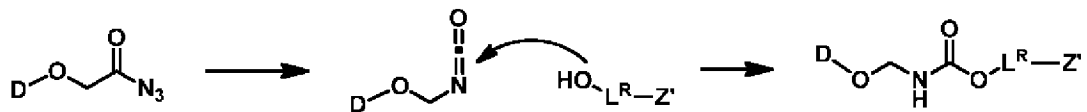
[331] В одном из вариантов осуществления конъюгаты формулируют в соответствии со стандартными процедурами, в качестве фармацевтической композиции, адаптированной для внутривенного введения животным, в частности, человеку. Типично, носители или наполнители для внутривенного введения представляют собой стерильные изотонические водные буферные растворы. При необходимости, композиции также могут включать солюбилизирующее средство. Композиции для внутривенного введения необязательно могут содержать местный анестетик, такой как лигнокаин, чтобы облегчать боль в месте инъекции. В целом, ингредиенты поставляют или отдельно или смешанными вместе в стандартной дозированной форме, например, в виде сухого лиофилизированного порошка или безводного концентрата в герметично закупоренном контейнере, таком как ампулы или саше, показывающие количество активного средства. Когда конъюгат подлежит введению путем инфузии, его можно отпускать, например, с флаконом для инфузий, содержащим стерильную воду или физиологический раствор фармацевтической степени чистоты. Когда конъюгат вводят посредством инъекции, ампулу стерильной воды для инъекций или физиологического раствора можно предоставлять с тем, чтобы ингредиенты можно было смешивать перед введением.

[332] Фармацевтические композиции в целом формулируют в виде стерильных, по существу изотонических средств и в полном соответствии с нормами Надлежащей производственной практики (GMP) из U.S. Food and Drug Administration.

Способы получения конъюгатов лекарственного средства и лиганда

[333] Конъюгаты лекарственного средства и лиганда, описанные в настоящем документе, можно получать путем последовательного конструирования антител, линкеров и звеньев лекарственного средства, или конвергентным образом посредством сборки частей, за которой следует завершающая стадия сборки. Перегруппировку Курциуса или синтез с хлорамином можно использовать для того, чтобы предоставлять метиленкарбаматный линкер, который является общим признаком всех конъюгатов, описанных в настоящем документе.

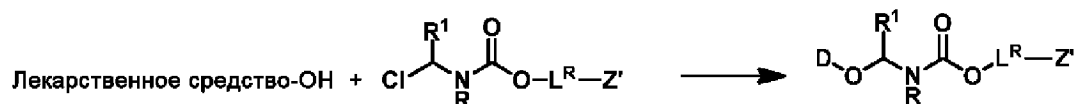
[334] Схема 5: получение образцовых лекарственных средств-линкеров с использованием реакции перегруппировки Курциуса:



[335] На схеме 5 проиллюстрирована стратегия синтеза, в которой используют перегруппировку Курциуса ацилазидного производного свободного лекарственного средства, в котором D представляет собой звено лекарственного средства, представляющее наличие гидроксильной функциональной группы, атом водорода которой встраивают в звено метиленадикарбамата, образованное вследствие перегруппировки, Z' представляет собой предшественник звена носителя и L^R представляет собой остальную часть линкерного звена (например, -Y(W)-A или -Y-W-A-, в которых Y связан с карбаматным кислородом и A связан с Z'). Эту стратегию можно применять к лекарственным средствам, которые содержат многоатомные спирты или другие гетероатомы в качестве средства достижения региоизбирательности, поскольку существует множество дополнительных способов алкилирования, чтобы формировать ацилазид, например: алкилирование сложных галоэфиров,

алкилирование галокислот или встраивание металлокарбенов с использованием этил- или метилдиазоацетата, см. Doyle, M. et al. *Modern Catalytic Methods for Organic Synthesis with Diazo Compounds*; Wiley: New York, 1998. Затем ацилазид нагревают с по меньшей мере стехиометрическим количеством спиртосодержащего промежуточного соединения линкерного звена, такого как структура 1.1. (см. примеры).

[336] Схема 6: получение образцовых лекарственных средств-линкеров через синтез N-хлорметиламина:

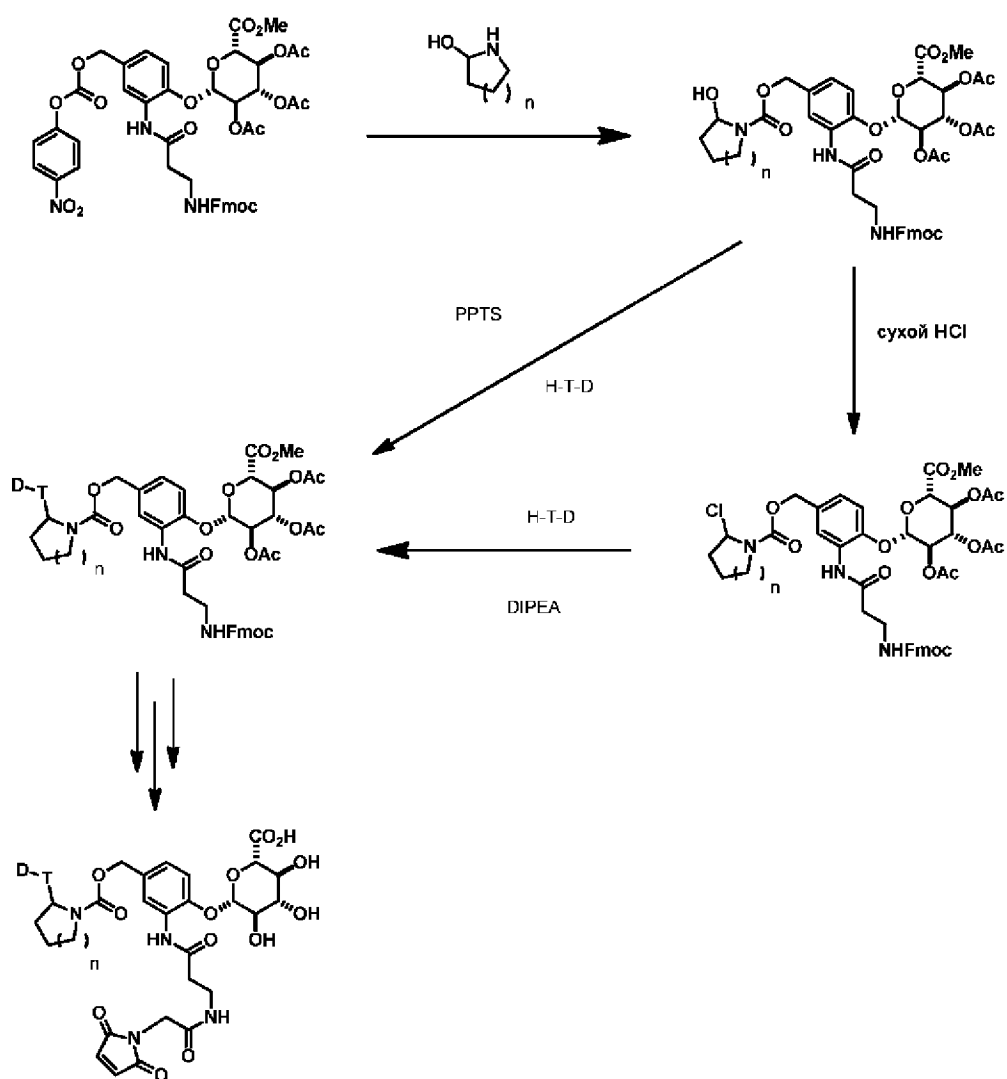


[337] Синтез N-хлорметиламина представляет собой альтернативу перегруппировке Курциуса в том отношении, что он делает возможным введение немодифицированного лекарственного средства, содержащего спирт или другой гетероатом, использование которого может быть не совместимо с условиями, необходимыми для того, чтобы формировать ацилазид по схеме 5, и продолжается конденсацией с реакционноспособным N-хлорметиламином, таким как структура 1.5 (см. примеры). Этот способ также является более подходящим для введения звеньев метиленкарбамата определенных типов, как показано, например, в схеме 7.

[338] На схеме 7 продемонстрирован синтез образцовых соединений лекарственного средства и линкера по настоящему изобретению, которые имеют саморасщепляющееся сборочное звено, содержащее метиленкарбамат формулы Ib. Реакция п-нитрофенилкарбоната с циклическим амином дает карбамат, который затем превращают в хлорциклоалкиламин для алкилирования с использованием нуклеофила из тиоловой, гидроксильной, аминной или амидной функциональной группы свободного лекарственного средства. Альтернативно, карбамат можно обрабатывать кислотой в присутствии фрагмента лекарственного средства для того, чтобы собирать показанное промежуточное соединение лекарственное средство-линкер. С продукта алкилирования снимают защитные группы, за чем следует конденсация получаемого свободного амина

со сложным N-гидроксисукцимидным эфиром 3-малеимидопропановой кислоты, которая вводит предшественник звена носителя, ковалентно прикрепленный к соединительному звену, таким образом предоставляя соединения лекарственного средства и линкера формулы . Получаемые соединения лекарственного средства и линкера после этого конденсируют с тиолосодержащим направленным лигандом, чтобы предоставлять конъюгаты лекарственного средства и лиганда, которые имеют саморасщепляющееся сборочное звено, состоящее из саморасщепляющегося фрагмента $-Y(W)-$ и звена метиленкарбамата формулы Ib.

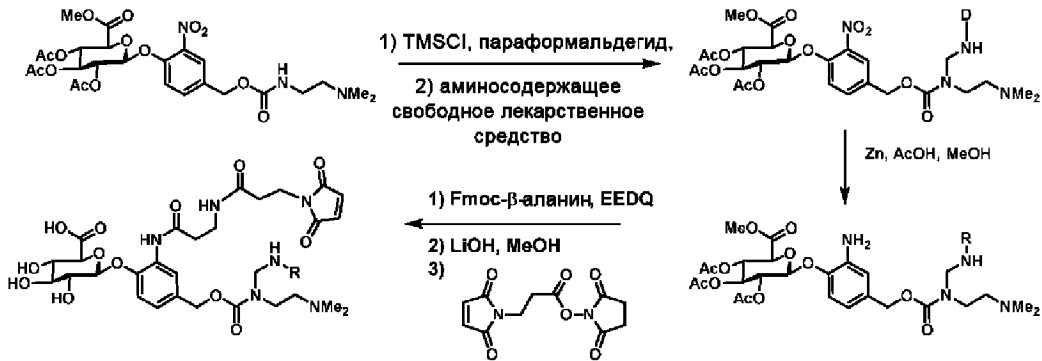
[339] Схема 7



[340] Для соединений лекарственного средства и линкера и конъюгатов лекарственного средства и лиганда, имеющих звено метиленкарбамата, в котором T* представляет собой гетероатом азота из первичного алифатического амина или замещенный

гетероатом из вторичного алифатического (циклического или ациклического), непосредственное алкилирование хлорметиламином после общих процедур, предусмотренных схемой 6 или схемой 7, может не подходить из-за чрезмерно или нежелательно повышенного алкилирования гетероатома азота из функциональной аминогруппы свободного лекарственного средства. В этих случаях можно использовать способ, реализованный на схеме 8.

[341] Схема 8.



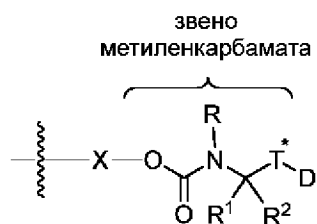
На схеме 8 получают промежуточное соединение карбамата, которое уже имеет основное звено (т. е., фрагмент диметиламиноэтила) в виде заместителя R для звена метиленкарбамата формулы Ia. Азот этого карбамата конденсируют с формальдегидом, и получаемое промежуточное соединение гасят с использованием функциональной аминогруппы алифатического аминоксодержащего лекарственного средства. При этой конденсации образуется метиленкарбамат, ковалентно прикрепленный к звену лекарственного средства формулы Ia, в котором R^1 представляет собой водород и R представляет собой диметиламиноэтил. Затем нитрогруппу фенила восстанавливают до с помощью общего способа из примера 8, чтобы предоставлять группу для последовательного введения соединительного звена (A) и предшественника звена носителя (Z').

Номерные варианты осуществления

[342] Следующие варианты осуществления дополнительно иллюстрируют изобретение и не подразумевают ограничения изобретения каким-либо образом.

[343] 1. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда, которое содержит звено лиганда, звено лекарственного

средства и линкерное звено, в котором линкерное звено состоит из саморасщепляющегося (СР) сборочного звена, которое имеет звено метиленкарбамата и активируемый саморасщепляющийся фрагмент, в котором звено метиленкарбамата ковалентно прикреплено к звену лекарственного средства и в котором СР сборочное звено, ковалентно прикрепленное к звену лекарственного средства, представлено структурой формулы СР:

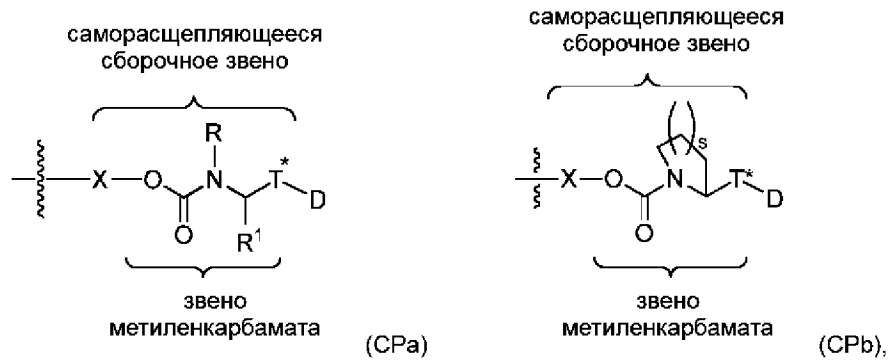


(СР) или ее фармацевтически приемлемой солью,

в которой

волнистая линия обозначает ковалентное прикрепление к остальной части линкерного звена; D представляет собой звено лекарственного средства, которое имеет гидроксильную, тиоловую, аминную или амидную функциональную группу, которая встроена в звено метиленкарбамата; T* представляет собой гетероатом кислорода, серы или необязательно замещенного азота из указанной функциональной группы, который становится встроенным в указанное звено метиленкарбамата; X представляет собой активируемый саморасщепляющийся фрагмент; R, R¹ и R² независимо представляют собой водород, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, необязательно замещенный C₆₋₁₄ арил или необязательно замещенный C-связанный C₃-C₈ гетероарил, или оба R и R¹ вместе с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, содержат фрагмент азетидинила, пирролодинила, пиперидинила или гомопиперидинила, и R² представляет собой водород.

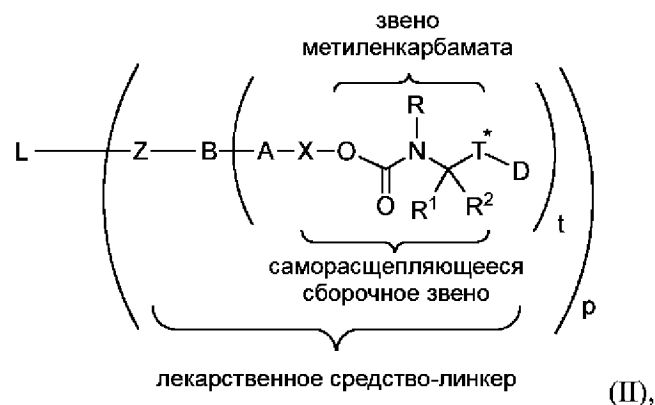
[344] 2. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 1, в котором СР сборочное звено, ковалентно прикрепленное к звену лекарственного средства, представлено структурой формулы СРa или СРb:



или его фармацевтически приемлемая соль, в котором s равно 0, 1, 2 или 3.

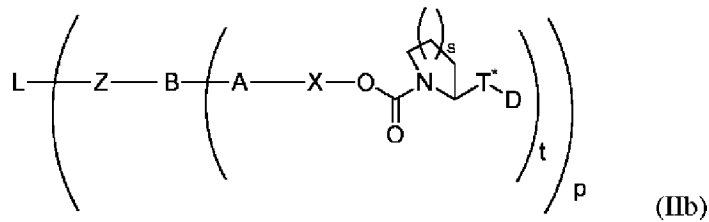
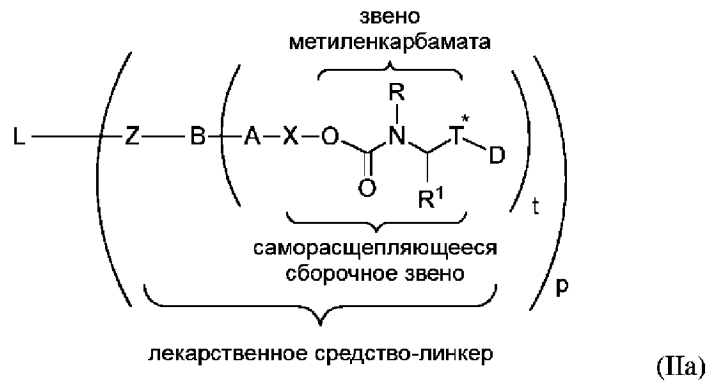
[345] 3. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по п. 2, в котором R и R^1 независимо выбирают из водорода, необязательно замещенного C_1-C_6 алкила или необязательно замещенного C_6-14 арила; и нижний индекс s равен 0, 1 или 2.

[346] 4. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 1, которое имеет формулу II:



или его фармацевтически приемлемая соль, в котором L представляет собой звено лиганда; Z представляет собой звено носителя; B представляет собой необязательное звено ветвления и присутствует, когда t больше 1, и отсутствует, когда t равно 1; A представляет собой необязательное соединительное звено; нижний индекс t находится в диапазоне от 1 до 4; и нижний индекс p представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 16.

[347] 5. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 4, которое имеет формулу IIa или IIb:



или его фармацевтически приемлемая соль, в котором s равно 0, 1, 2 или 3.

[348] 6. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 4, в котором R и R^1 независимо выбирают из водорода, необязательно замещенного C_1-C_6 алкила или необязательно замещенного C_6-14 арила, и нижний индекс s равен 0, 1 или 2.

[349] 7. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 5, в котором R и R^1 независимо выбирают из водорода, необязательно замещенного C_1-C_6 алкила или необязательно замещенного C_6-14 арила; и нижний индекс s равен 0, 1 или 2.

[350] 8. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления с 4 до 7, в котором R^1 не замещен.

[351] 9. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления с 4 до 7, в котором R^1 и R^2 не замещен.

[352] 10. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 4 или 5, в котором R , R^1 и R^2 не замещен.

[353] 11. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления с 4

до 9, в котором необязательные заместители независимо выбирают из группы, состоящей из $-X$, $-R^{op}$, $-OH$, $-OR^{op}$, SR^{op} , $N(R^{op})_2$, $N(R^{op})_3$, $=NR^{op}$, CX_3 , CN , NO_2 , $-NR^{op}C(=O)R^{op}$, $-C(=O)R^{op}$, $-C(=O)N(R^{op})_2$, $-S(=O)_2R^{op}$, $-S(=O)_2NR^{op}$, $-S(=O)R^{op}$, $-OP(=O)(OR^{op})_2$, $-P(=O)(OR^{op})_2$, $-PO_3=$, PO_3H_2 , $-C(=O)R^{op}$, $-C(=S)R^{op}$, $-CO_2R^{op}$, $-CO_2-$, $-C(=S)OR^{op}$, $-C(=O)SR^{op}$, $-C(=S)SR^{op}$, $-C(=O)N(R^{op})_2$, $-C(=S)N(R^{op})_2$ и $-C(=NR^{op})N(R^{op})_2$, в которых каждый X независимо выбирают из группы, состоящей из галогена: $-F$, $-Cl$, $-Br$, и $-I$; и каждый R^{op} независимо выбирают из группы, состоящей из водорода, $-C_1-C_{20}$ алкила, $-C_6-C_{20}$ арила, $-C_3-C_{14}$ гетероцикла, защитной группы и фрагмента пролекарственного средства.

[354] 12. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 11, в котором необязательные заместители выбирают из группы, состоящей из $-X$, $-R^{op}$, $-OH$, $-OR^{op}$, $-SR^{op}$, $-N(R^{op})_2$, $N(R^{op})_3$, $=NR^{op}$, $-NR^{op}C(=O)R^{op}$, $-C(=O)R^{op}$, $-C(=O)N(R^{op})_2$, $-S(=O)_2R^{op}$, $-S(=O)_2NR^{op}$, $-S(=O)R^{op}$, $-C(=O)R^{op}$, $-C(=S)R^{op}$, $-C(=O)N(R^{op})_2$, $-C(=S)N(R^{op})_2$ и $-C(=NR^{op})N(R^{op})_2$, в которых каждый X выбирают из группы, состоящей из $-F$ и $-Cl$; и каждый R^{op} независимо выбирают из группы, состоящей из водорода, $-C_1-C_{20}$ алкила, $-C_6-C_{20}$ арила, $-C_3-C_{14}$ гетероцикла, защитной группы и фрагмента пролекарственного средства.

[355] 13. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 11, в котором необязательные заместители выбирают из группы, состоящей из $-X$, $-R^{op}$, $-OH$, $-OR^{op}$, $-N(R^{op})_2$, $-N(R^{op})_3$, $-NR^{op}C(=O)R^{op}$, $-C(=O)N(R^{op})_2$, $-S(=O)_2R^{op}$, $-S(=O)_2NR^{op}$, $-S(=O)R^{op}$, $-C(=O)R^{op}$, $-C(=O)N(R^{op})_2$ и $-C(=NR^{op})N(R^{op})_2$, в которых X представляет собой $-F$.

[356] 14. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 11, в котором необязательный заместитель выбирают из группы, состоящей из $-N(R^{op})_2$, $N(R^{op})_3$ и $-C(=NR)N(R^{op})_2$.

[357] 15. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления с 1 до 9, в котором R представляет собой C_{1-6} алкил, необязательно замещенный основной группой.

[358] 16. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по любому одному п. из пп. с 1 до 9, в котором R представляет собой насыщенный C₁₋₆ алкил, необязательно замещенный основной группой.

[359] 17. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления с 1 до 9, в котором R представляет собой основное звено, в котором основная функциональная группа основного звена представляет собой амино- или азотосодержащий 3-, 4-, 5- или 6-членный гетероцикл, который является C-связанным или N-связанным и может быть необязательно замещен.

[360] 18. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 17, в котором R представляет собой основное звено, в котором основная функциональная группа основного звена представляет собой -N(R^{op})₂, в которой R^{op} независимо выбирают из группы, состоящей из водорода и C₁₋₆ алкила.

[361] 19. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 17, в котором R представляет собой основное звено, в котором основная функциональная группа основного звена представляет собой -N(R^{op})₂, в которой R^{op} независимо выбирают из группы, состоящей из водорода и метила.

[362] 20. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 17, в котором R представляет собой основное звено, в котором основная функциональная группа основного звена представляет собой -N(R^{op})₂, в которой каждый R^{op} представляет собой метил.

[363] 21. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 17, в котором R представляет собой основное звено, в котором основное звено представляет собой -CH₂CH₂N(R^{op})₂, в которой R^{op} независимо выбирают из группы, состоящей из водорода и метила.

[364] 22. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления с 15 до 21, в котором R¹ представляет собой водород.

[365] 23. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления с 1 до 22, в котором D представляет собой звено лекарственного средства, соответствующее лекарственному средству, которое имеет гидроксильную функциональную группу, которая встроена в звено метиленкарбамата с тем, чтобы T* представлял гетероатом кислорода из этой функциональной группы.

[366] 24. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 23, в котором D представляет собой звено лекарственного средства, соответствующее содержащему алифатический спирт лекарственному средству, в котором прикрепление D в конъюгате происходит через гетероатом кислорода гидроксильной функциональной группы алифатического спирта с тем, чтобы T* представлял атом кислорода из этой функциональной группы.

[367] 25. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 23, в котором D представляет собой звено лекарственного средства, соответствующее содержащему ароматический спирт лекарственному средству, в котором прикрепление D в конъюгате происходит через атом кислорода ароматического спирта с тем, чтобы T* представлял атом кислорода из этой функциональной группы.

[368] 26. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 25, в котором ароматический спирт не является фенолоспиртом.

[369] 27. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления с 4 до 26, в котором B отсутствует и нижний индекс t равен 1.

[370] 28. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления с 4 до 27, в которой структура, представляющая указанный активируемый саморасщепляющийся фрагмент (X) в линкерном звене,

представлена формулой (i) $\begin{array}{c} \text{---} \\ | \\ \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{array} \text{---W---Y---}^*$, в которой волнистая линия обозначает ковалентное прикрепление W к A, B или Z, в зависимости от присутствия или отсутствия A и/или B, и

звездочка (*) обозначает ковалентное прикрепление Y к звену метиленкарбамата, и в котором; W представляет собой активационное звено; и Y представляет собой саморасщепляющееся спейсерное звено, в котором активация саморасщепления Y ведет к высвобождению свободного лекарственного средства.

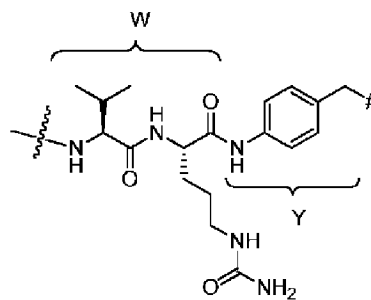
[371] 29. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 28, в котором активация для саморасщепления Y опосредована ферментативным расщеплением ковалентной связи между W и Y.

[372] 30. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 29, в котором ферментативное расщепление опосредовано опухоль-ассоциированной протеазой.

[373] 31. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 30, в котором опухоль-ассоциированная протеаза представляет собой катепсин В.

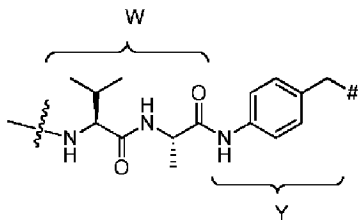
[374] 32. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно вариантам осуществления 30, в котором W представляет собой -Val-Cit-, -Phe-Lys- или -Val-Ala-.

[375] 33. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 30, в котором -W-Y-



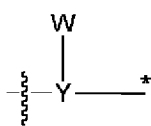
представляют собой структуру:

или



, в которых волнистая связь с азотом в W обозначает ковалентную связь с Z, A или B, в зависимости от присутствия или отсутствия A и/или B, и знак диэз (#) обозначает ковалентное прикрепление бензильного углерода из Y к звену метиленкарбамата.

[376] 34. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления с 4 до 27, в котором структура, представляющая указанный активируемый саморасщепляющийся фрагмент (X) в линкерном звене,

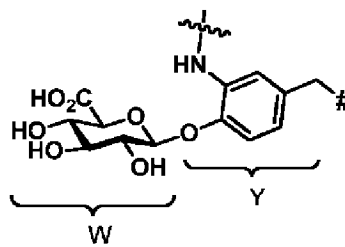
представлена формулой (ii): , в которой волнистая линия обозначает ковалентное прикрепление Y к A, B или Z, в зависимости от присутствия или отсутствия A и/или B, и звездочка (*) обозначает ковалентное прикрепление Y к фрагменту метиленкарбамата, и в котором; W представляет собой активационное звено; и Y представляет собой саморасщепляющееся спейсерное звено, в котором активация саморасщепления Y ведет к высвобождению свободного лекарственного средства.


[377] 35. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 34, в котором активация для саморасщепления Y опосредована ферментативным расщеплением ковалентной связи между W и Y, в котором ферментативное расщепление опосредовано гликозидазой.

[378] 36. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 35, в котором гликозидаза представляет собой глюкоксидазу.

[379] 37. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 35, в котором W представляет собой фрагмент сахара, соединенный с Y через гликозидную связь, способную к расщеплению гликозидазой для активации саморасщепления Y.

[380] 38. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 33, в котором -Y(W)-

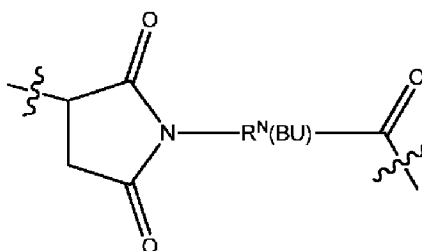


представляют структурой: , в котором волнистая связь смежно с азотом из Y обозначает ковалентное прикрепление Y к Z, A или B, в зависимости от присутствия или

отсутствия А и/или В, и знак диез (#) обозначает ковалентное прикрепление бензилового углерода из Y к звену метиленкарбамата.

[381] 39. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления с 4 до 38, в котором звено носителя (Z) содержит сукцинимидный фрагмент или фрагмент амида кислоты, в котором этот фрагмент прикрепляют к атому серы звена лиганда.

[382] 40. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 39, в котором звено носителя (Z) состоит из сукцинимидного фрагмента и представлено

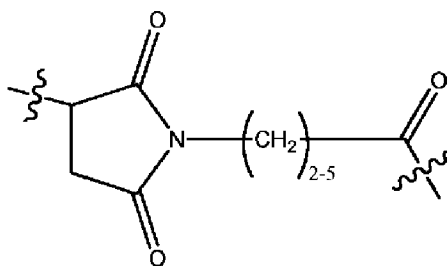


структурой формулы Xa' :

(Xa'), в

котором волнистая линия смежно с сукцинимидной кольцевой системой обозначает ковалентное прикрепление к атому серы звена лиганда; волнистая линия смежно с карбонилем обозначает прикрепление внутри линкера; и R^N представляет собой $-C_2-C_5$ алкилен, в котором алкилен необязательно замещен основным звеном (BU), в котором BU представляет собой $-(CH_2)_xNH_2$, $-(CH_2)_xNHR^{op}$ или $-(CH_2)_xN(R^{op})_2$, в котором x представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 4; и R^{op} представляет собой C_{1-6} алкил.

[383] 41. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 39, в котором звено носителя (Z) состоит из сукцинимидного фрагмента и представлено



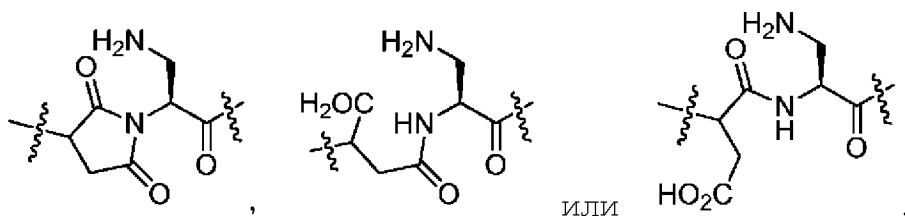
структурой:

, в которой волнистая линия

смежно с сукцинимидной кольцевой системой обозначает ковалентное прикрепление к атому серы звена лиганда, а

волнистая линия смежно с карбонилем обозначает прикрепление внутри линкера.

[384] 42. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 39, в котором звено носителя (Z) состоит из сукцинимидного фрагмента или фрагмента амида кислоты и представлено структурой:

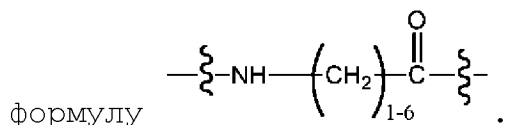


[385] 43. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления с 2 до 42, в котором присутствует соединительное звено (A).

[386] 44. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 43, в котором A

представляет собой: $\text{---}\xi\text{---NH---R}^{13}\text{---C(=O)\xi\text{---}}$, в котором волнистая линия смежно с карбонилем обозначает ковалентное прикрепление к активируемому саморасщепляющемуся фрагменту X саморасщепляющегося сборочного звена, а другая волнистая линия обозначает прикрепление к B, если присутствует, или к Z, если B отсутствует; и R^{13} представляет собой $\text{---C}_1\text{---C}_6$ 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- ($\text{---C}_3\text{---C}_8$ карбоцикло)-, $\text{---(C}_3\text{---C}_8$ карбоцикло)- $\text{---C}_1\text{---C}_{10}$ алкилен-, $\text{---C}_1\text{---C}_{10}$ алкилен- ($\text{---C}_3\text{---C}_8$ гетероцикло)- или $\text{---(C}_3\text{---C}_8$ гетероцикло)- $\text{---C}_1\text{---C}_{10}$ алкилен-.

[387] 45. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 44, в котором A имеет



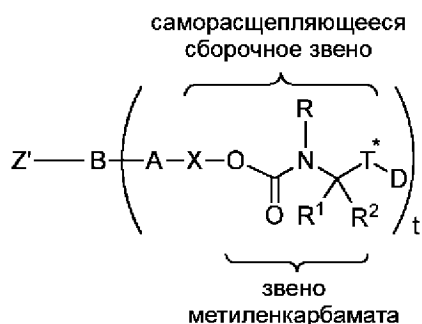
[388] 46. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления с 4 до 42, в котором A отсутствует.

[389] 47. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления с 4 до 46, в котором p находится в диапазоне от 1 до 10.

[390] 48. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления с 4 до 46, в котором p находится в диапазоне от 1 до 8.

[391] 49. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления с 1 до 48, в котором звено лиганда соответствует направленному антители.

[392] 50. Соединение лекарственного средства и линкера, в котором соединение содержит звено лекарственного средства и линкерного звена, в котором линкерное звено состоит из саморасщепляющегося сборочного звена, которое имеет звено метиленкарбамата и активируемый саморасщепляющийся фрагмент, в котором звено лекарственного средства ковалентно прикреплено к звену метиленкарбамата, в котором соединение лекарственного средства и линкера имеет структуру формулы V:

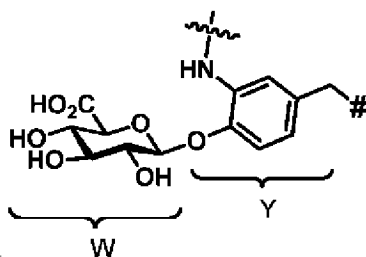


(V), или его фармацевтически приемлемая соль; в которой D представляет собой звено лекарственного средства, которое имеет гидроксильную, тиоловую, аминную или амидную функциональную группу, которая встроена в указанное звено метиленкарбамата; T^* представляет собой гетероатом кислорода, серы или необязательно замещенного азота из указанной функциональной группы, который становится встроенным в указанное звено метиленкарбамата; R, R^1 и R^2 независимо представляют собой водород, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный C_6-14 арил или необязательно замещенный C-связанный C_3-C_8 гетероарил, или оба R

и R^1 вместе с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, содержат фрагмент азетидинила, пирролодинила, пиперидинила или гомопиперидинила (предпочтительно фрагмент пирролодинила или пиперидинила), и R^2 представляет собой водород; X представляет собой активируемый саморасщепляющийся фрагмент; Z' представляет собой предшественник звена носителя для звена носителя (Z) и состоит из функциональной группы, которая обеспечивает ковалентное прикрепление звена лиганда к Z; B представляет собой необязательное звено ветвления, которое присутствует, когда t больше чем 1 и отсутствует, когда t равен 1; A представляет собой необязательное соединительное звено; и нижний индекс t находится в диапазоне от 1 до 4.

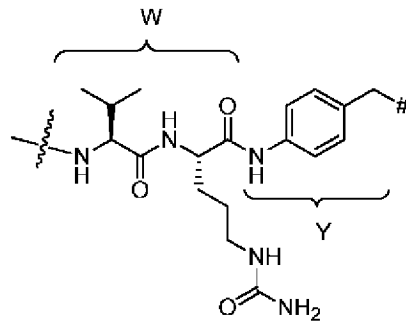
[393] 51. Соединение лекарственного средства и линкера согласно варианту осуществления 50, в котором D представляет собой звено лекарственного средства, соответствующее лекарственному средству, которое имеет гидроксильную функциональную группу, которая встроена в звено метиленкарбамата саморасщепляющегося сборочного звена; и T* представляет собой атом кислорода из этой функциональной группы.

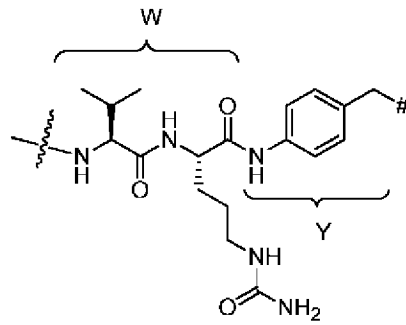
[394] 52. Соединение лекарственного средства и линкера согласно варианту осуществления 50 или 51, в котором X представляет собой $-Y(W)-$, в котором $-Y(W)-$ представляют



структурой: W , в которой волнистая связь смежно с азотом из Y обозначает ковалентное прикрепление к Z', A или B, в зависимости от присутствия или отсутствия A и/или B, и знак диес (#) обозначает ковалентное прикрепление бензильного углерода из Y к звену метиленкарбамата.

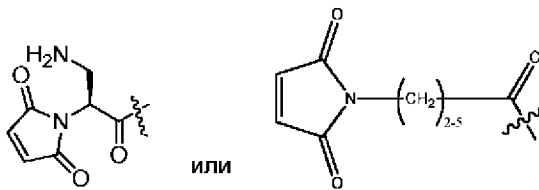
[395] 53. Соединение лекарственного средства и линкера согласно варианту осуществления 50 или 51, в котором X представляет собой $-W-Y$, в котором $-W-Y-$ представляют



структурой: , в которой волнистая связь смежно с гетероатомом азота из W обозначает ковалентное прикрепление W к Z', A или B, в зависимости от присутствия или отсутствия A и/или B, и знак диез (#) обозначает ковалентное прикрепление бензильного углерода из Y к звену метиленкарбамата.

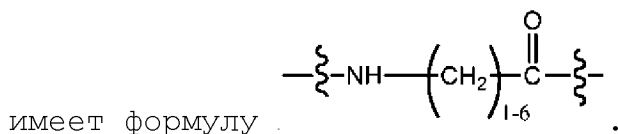
[396] 54. Соединение лекарственного средства и линкера согласно любому одному из вариантов осуществления с 50 до 53, в котором Z' содержит фрагмент малеимида.

[397] 55. Соединение лекарственного средства и линкера согласно варианту осуществления 54, в котором Z' имеет формулу:



, в которой волнистая линия смежно с карбонилем обозначает ковалентное прикрепление Z' к A, B или X, в зависимости от присутствия или отсутствия A и/или B.

[398] 56. Соединение лекарственного средства и линкера по любому одному из пп. с 50 до 55, в котором A присутствует и



имеет формулу .

[399] 57. Соединение лекарственного средства и линкера согласно любому одному из вариантов осуществления с 50 до 56, в котором B отсутствует и t равно 1.

[400] 58. Соединение лекарственного средства и линкера по любому одному из пп. с 50 до 56, в котором присутствует B и t равно 2.

[401] 59. Композиция конъюгата лекарственного средства и лиганда, которая содержит множество соединений конъюгата, в

которых каждое имеет структуру соединения конъюгата лекарственного средства и лиганда по любому одному из пп. с 1 до 49, в которых соединения конъюгата различаются их значениями целого числа r ; и фармацевтически приемлемый носитель.

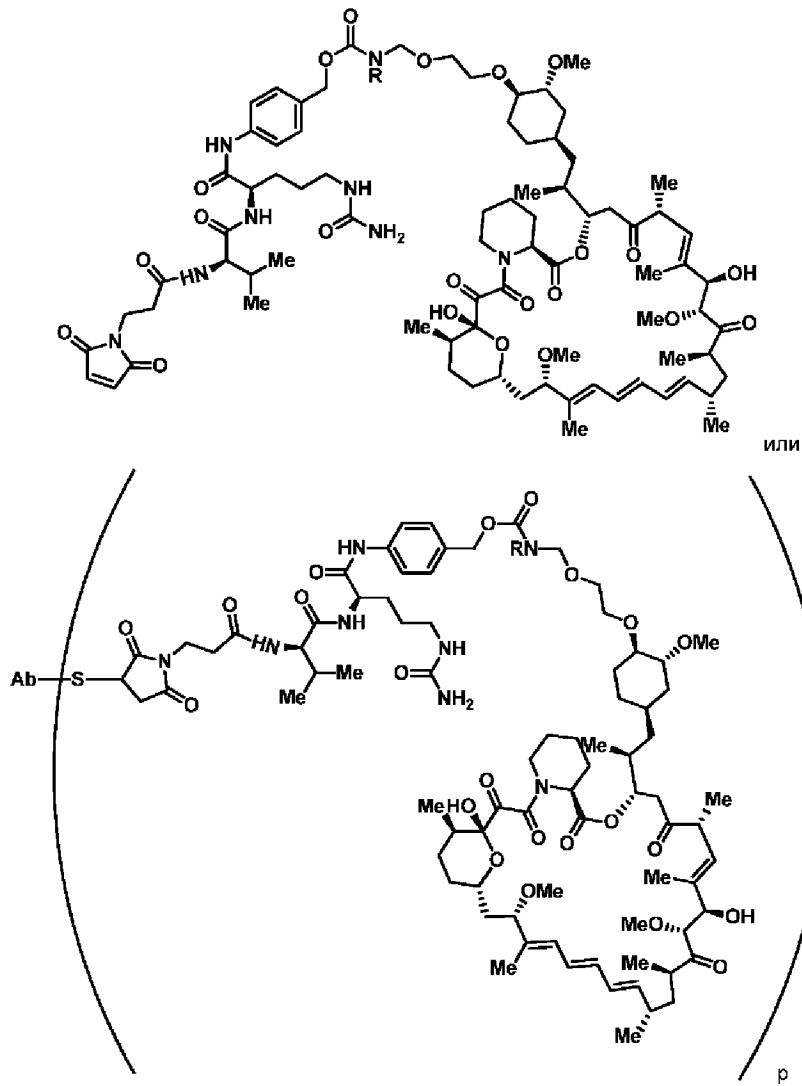
[402] 60. Композиция конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 59, в которой в среднем имеет место от 2 до 10 лекарственных средств-линкеров на звено лиганда.

[403] 61. Композиция конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 59, в которой в среднем имеет место от 2 до 8 лекарственных средств-линкеров на звено лиганда.

[404] 62. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления 1-49, соединение лекарственного средства и линкера по любому одному из пп. 50-58 или композиция конъюгата лекарственного средства и лиганда по любому одному из пп. 59-61, в которых звено лекарственного средства соответствует по структуре соединению, которое имеет функциональную гидроксильную группу, гетероатом кислорода которой способен ко встраиванию в звено метиленкарбамата, в которых соединение связывается с FKBP для того, чтобы ингибировать mTOR или эффекторную функцию кальциневрина.

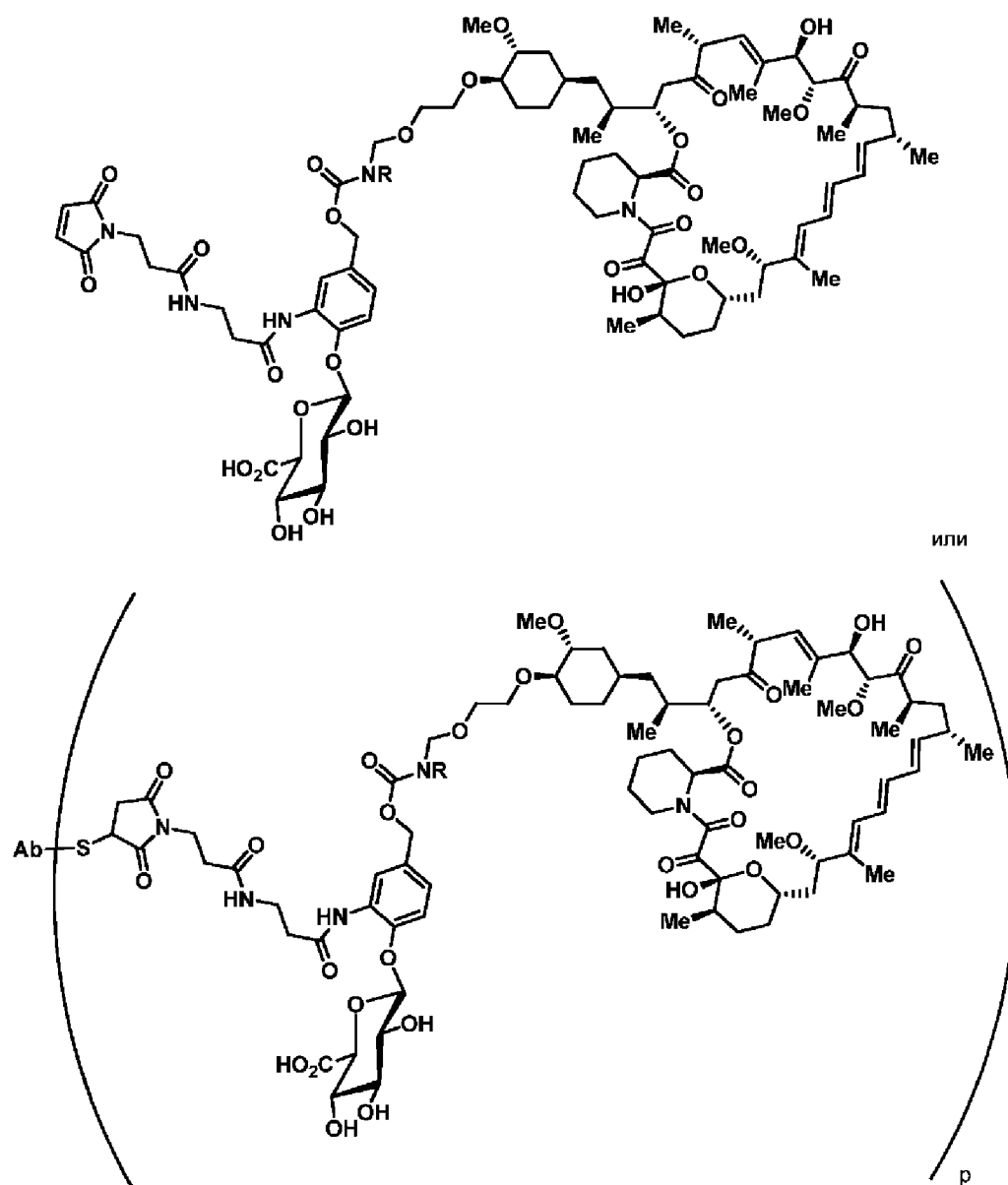
[405] 63. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда, соединение лекарственного средства и линкера или композиция конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 62, в которых связывающее FKBP соединение представляет собой эверолимус, такролимус или сиролимус.

[406] 64. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда, соединение лекарственного средства и линкера или композиция конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 62, в которых соединение или композиция имеет структуру:



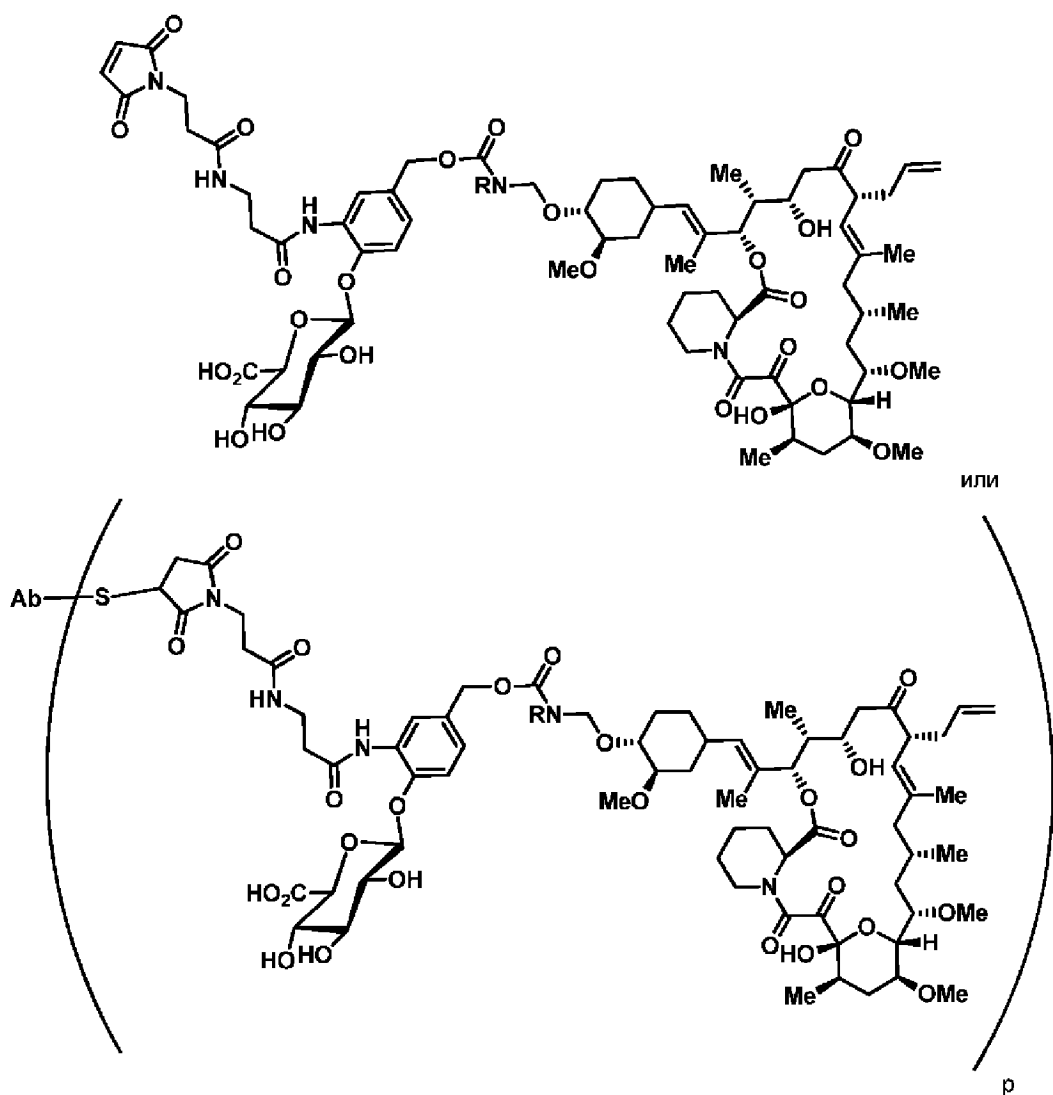
в которой фрагмент Ab-S- представляет собой звено лиганда из направленного антитела; R представляет собой водород, этил или $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$; и p находится в диапазоне от 1 до 20, от 1 до 16 или от 1 до 8.

[407] 65. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда, соединение лекарственного средства и линкера или композиция конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 62, в которых соединение или композиция имеет структуру:



в которой фрагмент Ab-S- представляет собой звено лиганда из направленного антитела; R представляет собой водород, этил или $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$; и p находится в диапазоне от 1 до 20, от 1 до 16 или от 1 до 8.

[408] 66. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда, соединение лекарственного средства и линкера или композиция конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно варианту осуществления 62, в которых соединение или композиция имеет структуру:



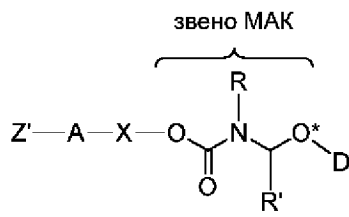
в которой фрагмент Ab-S- представляет собой звено лиганда из направленного антитела; R представляет собой водород, этил или $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$; и p находится в диапазоне от 1 до 20, от 1 до 16 или от 1 до 8.

[409] 67. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления 1-49, соединение лекарственного средства и линкера согласно любому одному из вариантов осуществления 50-58 или композиция конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления 59-61, в которых звено лекарственного средства соответствует по структуре ауристатину, который имеет гидроксильную функциональную группу, гетероатом кислорода которой способен ко встраиванию в звено метилкарбамата, в котором соединение связывается с тубулином, чтобы нарушать функцию тубулина.

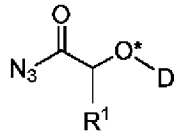
[410] 68. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда, соединение лекарственного средства и линкера или композиция конъюгата лекарственного средства и лиганда по варианту осуществления 67, в которых ауристатин представляет собой MMAE или ауристатин Т.

[411] 69. Способ лечения злокачественной опухоли или аутоиммунного заболевания, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления с 1 до 49 или композиции конъюгата лекарственного средства и лиганда согласно любому одному из вариантов осуществления с 59 до

[412] 70. Способ получения соединения лекарственного средства и линкера, которое имеет структуру



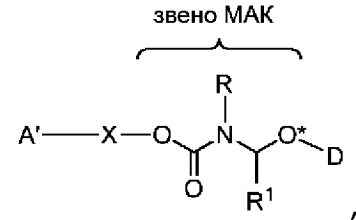
, указанный способ включает: приведение модифицированного свободного лекарственного средства, которое



имеет структуру: в контакт с промежуточным соединением фрагмента линкера, представленным как: Z'-A-X'-OH в условиях, достаточных для предоставления указанного звена МАК через перегруппировку Курциуса, в которой D представляет собой звено лекарственного средства, которое имеет гидроксильную функциональную группу, которая встроена в МАК, гетероатом кислорода из которой обозначают как O*; Z' представляет собой предшественник звена носителя для звена носителя (Z) в конъюгате лекарственного средства и лиганда и состоит из функциональной группы, способной к конъюгации с направленным лигандом; A представляет собой необязательное соединительное звено; X представляет собой активируемый саморасщепляющийся фрагмент; X' представляет собой предшественник саморасщепляющегося фрагмента для X и имеет гидроксильную

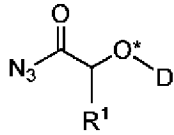
функциональную группу, которая участвует в перегруппировке Курциуса; R представляет собой водород; и R¹ представляет собой водород или C₁-C₆ алкил, C₆-C₁₄ арил или C-связанный гетероарил, необязательно замещенный подходящей защитой, при необходимости.

[413] 71. Способ получения промежуточного соединения для соединения лекарственного средства и линкера, в котором



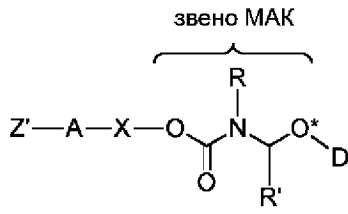
промежуточное соединение имеет структуру:

указанный способ включает: приведение модифицированного свободного лекарственного средства, которое имеет структуру:

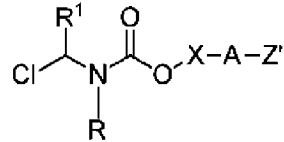


в контакт с саморасщепляющимся промежуточным соединением, представленным как: A'-X-OH, в условиях, достаточных для предоставления указанного звена МАК через перегруппировку Курциуса, в которой D представляет собой звено лекарственного средства, которое имеет гидроксильную функциональную группу, которая встроена в МАК, гетероатом кислорода из которой обозначают как O*, A' представляет собой предшественник соединительного звена для соединительного звена (A) и состоит из функциональной группы для образования связи с остальной частью линкерного звена соединения лекарственного средства и линкера; X представляет собой активируемый саморасщепляющийся фрагмент; R представляет собой водород; и R¹ представляет собой водород или C₁-C₆ алкил, C₆-C₁₄ арил или C-связанный гетероарил, необязательно замещенный подходящей защитой, при необходимости.

[414] 72. Способ получения соединения лекарственного средства и линкера, в котором соединение имеет структуру:

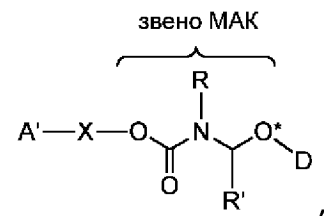


, указанный способ включает: приведение лекарственного средства, которое имеет свободную гидроксильную функциональную группу, в контакт с N-хлорметиламином, который



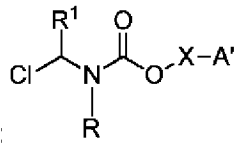
имеет структуру: в условиях, достаточных для замещения атома хлора на гетероатом кислорода из указанной функциональной группы свободного лекарственного средства, в которой Z' представляет собой предшественник звена носителя для звена носителя (Z) соединения лекарственного средства и линкера и содержит функциональную группу для прикрепления направленного лиганда; A представляет собой необязательное соединительное звено; X представляет собой активируемый саморасщепляющийся фрагмент; R представляет собой водород или C₁-C₆ алкил, C₆-C₁₄ арил или C-связанный гетероарил, необязательно замещенный подходящей защитой; и R¹ представляет собой водород или C₁-C₆ алкил, C₆-C₁₄ арил или C-связанный гетероарил, необязательно замещенный подходящей защитой, при необходимости, или R и R¹ вместе с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, содержат фрагмент пирролодимила или пиперидинила.

[415] 73. Способ получения промежуточного соединения для соединения лекарственного средства и линкера, в котором



промежуточное соединение имеет структуру:

указанный способ включает: приведение лекарственного средства, которое имеет свободную гидроксильную функциональную группу, в контакт с N-хлорметиламином, который имеет структуру:

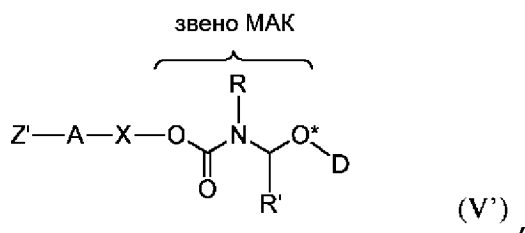


в условиях, достаточных для замещения атома хлора на гетероатом кислорода из указанной функциональной группы свободного лекарственного средства, в которой Z' представляет собой предшественник звена носителя для звена носителя (Z) соединения лекарственного средства и линкера и содержит функциональную группу для прикрепления направленного лиганда; A' представляет собой предшественник соединительного звена для соединительного звена (A) и состоит из функциональной группы для образования связи с остальной частью линкерного звена соединения лекарственного средства и линкера; X представляет собой активируемый саморасщепляющийся фрагмент; R представляет собой водород или C₁-C₆ алкил, C₆-C₁₄ арил или C-связанный гетероарил, необязательно замещенный подходящей защитой; и R¹ представляет собой водород или C₁-C₆ алкил, C₆-C₁₄ арил или C-связанный гетероарил, необязательно замещенный подходящей защитой, при необходимости, или R и R¹ вместе с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, содержат фрагмент пирролодимила или пиперидинила.

ПРИМЕРЫ

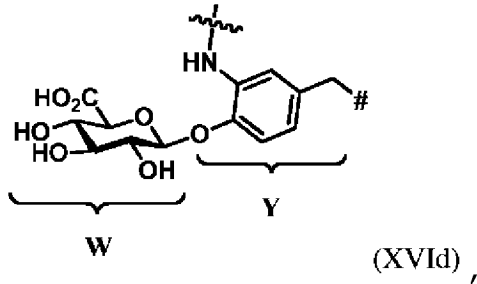
Краткое изложение

[416] В примерах 1 и 2 описаны альтернативы получения соединения лекарственного средства и линкера, которое имеет звено лекарственного средства (D), ковалентно прикрепленное к звену метиленалкоксихарбамата формулы Ia', в котором звено лекарственного средства происходит из ауристатина E. Получаемое соединение лекарственного средства и линкера имеет обобщенную структуру формулы V' :



в которой R и R' представляют собой водород, а активируемый фрагмент X представляет собой -Y(W)-, в котором -

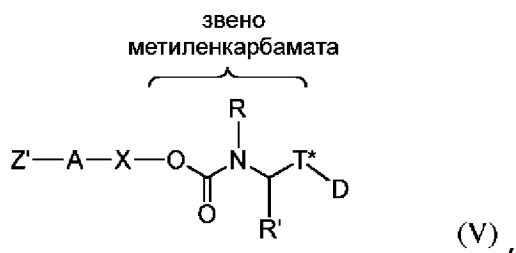
Y(W) – имеет структуру формулы XVIId:



в которой волнистая линия к гетероатому азота саморасщепляющегося спейсерного звена (Y) обозначает ковалентное прикрепление к соединительному звену (A) и знак диес (#) обозначает ковалентное прикрепление бензильного углерода из Y к звену МАК, в которой O* представляет собой гетероатом кислорода из гидроксильной функциональной группы свободного лекарственного средства.

[417] В примерах 3, 4 и 5 описан синтез соединений лекарственного средства и линкера, в которых звенья лекарственного средства происходят из триптолида, эверолимуса и такролимуса (FK-506), соответственно, в которых гидроксильную функциональную группу свободного лекарственного средства используют при конъюгации с тем, чтобы ее гетероатом кислорода становился встроенным в звено МАК формулы Ia'. Для двух из этих лекарственных средств (такролимус и триптолид) гидроксильная функциональная группа представляет собой стерически-затрудненную вторичную гидроксильную функциональную группу.

[418] В примере 6 описан синтез соединения лекарственного средства и линкера, которое имеет звено лекарственного средства (D), ковалентно прикрепленное к звену метиленкарбамата формулы Ia, в котором звено лекарственного средства происходит из тетрагидрохинолин-содержащего соединения (BMN-673). Получаемое соединение лекарственного средства и линкера имеет обобщенную структуру формулы V:



в которой R и R' представляют собой водород, а активируемый фрагмент X представляет собой $-Y(W)-$, который имеет структуру формулы XVIId, и в которой T* представляет циклизованный гетероатом азота из функциональной аминогруппы ($-NH-$) в тетрагидрохинолиновой кольцевой системе из BMN-673, который встроен в звено метиленкарбамата. В примере продемонстрирован вариант звена МАК, адаптированный для использования для конъюгации аминоксодержащих лекарственных средств, в этом случае, когда T* представляет собой азот циклического анилина.

[419] В примере 7 описано получение модельных саморасщепляющихся сборочных звеньев, каждое из которых состоит из звеньев МАК, и их варианта, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства, соответствующего модельным соединениям лекарственного средства для тиолосодержащих лекарственных средств, содержащих первичные, вторичные и третичные алифатические спирты лекарственных средств и фенолоспиртосодержащих лекарственных средств, где каждое саморасщепляющееся сборочное звено способно к высвобождению модельного соединения лекарственного средства после инициации саморасщепления в саморасщепляющемся сборочном звене.

[420] В примере 8 описана устойчивость к самопроизвольному гидролизу звеньев МАК и их вариантов *in vitro* в саморасщепляющихся сборочных звеньях фрагментов лекарственное средство-линкер в модельных конъюгатах лекарственного средства и лиганда и неожиданное увеличение времени полужизни при pH 7,0, которое является результатом связывания основного звена с карбаматным азотом звена МАК.

[421] В примере 9 описаны устойчивости N-ацетилцистеиновых (NAC) конъюгатов *in vitro*, в которых N-ацетилцистеиниловый

фрагмент представляет собой замену для звена лиганда, к самопроизвольному гидролизу их звеньев метиленкарбамата.

[422] В примере 10 описана устойчивость ADC *ex vivo* к самопроизвольному гидролизу его звена метиленкарбамата.

[423] В примере 11 описано высвобождение лекарственного средства или модельных соединений для тиолосодержащего лекарственного средства, содержащих первичные, вторичные и третичные алифатические спирты лекарственных средств и содержащего ароматический спирт лекарственного средства из NAC-конъюгатов, имеющих саморасщепляющееся сборочное звено, состоящее из звена МАК или его варианта после активации этого звена глюконидазой.

[424] В примере 12 описано эффективное высвобождение тетрагидрохиолин-содержащего соединения (BMN-673), азот ароматического амина которого соответствует необязательно замещенному гетероатому азота звена метиленкарбамата, ковалентно прикрепленного к звену лекарственного средства из NAC-конъюгата, состоящего из саморасщепляющегося сборочного звена, при активации при определенных условиях, которое инициирует саморасщепление в саморасщепляющихся сборочных звеньях, состоящих из этих звеньев метиленкарбамата.

[425] В примере 13 описана цитотоксичность конъюгатов лекарственного средства и антитела в клетках злокачественной опухоли, на которые направлено антительное звено лиганда, каждый имеет звено МАК, которое при определенных условиях высвобождает цитотоксическое свободное лекарственное средство.

Общая информация

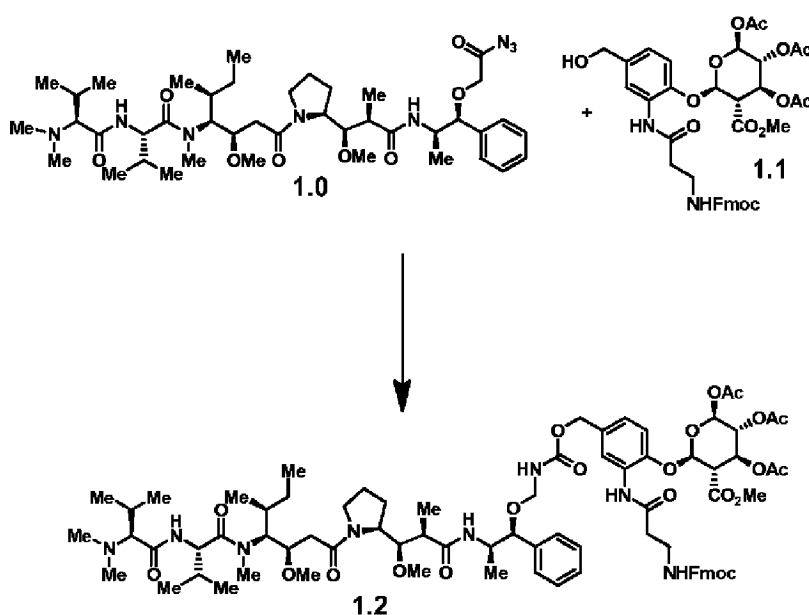
[426] Следующую информацию можно применять к процедурам синтеза, описанном в этом разделе, если не указано иное. Все коммерчески доступные безводные растворители использовали без дополнительной очистки. Аналитическую тонкослойную хроматографию осуществляли на алюминиевых листах с силикагелем 60 F254 (EMD Chemicals, Gibbstown, NJ). Круговую хроматографию осуществляли на аппарате Chromatotron™ (Harris Research, Palo Alto, CA). Колоночную хроматографию осуществляли на системе скоростной очистки Biotage Isolera One™ (Charlotte, NC).

Аналитическую ВЭЖХ осуществляли на системе подачи растворителя Varian ProStar™ 210, выполненной с использованием детектора Varian ProStar 330 PDA. Образцы элюировали через колонку с обращенной фазой C₁₂ Phenomenex Synergi™ 2,0×150 мм, 4 мкм, 80 Å. Кислая подвижная фаза состояла из ацетонитрила и воды, оба содержат или 0,05% трифторуксусной кислоты или 0,1% муравьиной кислоты. Соединения элюировали с линейным градиентом кислого ацетонитрила от 5% на 1 мин после инъекции, до 95% на 11 мин, после чего следовал изократический 95% ацетонитрил до 15 мин (скорость потока = 1,0 мл/мин). LC-MS осуществляли на масс-спектрометре Waters Xevo™ G2 Tof, сопряженном с Waters 2695 Separations Module, оборудованным колонкой с обращенной фазой C₁₂ Phenomenex Synergi 2,0×150 мм, 4 мкм, 80 Å, с Waters 2996 Photodiode Array Detector. Кислый элюент состоял из линейного градиента ацетонитрила от 5% до 95% в 0,1% водной муравьиной кислоте в течение 10 мин, после чего следовал изократический 95% ацетонитрил в течение 5 мин (скорость потока = 0,4 мл/мин). UPLC-MS осуществляли на масс-детекторе Waters SQ, сопряженном с Acquity Ultra Performance™ LC, оборудованном колонкой с обращенной фазой Acquity UPLC BEH C₁₈ 2,1×50 мм, 1,7 мкм. Кислая подвижная фаза (0,1% муравьиная кислота) состояла из градиента от 3% ацетонитрила/97% воды до 100% ацетонитрила (скорость потока = 0,5 мл/мин, если не указано иное). Preparative ВЭЖХ осуществляли на системе подачи растворителя Varian ProStar 210, выполненной с использованием детектора Varian ProStar 330 PDA. Продукты очищали на колонке с обращенной фазой C₁₂ Phenomenex Synergi 10,0×250 мм, 4 мкм, 80 Å, осуществляя элюирование с 0,1% трифторуксусной кислотой в воде (растворитель А) и 0,1% трифторуксусной кислотой в ацетонитриле (растворитель В). Способ очистки состоял из следующего градиента от растворителя А к растворителю В: 90:10 от 0 до 5 мин; от 90:10 до 10:90 от 5 мин до 80 мин; после чего следовал изократический 10:90 в течение 5 мин. Скорость потока составляла 4,6 мл/мин при мониторинге на 254 нм.

[427] Пример 1: синтез соединения лекарственного средства

ауристин Е и линкера, которое содержит МАК линкер, с использованием перегруппировки Курциуса

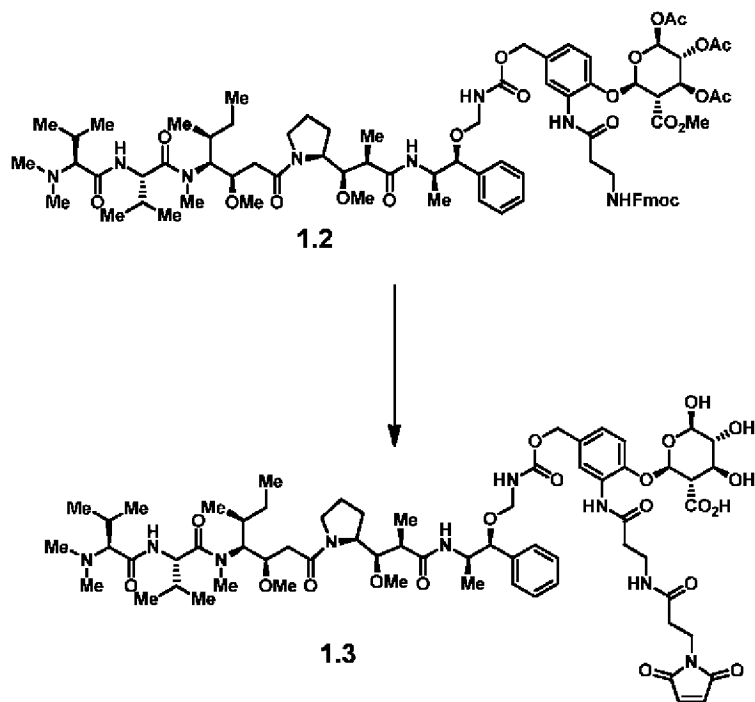
[428] Синтез (2*S*, 3*R*, 4*S*, 5*S*, 6*S*)-6-(2-(3-(((9*H*-флуорен-9-ил) метокси) карбонил) амино) пропанамидо)-4-((7*S*, 8*R*, 11*R*, 12*R*)-12-((*S*)-1-((3*R*, 4*S*, 5*S*)-4-((*S*)-2-((*S*)-2-(диметиламино)-3-метилбутанамидо)-*N*, 3-диметилбутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил) пирролидин-2-ил)-8, 11-диметил-3, 10-диоксо-7-фенил-2, 6, 13-триокса-4, 9-дiazатетрадецил) фенокси)-5-(метоксикарбонил) тетрагидро-2*H*-пиран-2, 3, 4-триил триацетата (1.2) через перегруппировку Курциуса



[429] К азидокетону 1.0 (30 мг, 37 мкмоль), синтезированному из соответствующего свободного спирта ауристина (синтез 1.1 см. в Jeffrey et al., Org. Lett. (2010) 12:277) в DMF (250 мкмоль) при RT в раствор добавляли 1.1 (90 мг, 120 мкмоль), после чего следовало 5 мкл дилаурата дибутилолова. Затем реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 1 часа, LC/MS показывала, что за это время реакция завершалась. Впоследствии, реакцию очищали непосредственно с помощью препаративной ВЭЖХ (градиент 5-95 ацетонитрил/вода 0,05% TFA) с выходом 22 мг 1.2. MS (*m/z*) [*M*+*H*]⁺ вычисленн. для C₈₀H₁₁₀N₈O₂₂ 1535,77, экспериментальн. 1535,80.

[430] Синтез (2*S*, 3*S*, 4*S*, 5*R*, 6*R*)-2-(4-((7*S*, 8*R*, 11*R*, 12*R*)-12-((*S*)-1-((3*R*, 4*S*, 5*S*)-4-((*S*)-2-((*S*)-2-(диметиламино)-3-метилбутанамидо)-*N*, 3-диметилбутанамидо)-3-метокси-5-

метилгептаноил) пирролидин-2-ил) -8,11-диметил-3,10-диоксо-7-фенил-2,6,13-триокса-4,9-дiazатетрадецил) -2-(3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) пропанамидо) пропанамидо) фенокси) -4,5,6-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-3-карбоновой кислоты (1.3):

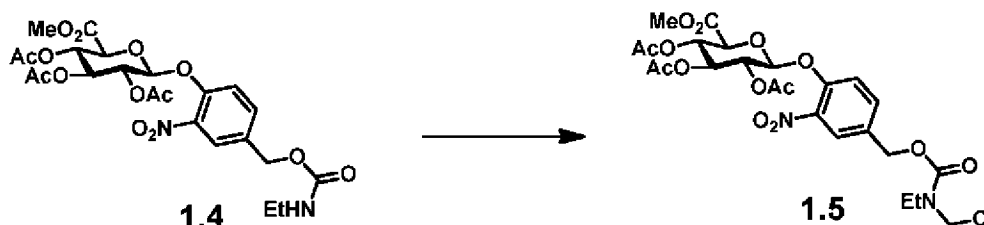


[431] В раствор 1.2 (15 мг, 10 мкмоль) в MeOH:вода 1:1 добавляли LiOH (5 мг). Получаемую реакционную смесь энергично перемешивали в течение 10 мин при RT, LC/MS показывала, что за это время реакция завершалась. Затем реакционную смесь непосредственно очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (градиент 5-95 ацетонитрил/вода 0,05% TFA) с выходом 8 мг 1.2 со снятыми защитными группами. Впоследствии DMF (100 мкл) добавляли в сосуд, содержащий 8 мг 1.2 со снятыми защитными группами, после чего следовал 20 мкл основания Хунига и 10 мг (40 ммоль) сложного N-гидроксисукцимидного эфира 3-малеимидопропановой кислоты. Затем реакцию перемешивали в течение 10 минут при RT, LC/MS показывала, что за это время реакция завершалась. После этого, реакцию непосредственно очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (градиент 5-95 ацетонитрил/вода 0,05% TFA) с выходом 7 мг 1.3, выход 60%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₆₅H₉₇N₉O₂₀ 1324,68, экспериментальн. 1324,60.

[432] Пример 2: синтез соединения лекарственного средства

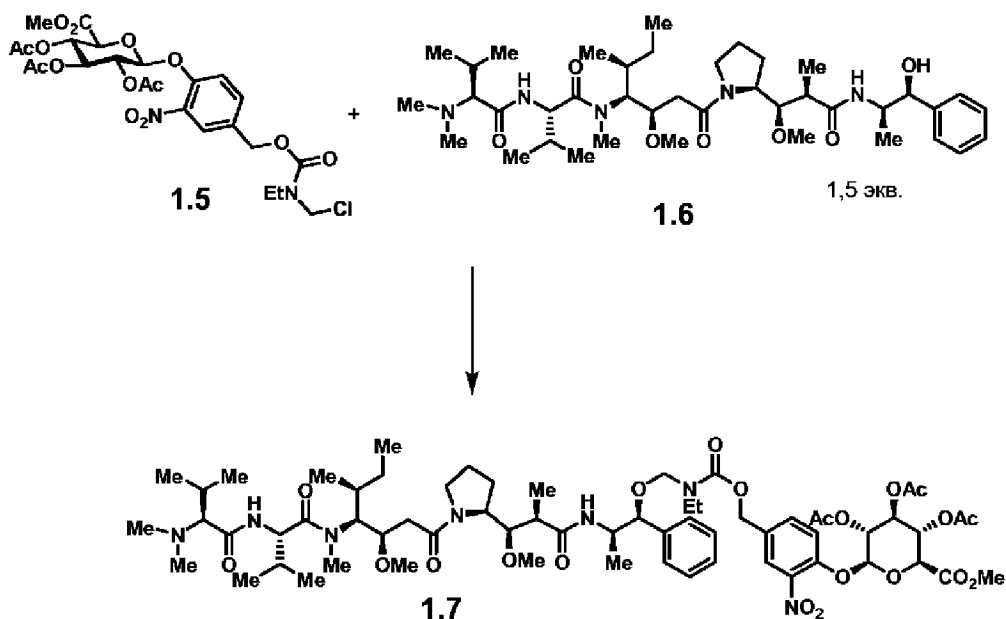
ауристин Е и линкера, содержащего МАК линкер, через синтез N-хлорметиламина

[433] Синтез (2S, 3R, 4S, 5S, 6S)-2-(4-(((хлорметил) (этил) карбамоил) окси) метил)-2-нитрофенокси)-6-(метоксикарбонил) тетрагидро-2H-пиран-3, 4, 5-триил триацетата (1.5):



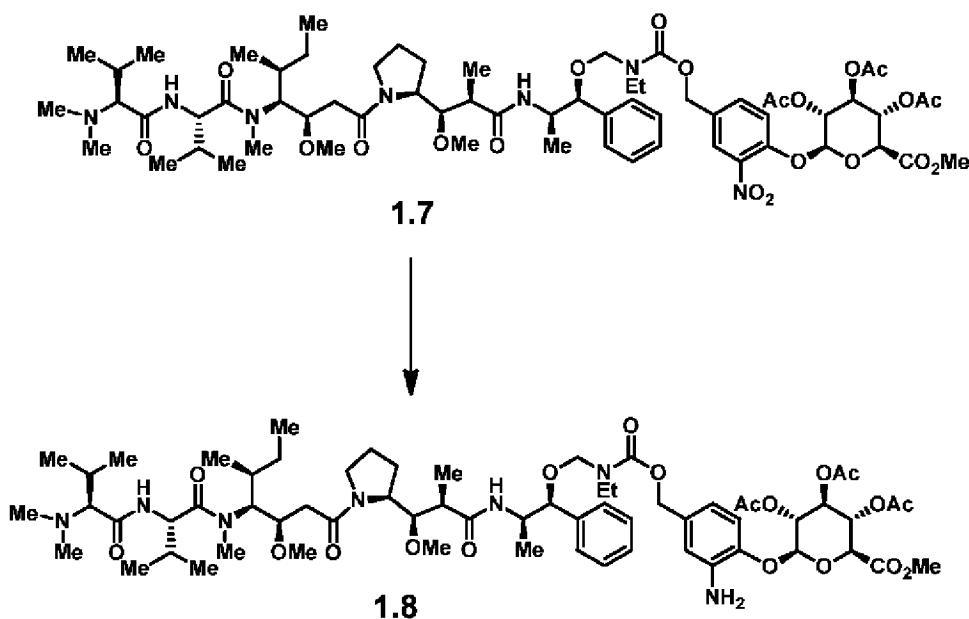
[434] В раствор 1.4 (400 мг, 0,36 ммоль) (о получении 1.4 см. в Bosslet et al., 1998, J. Med. Chem. 41:3572) в DCM (4 мл) добавляли параформальдегид (32 мг, 0,54 ммоль) и TMSCl (0,212 мл, 1,1 ммоль). Реакцию перемешивали в течение дополнительных 2 часов при RT с мониторингом посредством использования метанола в качестве разбавителя и последующего образования аддукта метанола посредством LC/MS. После того, как реакцию фильтровали и сушили in vacuo, 450 мг неочищенного 1.5 использовали в последующей реакции без дополнительной очистки (см. процедуру в Barnes et al., 2009, Org. Lett. 11:273). MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для аддукта метанола C₂₅H₃₂N₂O₁₅ 601,18, экспериментальн. 601,21.

[435] Синтез (2R, 3S, 4R, 5R, 6R)-2-(4-((7S, 8R, 11R, 12R)-12-((S)-1-((3R, 4S, 5S)-4-((S)-2-((S)-2-(диметиламино)-3-метилбутанамидо)-N, 3-диметилбутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил) пирролидин-2-ил)-4-этил-8, 11-диметил-3, 10-диоксо-7-фенил-2, 6, 13-триокса-4, 9-дiazатетрадецил)-2-нитрофенокси)-6-(метоксикарбонил) тетрагидро-2H-пиран-3, 4, 5-триил триацетата (1.7) через замещение N-хлорметиламина:



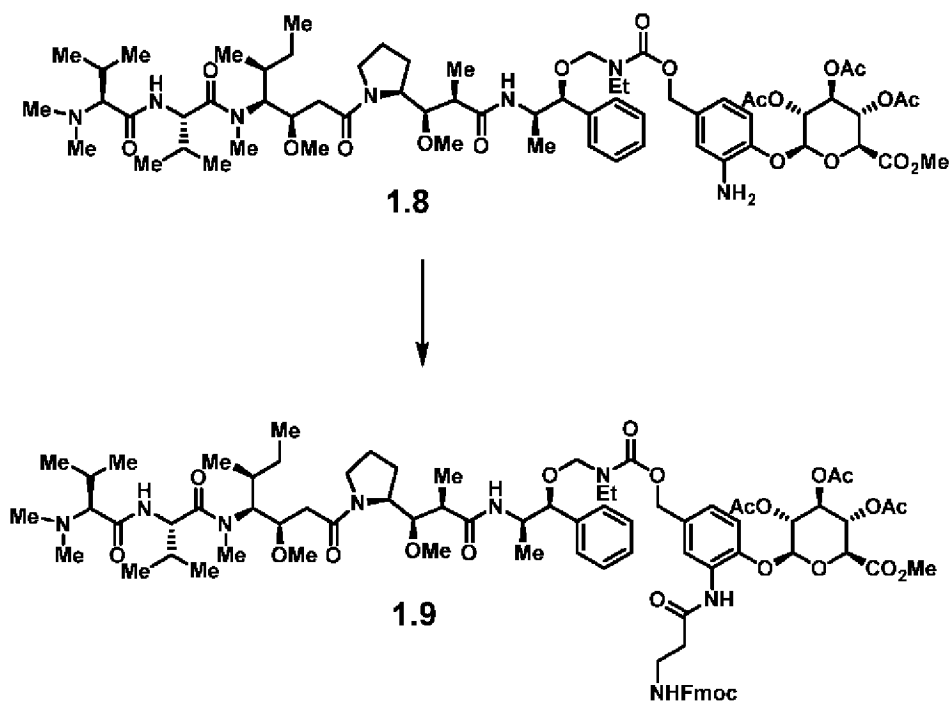
[436] В раствор 1.5 (60 мг, 100 мкмоль) в DCM (300 мкл) добавляли 1.6 (110 мг, 150 мкмоль) и основание Хунига (50 мкл). Реакцию перемешивали в течение дополнительных 90 минут при RT, LC/MS показывала, что за это время реакция завершилась. Затем реакцию непосредственно очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (градиент 5-95 ацетонитрил/вода 0,05% TFA) с выходом 45 мг 1.7. MS (m/z) $[M+H]^+$ вычисленн. Для $C_{64}H_{97}N_7O_{21}$ 1300,67, экспериментальн. 1300,71.

[437] Синтез (2R,3S,4R,5R,6R)-2-(2-амино-4-((7S,8R,11R,12R)-12-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(диметиламино)-3-метилбутанамидо)-N,3-диметилбутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил)пирролидин-2-ил)-4-этил-8,11-диметил-3,10-диоксо-7-фенил-2,6,13-триокса-4,9-дiazатетрадецил)фенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (1.8):



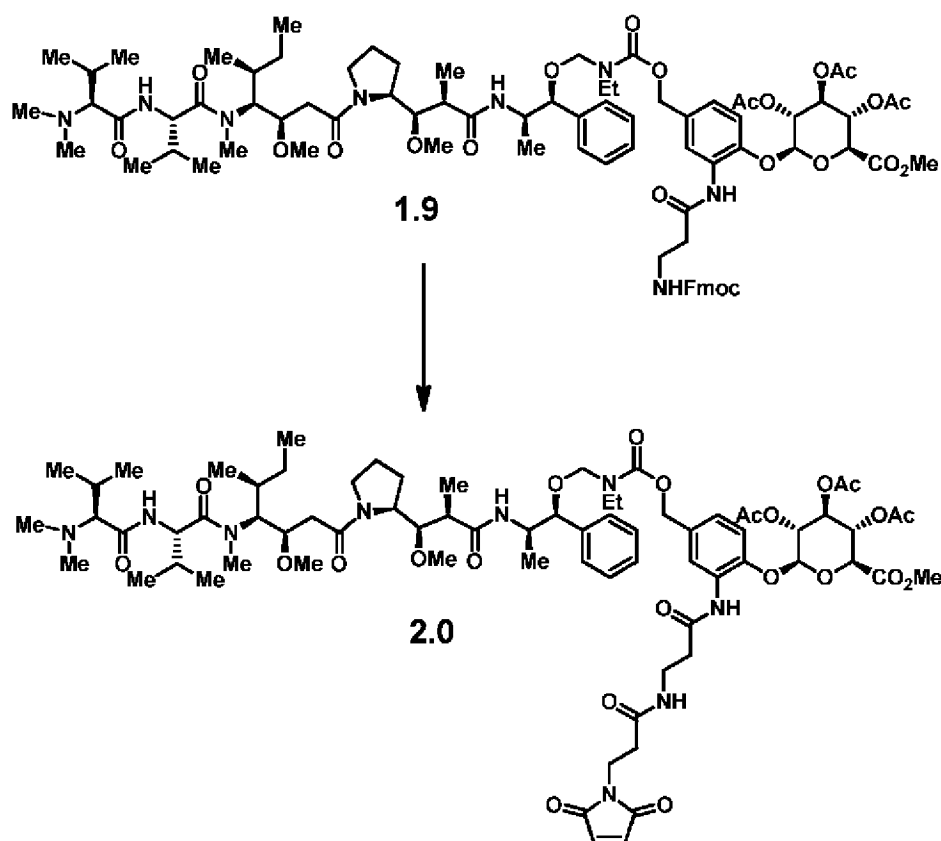
[438] В 1.7 (10 мг, 6 мкмоль) в MeOH (200 мкл) при RT добавляли металлический самарий (10 мг, 66 мкмоль) и хлорид аммония (10 мг, 100 мкмоль). Реакционную смесь обрабатывали ультразвуком в течение 10 минут, LC/MS показывала, что за это время реакция завершилась. Затем основание Хунига (50 мкл) добавляли в реакцию, которую затем фильтровали через фриттированную воронку. Затем реакционную смесь поднимали в воду и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (градиент 5–95 ацетонитрил/вода 0,05% TFA) с выходом 22 мг 1.8. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₆₄H₉₉N₇O₁₉ 1448,75, экспериментальн. 1448,71.

[439] Синтез (2R, 3S, 4R, 5R, 6R)-2-(2-амино-4-((7S, 8R, 11R, 12R)-12-((S)-1-((3R, 4S, 5S)-4-((S)-2-((S)-2-(диметиламино)-3-метилбутанамидо)-N, 3-диметилбутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил) пирролидин-2-ил)-4-этил-8, 11-диметил-3, 10-диоксо-7-фенил-2, 6, 13-триокса-4, 9-дiazатетрадецил) фенокси)-6-(метоксикарбонил) тетрагидро-2H-пиран-3, 4, 5-триил триацетата (1.9)



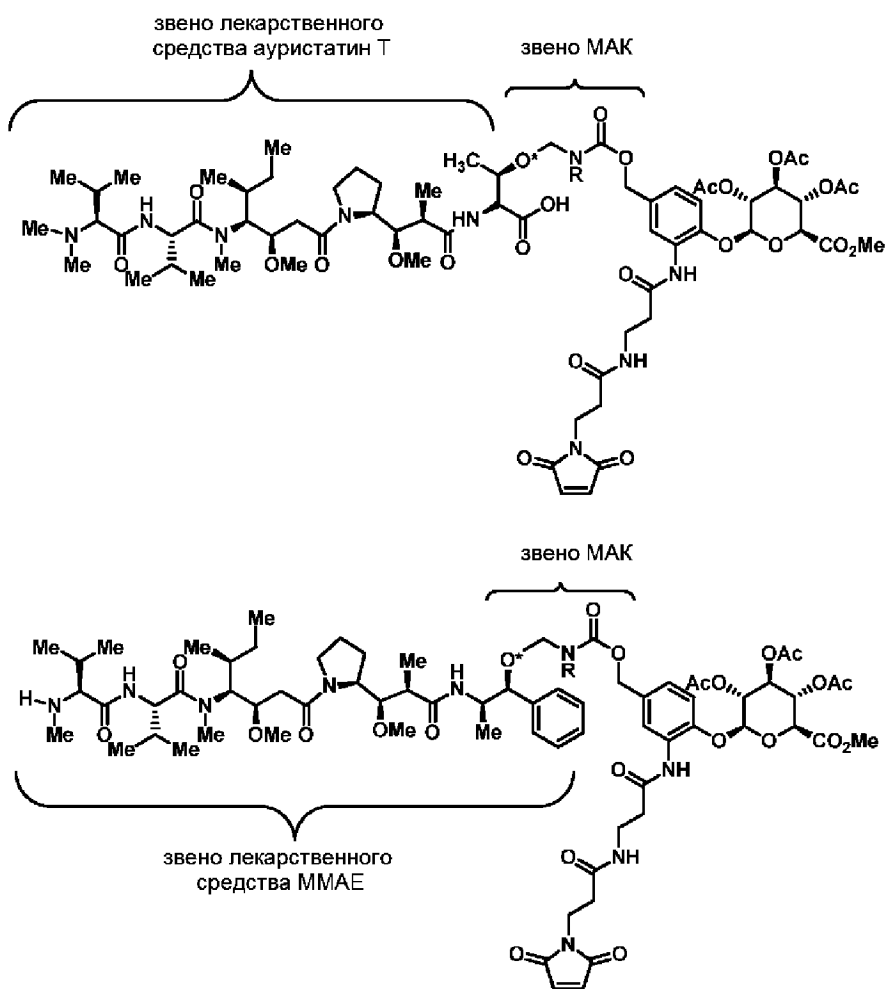
[440] В 1 цилиндрический сосуд, оборудованный перемешивающим стержнем, добавляли 100 мкл DCM, после чего следовало 5 мг (4,0 мкмоль) 1.8, Fmoc β-аланин (3 мг, 14 мкмоль) и 5 мг (21 мкмоль) N-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолина. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч при RT, LC/MS показывала, что за это время реакция завершалась. Реакцию очищали непосредственно с помощью препаративной ВЭЖХ (градиент 5-95 ацетонитрил/вода 0,05% TFA) с выходом 5 мг 1.9, 83%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₈₂H₁₁₄N₈O₂₂ 1563,80, экспериментальн. 1563,84.

[441] Синтез (2R,3R,4R,5S,6R)-6-(4-((7S,8R,11R,12R)-12-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(диметиламино)-3-метилбутанамидо)-N,3-диметилбутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил)пирролидин-2-ил)-4-этил-8,11-диметил-3,10-диоксо-7-фенил-2,6,13-триокса-4,9-дiazатетрадецил)-2-(3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)пропанамидо)фенокси)-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-карбоновой кислоты, (2.0)



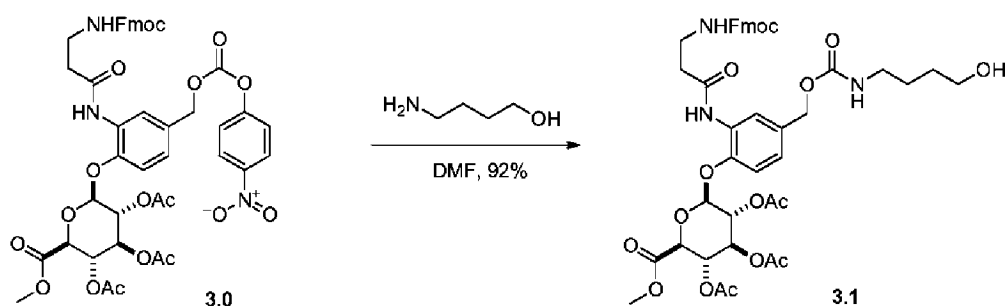
[442] В раствор 1.9 (5 мг, 3 мкмоль) в MeOH:вода 1:1 добавляли LiOH (5 мг). Затем получаемую реакционную смесь энергично перемешивали в течение 10 мин при RT, LC/MS показывала, что за это время реакция завершилась. Впоследствии реакционную смесь непосредственно очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (градиент 5-95 ацетонитрил/вода 0,05% TFA) с выходом 4 мг 1.9 со снятыми защитными группами. DMF (100 мкл) добавляли в сосуд, содержащий 4 мг 1.9 со снятыми защитными группами, после чего следовало основание Хунига (20 мкл) и сложный N-гидроксисукцимидный эфир 3-малеимидопропановой кислоты (10 мг, 40 мкмоль). Реакцию перемешивали в течение 10 минут при RT, LC/MS показывала, что за это время реакция завершилась. Затем реакционную смесь очищали непосредственно с помощью препаративной ВЭЖХ, сначала погасив с использованием 3 мл 2% TFA:вода (ВЭЖХ градиент 5-95 ацетонитрил/вода 0,05% TFA) с выходом 4,0 мг 2.0. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₆₇H₁₀₁N₉O₂₀, 1351,72, экспериментальн. 1351,65.

[443] Аналогично примерам 1 и 2, получают соединения лекарственных средств монометилауристин Е (ММАЕ) и ауристин Т и линкероv, содержащие МАК, которые имеют следующие структуры:



в который R представляет собой водород или этил и O* представляет собой гетероатом кислорода в звене МАК из вторичной гидроксильной функциональной группы ауристатина Т или MMAE.

[444] Пример 3: синтез модельного саморасщепляющегося сборочного звена, которое имеет циклическое звено МАК, и его саморасщепление при определенных условиях



[445] Синтез (2S, 3R, 4S, 5S, 6S)-2-(2-(3-(((9H-флуорен-9-ил) метокси) карбонил) amino) пропанамидо)-4-(((4-гидроксибутил) карбамоил) окси) метил) фенокси)-6-

(метоксикарбонил) тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (3.1):

[446] Смесь паранитрофенилкарбоната 3.0 (300 мг, 0,33 ммоль) в DMF (5 мл) добавляли 4-аминобутан-1-ол (58 мг, 0,66 ммоль). После добавления 4-аминобутан-1-ола, о завершении реакции судили посредством UPLC-MS. Смесь выливали в этилацетат (100 мл), который промывали водой (3×50 мл) и солевым раствором (1×50 мл). Органическую фазу сушили над сульфатом натрия, декантировали и концентрировали до остатка, который очищали круговой хроматографией на 2 мм радиальной пластине Chromatotron, элюируя с этилацетатом. Содержащие продукт фракции концентрировали при пониженном давлении, чтобы получить 260 мг (92%) 3.1: ^1H ЯМР (CDCl_3) δ 8,40 (с, 1H), 8,07 (с, 1H), 7,75 (д, 2H, $J=7,9$ Гц), 7,60 (д, 2H, $J=7,4$ Гц), 7,38 (т, 2H, $J=7,4$ Гц), 7,29 (м, 2H), 7,01 (д, 1H, $J=2,0$ Гц), 6,91 (д, 1H, $J=6,2$ Гц), 5,73 (ушир. с, 1H), 5,4 (т, 1H, $J=9,4$ Гц), 5,29 (м, 2H), 5,05-5,03 (м, 3H), 4,95 (м, 1H), 4,38 (пент, 2H, $J=7,5$ Гц), 4,23 (т, 1H, $J=7,1$ Гц), 4,16 (д, 1H, $J=9,7$ Гц), 3,73 (с, 3H), 3,65-3,50 (м, 7H), 3,21 (м, 2H), 2,73 (м, 2H), 2,06-2,04 (м, 9H), 1,65-1,59 (м, 4H); UPLC-MS (m/z) (AP+) 864,44 (M+H), TR=1,44 мин (скорость потока 0,7 мл/мин).

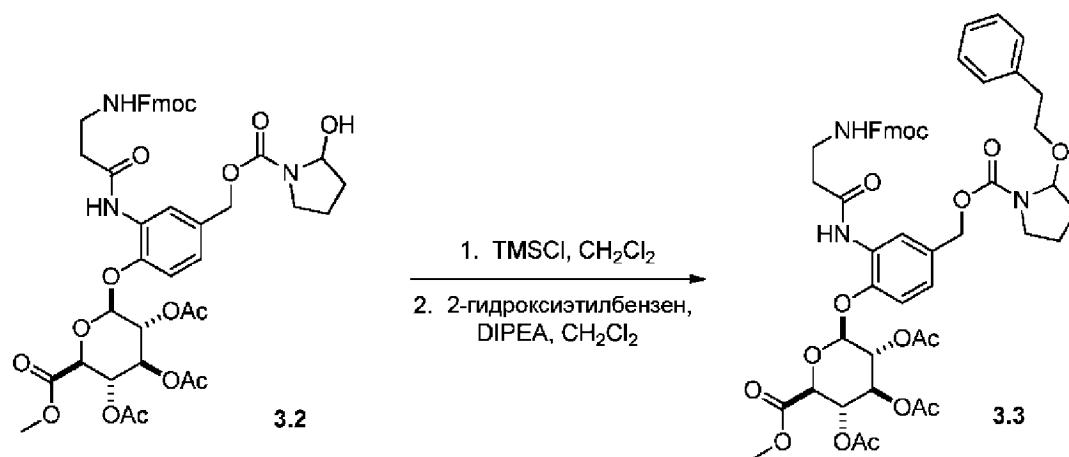


(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-(((9H-флуорен-9-ил) метокси) карбонил) амино) пропанамидо)-4-((2-гидроксипирролидин-1-карбонил) окси) метил) фенокси)-6-(метоксикарбонил) тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетат (3.2):

[447] В смесь спирта 3.1 (50 мг, 0,056 ммоль) в дихлорметане (2 мл) добавляли периодинан Десса-Мартина (30 мг, 0,067 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч

перед непосредственной очисткой на 1 мм радиальной пластине Chromatotron, элюируя с 50% этилацетатом в гексанах, после чего следовал 100% этилацетат, чтобы предоставлять 19,4 мг (39%)

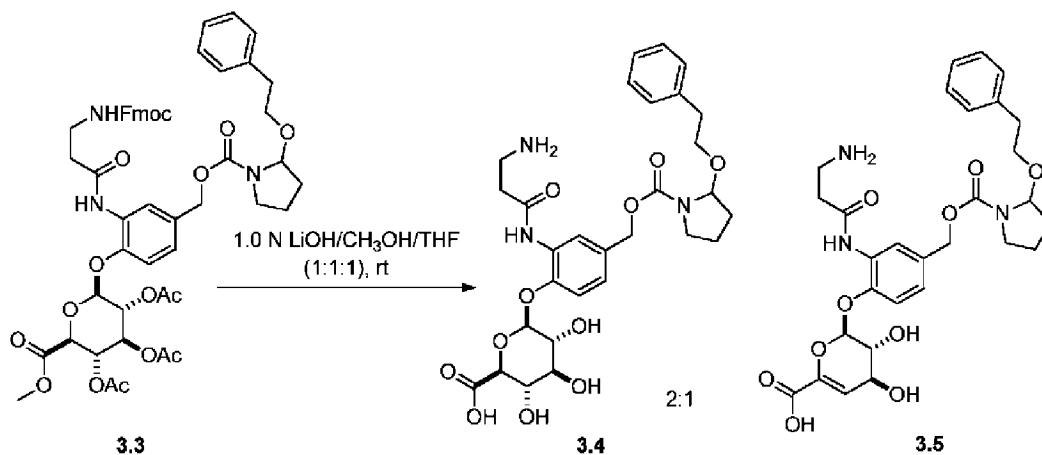
3.2: ^1H ЯМР (CD_3OD) δ 8,04 (д, 2H, $J=6,3$ Гц), 7,78 (д, 2H, $J=7,4$ Гц), 7,63 (д, 2H, $J=7,5$ Гц), 7,37 (т, 2H, $J=7,4$ Гц), 7,25 (к, 2H, $J=7,4$ Гц), 7,22 (м, 2H), 7,11 (т, 2H, $J=8,2$ Гц), 5,49 (т, 1H, $J=10,2$ Гц), 5,46 (ушир. с, 1H), 5,40 (д, 1H, $J=7,9$ Гц), 5,19 (т, 1H, $J=9,8$ Гц), 5,06-5,00 (м, 2H), 4,76 (д, 1H, $J=10,1$ Гц), 4,37-4,30 (м, 2H), 4,25 (т, 1H, $J=6,2$ Гц) 3,69 (с, 3H), 3,55-3,45 (м, 4H), 2,65 (пент, 2H, $J=6,7$ Гц), 2,07-1,95 (м, 11H), 1,24 (м, 3H); UPLC-MS (m/z) (AP+) 884,41 ($M+\text{Na}^+$), $\text{TR}=1,48$ мин (скорость потока 0,7 мл/мин).



[448] Синтез (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)пропанамидо)-4-((2-фенэтоксипирролидин-1-карбонил)окси)метил)фенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (3.3):

[449] В смесь пирролидинола 3.2 (19,4 мг, 22,4 мкмоль) в дихлорметане (2 мл) добавляли TMSCl (20 мкм) и реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении, в том числе под высоким вакуумом, в течение 10 мин. Получаемый остаток растворяли в дихлорметане (1 мл), после чего следовал 2-гидроксиэтилбензол (10 мкл) наряду с DIPEA (10 мкм). Незамедлительно после добавления спирта и DIPEA происходило завершение реакции, как судили с по UPLC-MS. Смесь аспирировали непосредственно на 1 мм радиальную пластину Chromatotron и элюировали с 50% этилацетатом в гексанах, чтобы

получать 13,8 мг (63%) 3.3: ^1H ЯМР (CD_3OD) δ 8,13 (ушир. с, 1H), 8,08 (ушир. с, 1H), 7,76 (д, 2H, $J=7,4$ Гц), 7,61 (д, 2H, $J=7,4$ Гц), 7,35 (т, 2H, $J=7,4$ Гц), 7,27-7,03 (м, 8H), 5,48 (т, 1H, $J=9$ Гц), 5,37 (д, 1H, $J=7,9$ Гц), 5,3-5,17 (м, 3H), 5,05-4,99 (м, 2H), 4,44 (д, 1H, $J=9,8$ Гц), 4,34-4,30 (м, 2H), 4,22 (ушир. с, 1H), 3,79-3,67 (м, 1H), 3,66 (с, 3H), 3,64-3,55 (м, 2H), 3,49 (ушир. с, 1H), 3,30 (м, 1H), 2,79 (ушир. с, 1H), 2,66 (м, 3H), 2,01 (с, 6H), 1,96 (с, 3H), 1,81 (м, 2H), 1,75-1,65 (м, 2H); Аналитическая UPLC-MS: MS (m/z) (ЕСР+) 988,48 ($M+\text{Na}^+$), $\text{TR}=1,65$ мин (скорость потока 0,7 мл/мин).

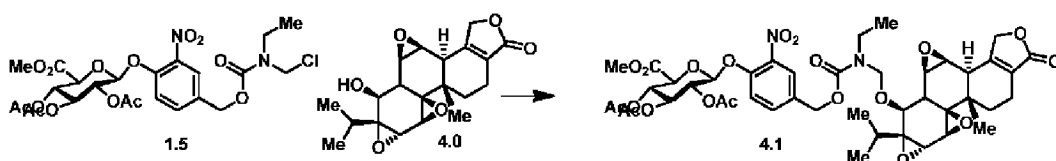


[450] Синтез (2S, 3S, 4S, 5R, 6S)-6-(2-(3-аминопропанамидо)-4-((2-фенэтоксипирролидин-1-карбонил)окси)метил)фенокси)-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-карбоновой кислоты (3.4):

[451] В смесь пирролидина 3,3 (50 мг) в метаноле (2 мл) и THF (2 мл) добавляли по каплям водный раствор 1,0 Н гидроксида лития (2 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при температуре окружающей среды. Проверка реакционной смеси с помощью UPLC-MS выявляла полное устранение защитных групп в смеси ~2:1 желаемого продукта 3.4 к продукту элиминирования 3.5. Реакционную смесь нейтрализовали до pH 7 посредством добавления уксусной кислоты по каплям. Смесь концентрировали при пониженном давлении и получаемый остаток поднимали в деионизированную воду (2 мл) и фильтровали. Этот раствор использовали непосредственно для того, чтобы оценивать устойчивость *in vitro* с использованием условий, описанных в примере 8: аналитическая UPLC-MS: MS (m/z) 604,35 ($M+\text{H}^+$), $\text{TR}(3.4)=0,88$ мин (скорость потока 0,7 мл/мин).

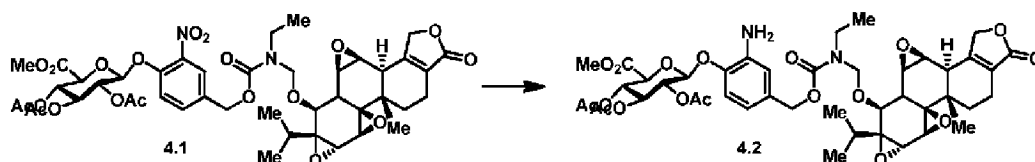
[452] Пример 4: синтез соединения лекарственного средства триптолид и линкера, которое содержит звено МАК

[453] Синтез (2S, 3R, 4S, 5S, 6S)-2-(4-(((этил(((5bS, 5cS, 6aR, 7S, 7aR, 8aS, 8bS, 9aS, 9bS)-7a-изопропил-9b-метил-3-оксо-1,3,5,5b,5c,6a,6b,7,7a,8a,8b,9b-додекагидро-2H-трис(оксирено)[2',3':4b,5;2'',3'':6,7;2''',3''' :9,10]фенантро[1,2-с]фуран-7-ил)окси)метил)карбамоил)окси)метил)-2-нитрофенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (4.1):



[454] Следуя процедуре с хлорамином из примера 2 для получения соединения 1.7: использование 109 мг (0,17 ммоль) 250 мг (0,13 ммоль) 1.5, (, 7,0 и 65 мкл (4,30 ммоль) основания Хунига обеспечивало выход 85 мг 7.1, 72%. Аналитическая UPLC-MS: TR=2,21 мин. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₄₄H₅₂N₂O₂₀ 929,31, экспериментальн. 929,29.

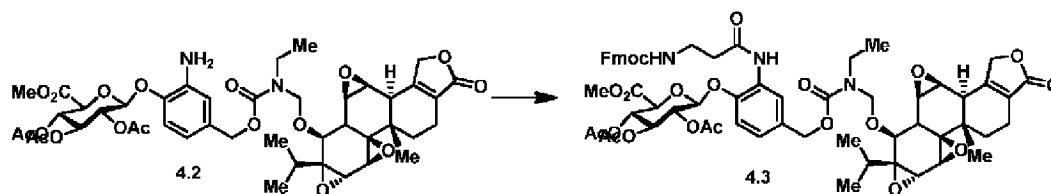
[455] Синтез (2S, 3R, 4S, 5S, 6S)-2-(2-амино-4-(((этил(((5bS, 5cS, 6aR, 7S, 7aR, 8aS, 8bS, 9aS, 9bS)-7a-изопропил-9b-метил-3-оксо-1,3,5,5b,5c,6a,6b,7,7a,8a,8b,9b-додекагидро-2H-трис(оксирено)[2',3':4b,5;2'',3'':6,7;2''',3''' :9,10]фенантро[1,2-с]фуран-7-ил)окси)метил)карбамоил)окси)метил)фенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (4.2):



[456] В 25 мл круглодонную колбу, оборудованную баллоном с аргоном, помещали 370 мкл MeOH, 85 мг (0,1 ммоль) 4.1 и 5 мг 10% Pd/C. Затем реакционную смесь помещали под вакуум, продували и промывали водородом через баллон 3 раза. Оборудованную баллоном с водородом, реакционную смесь энергично перемешивали в течение 1 ч при RT, LC/MS показывала, что за это

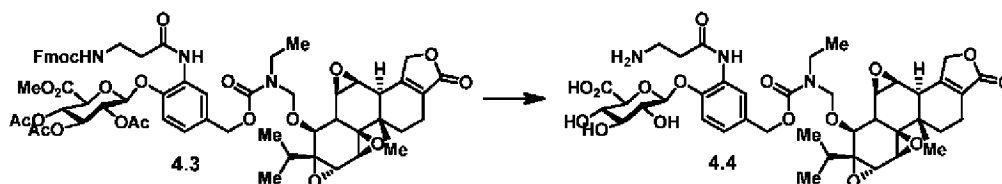
время реакция завершалась. Затем реакционную смесь фильтровали и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (градиент 5–95 ацетонитрил/вода 0,05% TFA) с выходом 35 мг 4.2, выход 44%. Аналитическая UPLC-MS: TR=2,14 мин. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₄₄H₅₄N₂O₁₈ 899,34, экспериментальн. 899,37.

[457] Синтез (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)пропанамидо)-4-(((этил(((5bS,5cS,6aR,7S,7aR,8aS,8bS,9aS,9bS)-7a-изопропил-9b-метил-3-оксо-1,3,5,5b,5c,6a,6b,7,7a,8a,8b,9b-додекагидро-2H-трис(оксирено)[2',3':4b,5;2'',3'':6,7;2''',3''':9,10]фенантро[1,2-с]фуран-7-ил)окси)метил)карбамоил)окси)метил)фенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (4.3):



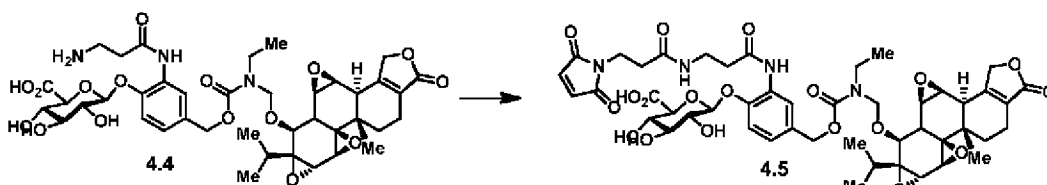
[458] В 1 цилиндрический сосуд, оборудованный перемешивающим стержнем, добавляли 200 мкл DCM, после чего следовало 6 мг (7,0 мкмоль) 4.2, Fmoc β-аланин (8 мг, 28 мкмоль) и 7 мг (0,28 мкмоль) N-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолина. Затем реакционную смесь перемешивали в течение дополнительных 3 ч при RT, LC/MS показывала, что за это время реакция завершалась. Реакцию очищали непосредственно с помощью препаративной ВЭЖХ (градиент 5–95 ацетонитрил/вода 0,05% TFA) с выходом 6 мг 4.3, 75%. Аналитическая UPLC-MS: TR=2,34 мин. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₆₂H₆₉N₃O₂₁ 1192,44, экспериментальн. 1192,45.

[459] Синтез (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-(3-аминопропанамидо)-4-(((этил(((5bS,5cS,6aR,7S,7aR,8aS,8bS,9aS,9bS)-7a-изопропил-9b-метил-3-оксо-1,3,5,5b,5c,6a,6b,7,7a,8a,8b,9b-додекагидро-2H-трис(оксирено)[2',3':4b,5;2'',3'':6,7;2''',3''':9,10]фенантро[1,2-с]фуран-7-ил)окси)метил)карбамоил)окси)метил)фенокси)-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-карбоновой кислоты (4.4):



[460] Придерживаясь способа удаления защитных групп в примере 2 для получения соединения 2.0: соединение 4,3 (4,0 мг, 3 мкмоль) превращали в 2,8 мг 4.4, выход 95%. Аналитическая UPLC-MS: TR=1,14 мин. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₄₀H₅₁N₃O₁₆ 830,33, экспериментальн. 830,32.

[461] Синтез (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-(3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамида)пропанамида)-4-((этил(((5bS,5cS,6aR,7S,7aR,8aS,8bS,9aS,9bS)-7a-изопропил-9b-метил-3-оксо-1,3,5,5b,5c,6a,6b,7,7a,8a,8b,9b-додекагидро-2H-трис(оксирено)[2',3':4b,5;2'',3''':6,7;2''',3''':9,10]фенантро[1,2-с]фуран-7-ил)окси)метил)карбамоил)окси)метил)фенокси)-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-карбоновой кислоты (4.5):



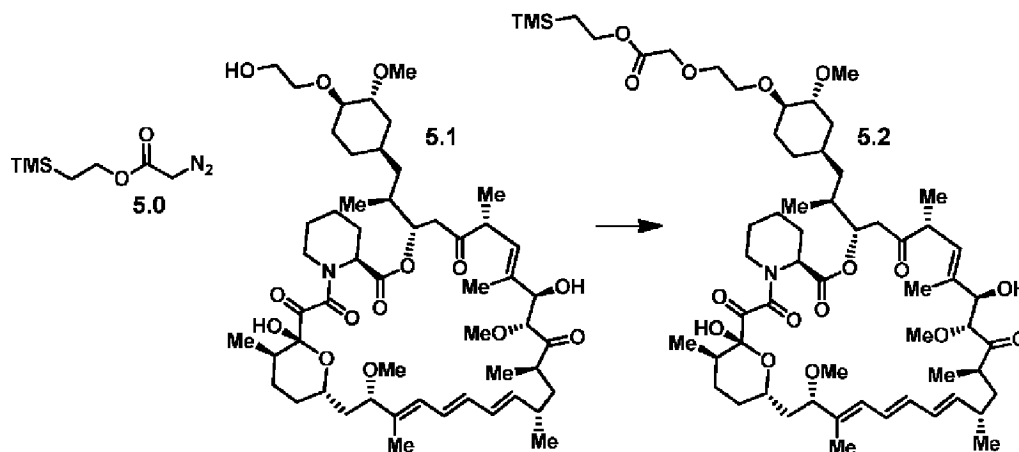
[462] В 1 цилиндрический сосуд, содержащий 2 мг 4.4 (2 мкмоль) добавляли 100 мкл DMF, после чего следовало 20 мкл (0,1 ммоль) основания Хунига и 2,5 мг (9 мкмоль) сложного N-гидроксисукцимидного эфира 3-малеимидопропановой кислоты. Затем реакционную смесь перемешивали в течение дополнительных 10 минут при RT, LC/MS показывала, что за это время реакция завершилась. Реакцию непосредственно очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (градиент 5-95 ацетонитрил/вода 0,05% TFA), сначала погасив с использованием 2% TFA:воды (3 мл) с выходом 1,8 мг 4.5, выход 90%. Аналитическая UPLC-MS: TR=1,61 мин. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₄₇H₅₆N₄O₁₉ 981,35, экспериментальн. 981,38.

[463] Пример 5: синтез соединения лекарственного средства эверолимус и линкера, которое содержит звено МАК

[464] Синтез 2-(триметилсилил)этил 2-(2-{{(1R,2R,4R)-4-

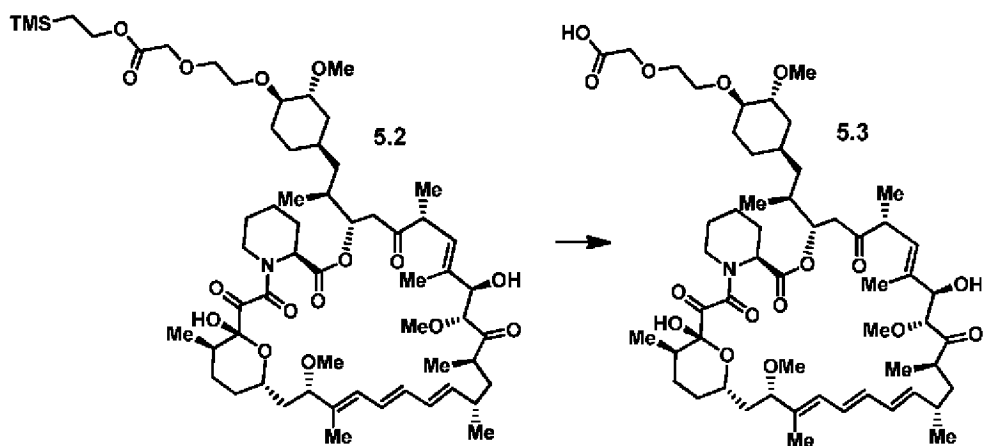
[(2S)-2-

[(1R, 9S, 12S, 15R, 16E, 18R, 19R, 21R, 23S, 24E, 26E, 28E, 30S, 32S, 35R) - 1, 18-дигидрокси-19, 30-диметокси-15, 17, 21, 23, 29, 35-гексаметил-2, 3, 10, 14, 20-пентаоксо-11, 36-диокса-4-азатрицикло [30.3.1.0^{4,9}] гексатриаконта-16, 24, 26, 28-тетраен-12-ил] пропил]-2-метоксициклопексил]окси}этокси)ацетата (5.1) :



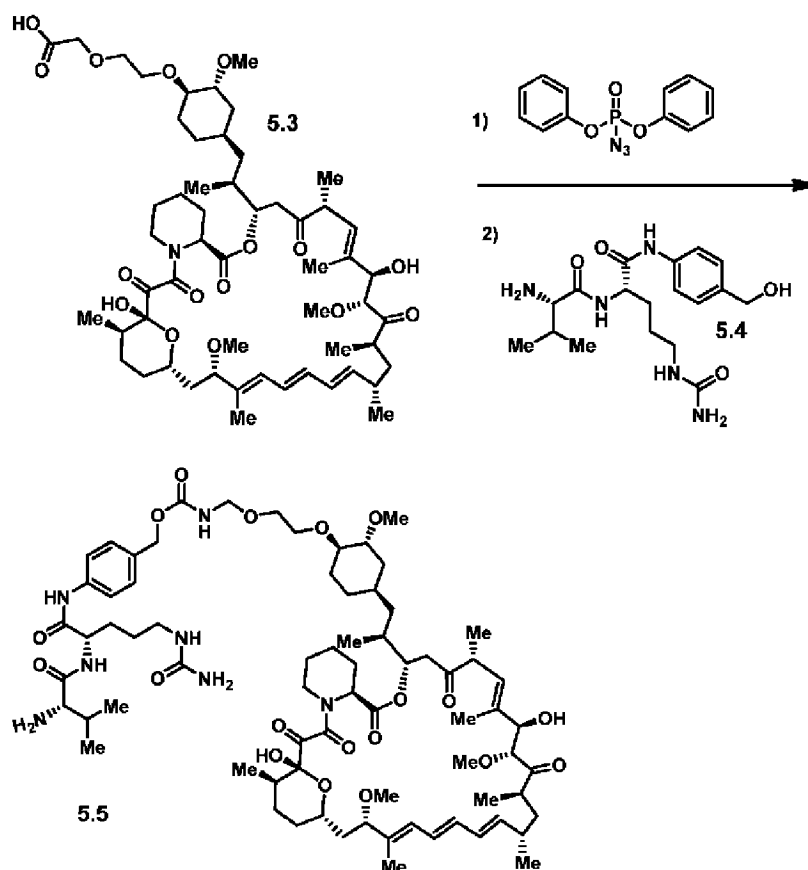
[465] В 1 цилиндрический сосуд, оборудованный винтовой крышкой с перегородкой и перемешивающим стержнем, помещали 1 мл сухого DCM, 2 мг (1 мкмоль) диацетата родия и 100 мг (0,1 ммоль) эверолимуса (5.1). по каплям в реакционную смесь при перемешивании и RT добавляли 40 мкл (0,2 ммоль) триметилэтилдiazоацетата (5.0). После 1 часа LC/MS показывал, что реакция завершена. После этого добавляли 1 мл MeOH и реакцию фильтровали и сушили *in vacuo*. После этого получаемое масло очищали с помощью препаративной TLC (гексаны:этилацетат, 1:1, *r_f*=0,50) с выходом 73 мг 5.2, выход 68%. Аналитическая UPLC-MS: TR=1,92 мин. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₆₀H₉₇NO₁₆Si, 1116,66, экспериментальн. 1116,66.

[466] Синтез 2-(2-{[(1R, 2R, 4R)-4-[(2S)-2[(1R, 9S, 12S, 15R, 16E, 18R, 19R, 21R, 23S, 24E, 26E, 28E, 30S, 32S, 35R)-1, 18-дигидрокси-19, 30-диметокси-15, 17, 21, 23, 29, 35-гексаметил-2, 3, 10, 14, 20-пентаоксо-11, 36-диокса-4-азатрицикло [30.3.1.0^{4,9}] гексатриаконта-16, 24, 26, 28-тетраен-12-ил] пропил]-2-метоксициклопексил]окси}этокси)уксусной кислоты (5.3) :



[467] В 1 цилиндрический сосуд, оборудованный винтовой крышкой с перегородкой и перемешивающим стержнем, помещали 1 мл сухого DMF, 70 мг (63 мкмоль) 5.2 и 52 мг (1,89 ммоль) трис (диметиламино) сульфония дифторотриметилсилката. С помощью LC/MS осуществляли мониторинг перемешиваемой реакции при RT, которая была завершена после 20 мин. Затем реакционную смесь обрабатывали с использованием 5 мл 10 М фосфатно-солевого буфера и экстрагировали простым этиловым эфиром 3× 5 мл. Органический слой сушили *in vacuo*. Затем получаемое масло очищали с помощью препаративной TLC (DCM:MeOH:AcOH, 8,9:1:0,1, $r_f=0,45$) с выходом 57 мг 5.3, выход 89%. Аналитическая UPLC-MS: TR=1,79 мин. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₅₅H₈₅NO₁₆, 1016,59, экспериментальн. 1016,61.

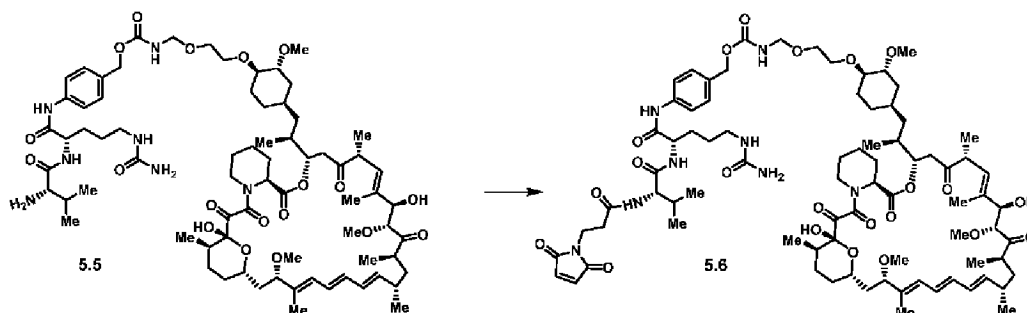
[468] Синтез {4-[(2R)-2-[(2R)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5 (карбамоиламино) пентанамидо] фенил} метилN- [(2- { [(1R, 2R, 4R)-4- [(2S)-2- [(1R, 9S, 12S, 15R, 16E, 18R, 19R, 21R, 23S, 24E, 26E, 28E, 30S, 32S, 35R)-1,18-дигидрокси-19,30-диметокси-15,17,21,23,29,35-гексаметил-2,3,10,14,20-пентаоксо-11,36-диокса-4-азатрицикло [30.3.1.0^{4,9}] гексатриаконта-16,24,26,28-тетраен-12-ил] пропил]-2-метоксициклопексил] окси} этокси) метил] карбамата (5.5):



[469] В 1 цилиндрический сосуд, содержащий 15 мг (15 мкмоль) 5.3, добавляли 300 мкл DMF, после чего следовало 8 мкл (30 мкмоль) дифенилфосфорилазида и 6 мкл (45 мкмоль) основания Хунига. Получаемую смесь перемешивали при RT в течение 1 ч, и в это время в реакционную смесь добавляли 44 мг (75 мкмоль) 5.4 и 2 мкл (3 мкмоль) дилаурата дибутилолова при 60°C. Реакцию перемешивали в течение дополнительных 2 ч при 60°C, LC/MS показывала, что за это время реакция завершалась. Реакционную смесь гасили с использованием 100 мкл диэтиламина и затем непосредственно очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (градиент 5-95 ацетонитрил/вода 0,05% TFA) с выходом 10 мг 5.5, выход 47%. Аналитическая UPLC-MS: TR=1,49 мин. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₇₃H₁₁₃N₇O₁₉, 1392,81, экспериментальн. 1392,80.

[470] Синтез {4-[(2R)-5-(карбамоиламино)-2-[(2R)-2-[3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо]-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}метил-N-[(2-{[(1R,2R,4R)-4-[(2S)-2-[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28E,30S,32S,35R)-1,18-дигидрокси-19,30-диметокси-15,17,21,23,29,35-гексаметил-

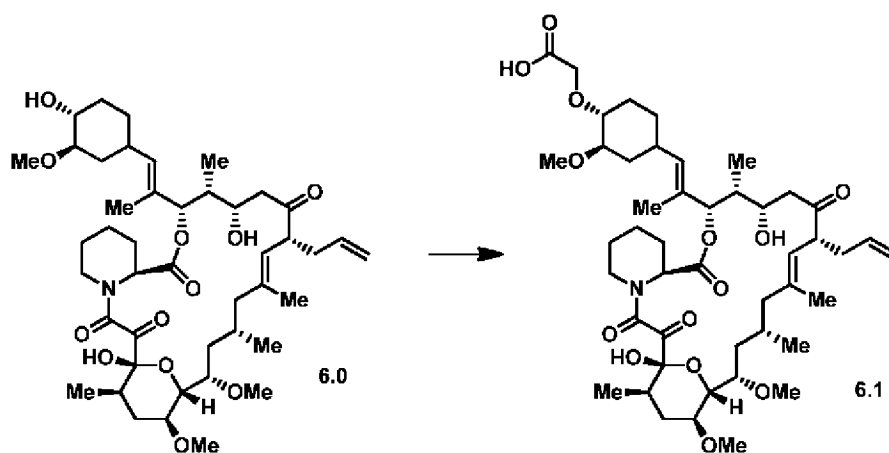
2,3,10,14,20-пентаоксо-11,36-диокса-4-азатрицикло[30.3.1.0^{4,9}]гексатриаконта-16,24,26,28-тетраен-12-ил]пропил]-2-метоксициклогексил]окси}этокси)метил]карбамата (5.6):



[471] В 1 цилиндрический сосуд, содержащий 8 мг (5 мкмоль) 5.5, добавляли 100 мкл DMF, после чего следовало 20 мкл (0,15 ммоль) основания Хунига и 5 мг (18 мкмоль) N-гидроксисукцимидного сложного эфира 3-малеимидопропановой кислоты. Затем реакцию перемешивали в течение дополнительных 30 минут при RT, LC/MS показывала, что за это время реакция завершилась. Реакцию непосредственно очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (градиент 5-95 ацетонитрил/вода 0,05% TFA), сначала погасив с использованием 2% TFA:вода (3 мл) с выходом 5 мг 9.3, выход 62%. Аналитическая UPLC-MS: TR=1,69 мин. MS (m/z) MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₈₀H₁₁₈N₈O₂₂, 1543,84, экспериментальн. 1543,86.

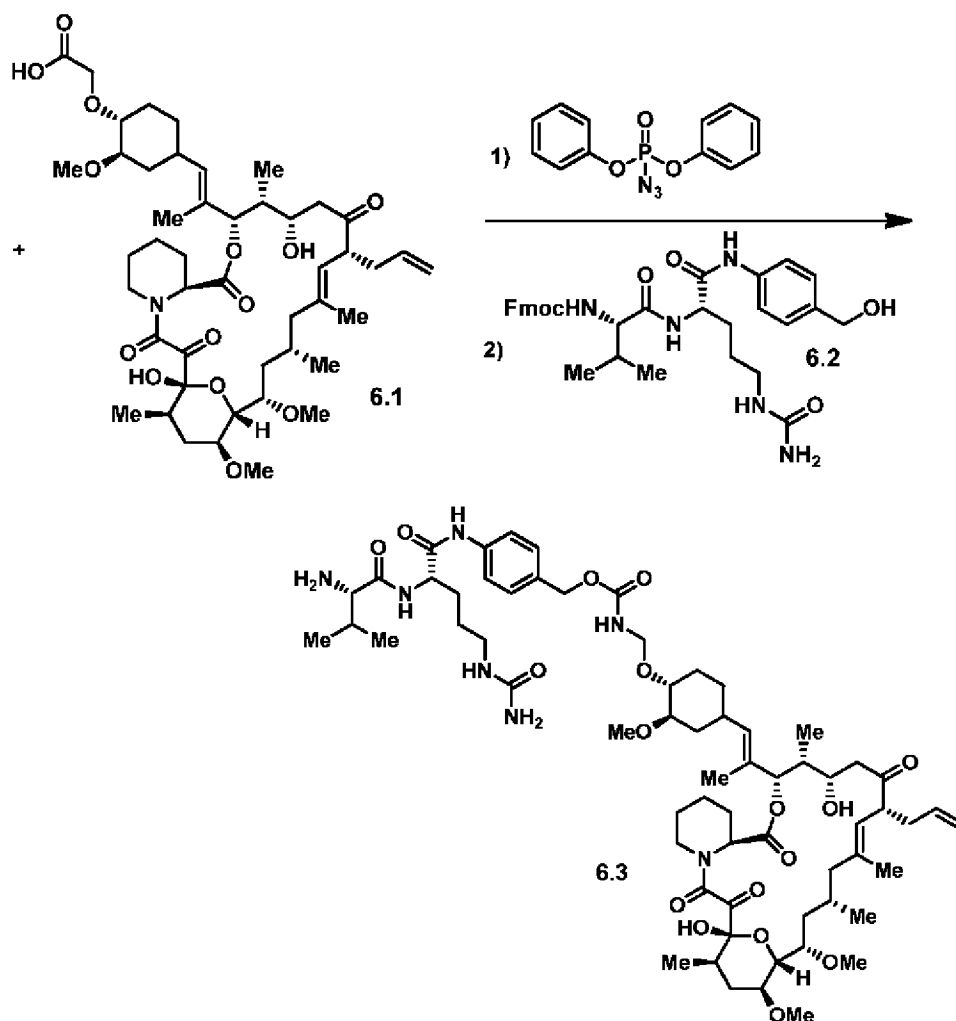
[472] Пример 6: синтез соединения лекарственного средства такролимус и линкера, которое содержит звено МАК

[473] Синтез 2-{ [(1R,2R)-4-[(1E)-2-[(1R,9S,12S,13R,14S,17R,18E,21S,23S,24R,25S,27R)-1,14-дигидрокси-23,25-диметокси-13,19,21,27-тетраметил-2,3,10,16-тетраоксо-17-(проп-2-ен-1-ил)-11,28-диокса-4-азатрицикло[22.3.1.0^{4,9}]октакос-18-ен-12-ил]проп-1-ен-1-ил]-2-метоксициклогексил]окси}уксусной кислоты (6.3):



[474] В 4 цилиндрический сосуд, оборудованный винтовой крышкой с перегородкой и баллоном с аргоном, помещали 3 мл сухого DCM, 13 мг (60 мкмоль) диацетата родия и 500 мг (0,6 ммоль) FK-506 (6.1). После этого 200 мкл (1,2 ммоль) трет-бутилдиазоацетата в 200 мкл DCM добавляли по каплям в перемешиваемую реакционную смесь при 39°C через шприцевой насос. LC/MS показывала, что реакция завершалась через 1 час, после чего добавляли 1 мл MeOH. Затем реакционную смесь фильтровали и сушили *in vacuo*. Получаемое масло обрабатывали с использованием 4 мл раствора DCM и трифторуксусной кислоты (5:1). Реакция снятия защитных групп завершалась после 1 ч, как показывала LC/MS. Затем получаемую реакционную смесь сушили *in vacuo* и очищали с помощью препаративной TLC (10% MeOH:DCM, $r_f=0,20$) с выходом 378 мг 6.1, выход 71%. Аналитическая UPLC-MS: TR=1,89 мин. MS (m/z) $[M+H]^+$ вычисленн. для $C_{46}H_{71}NO_{14}$, 862,49, экспериментальн. 862,52.

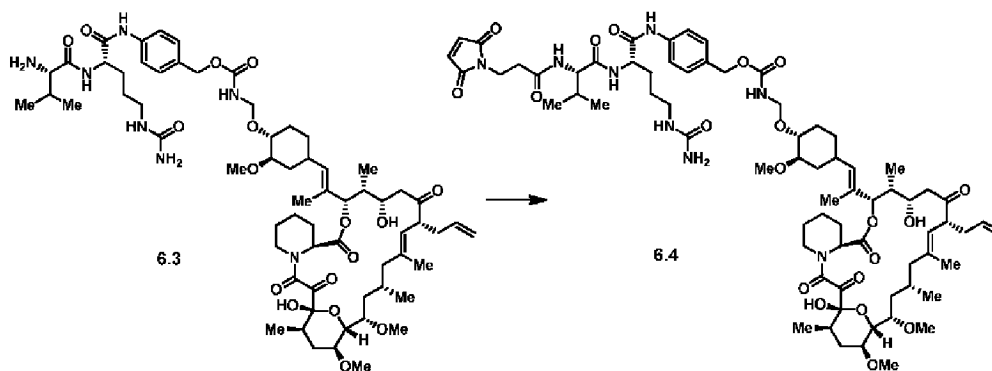
[475] Синтез {4-[(2S)-2-[(2S)-2-амино-3-метилбутанамидо]-5(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил-N-({[(1R,2R)-4-[(1E)-2-[(1R,9S,12S,13R,14S,17R,18E,21S,23S,24R,25S,27R)-1,14-дигидрокси-23,25-диметокси-13,19,21,27-тетраметил-2,3,10,16-тетраоксо-17-(проп-2-ен-1-ил)-11,28-диокса-4-азатрицикло[22.3.1.0^{4,9}]октакос-18-ен-12-ил]проп-1-ен-1-ил]-2-метоксициклогексил]окси}метил)карбамата (6.3):



[476] В 4 цилиндрический сосуд, содержащий 50 мг (58 мкмоль) 6.1, добавляли 300 мкл DMF, после чего следовало 23 мкл (87 мкмоль) дифенилфосфорилазида и 14 мкл (1,2 ммоль) основания Хунига. Затем реакционную смесь перемешивали при RT в течение 1 ч. После этого добавляли 52 мг (87 мкмоль) 6.2 и 2 мкл (3 мкмоль) дилаурата дибутилолова при 60°C. Затем реакцию перемешивали в течение дополнительных 2 ч при 60°C, LC/MS показывала, что за это время реакция завершалась. После гашения с использованием 100 мкл диэтиламина, реакционную смесь непосредственно очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (градиент 5–95 ацетонитрил/вода 0,05% TFA) с выходом 15 мг 6.3, выход 21%. Аналитическая UPLC-MS: TR=1,82 мин. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₇₄H₁₁₄N₁₀O₂₂ 1238,71, экспериментальн. 1238,70.

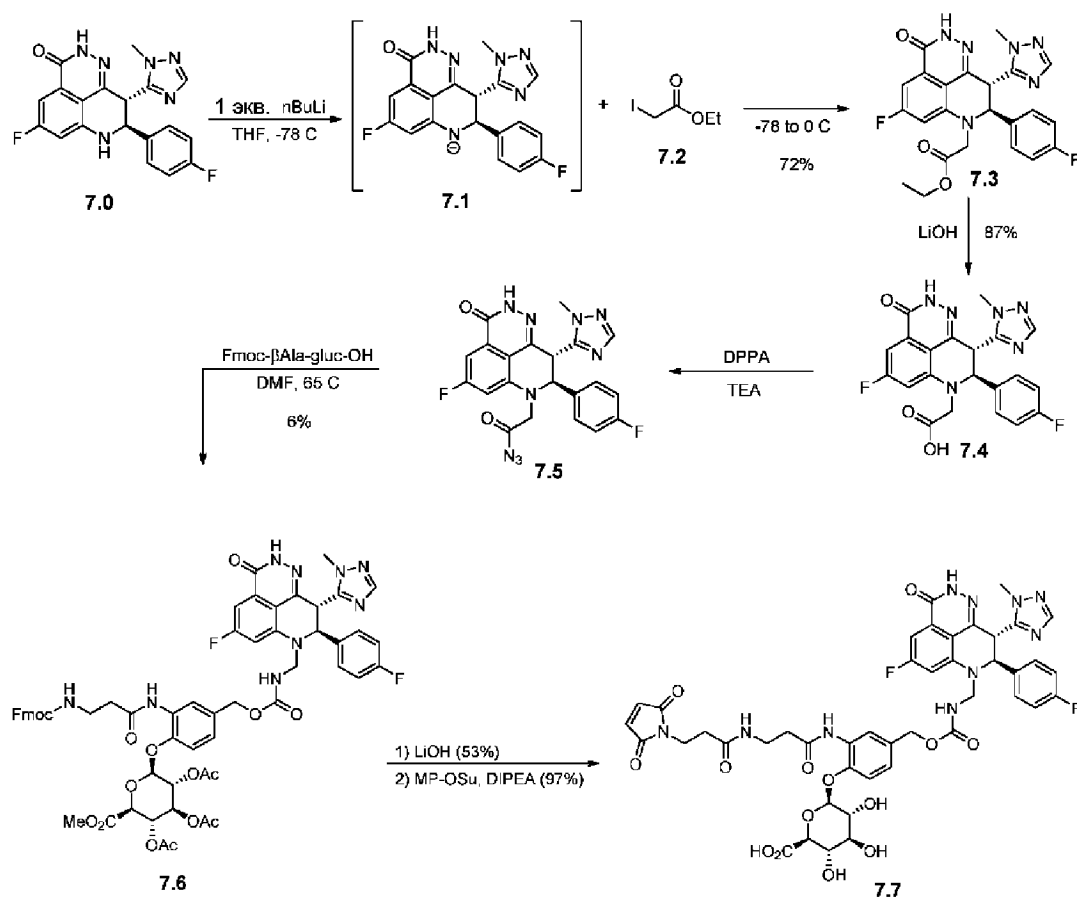
[477] Синтез {4-[(2S)-5-(карбамоиламино)-2-[(2S)-2-[3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо]-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}метил-N-({[(1R,2R)-4-[(1E)-

2[(1R,9S,12S,13R,14S,17R,18E,21S,23S,24R,25S,27R)-1,14-дигидрокси-23,25-диметокси-13,19,21,27-тетраметил-2,3,10,16-тетраоксо-17-(проп-2-ен-1-ил)-11,28-диокса-4-азатрицикло[22.3.1.0^{4,9}]октакос-18-ен-12-ил]проп-1-ен-1-ил]-2метоксициклогексил]окси}метил)карбамата (6.4):



[478] В 1 цилиндрический сосуд, содержащий 4 мг (3 мкмоль) 6.3, добавляли 100 мкл DMF, после чего следовало 20 мкл (0,1 ммоль) основания Хунига и 2,5 мг (9 мкмоль) сложного N-гидроксисукцимидного эфира 3-малеимидопропановой кислоты. После этого реакцию перемешивали в течение дополнительных 30 минут при RT, LC/MS показывала, что за это время реакция завершалась. Реакцию непосредственно очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (градиент 5-95 ацетонитрил/вода 0,05% TFA), сначала погасив реакцию с использованием 2% TFA:вода (3 мл) с выходом 3,4 мг 6.4, выход 85%. Аналитическая UPLC-MS: TR=1,78 мин. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₇₁H₁₀₄N₈O₂₀ 1389,74, экспериментальн. 1389,77. Время полужизни в 0,1 М буфере PBS при pH 7,4 и 37°C, определяемое в соответствии со способом из примера 8, составляет 10 ч.

[479] Пример 7: синтез тетрагидрохинолин-содержащего соединения лекарственного средства и линкера, которое содержит вариант звена МАК



[480] Синтез этил 2-((8*S*, 9*R*)-5-фтор-8-(4-фторфенил)-9-(1-метил-1*H*-1,2,4-триазол-5-ил)-3-оксо-8,9-дигидро-2*H*-пиридо[4,3,2-*de*]фталазин-7(3*H*)-ил)ацетата (7.3):

[481] В просушенную на пламени колбу помещали (8*S*, 9*R*)-5-фтор-8-(4-фторфенил)-9-(1-метил-1*H*-1,2,4-триазол-5-ил)-8,9-дигидро-2*H*-пиридо[4,3,2-*de*]фталазин-3(7*H*)-она (7.0, 49 мг, 129 мкмоль) в 2,2 мл безводного THF. Раствор перемешивали при -80°C в N_2 и по каплям добавляли *n*-бутиллитий (77 мкл, 188 мкмоль) в виде 2,5 М раствора, и получаемую реакцию перемешивали в течение дополнительных 10 мин при -80°C . Затем этилйодацетат (7,2, 31 мкл, 258 мкмоль) добавляли в виде раствора в 1 мл безводного THF. Впоследствии реакцию смесь перемешивали под азотом при 0°C до тех пор, пока LC/MS не показывала, что превращение в продукт завершено. Затем реакцию смесь охлаждали до -80°C и гасили насыщенным хлоридом аммония, разбавляли дихлорметаном и промывали бикарбонатом натрия. Затем водный экстрагировали дихлорметаном и объединенные органические соединения промывали солевым раствором, сушили над сульфатом

натрия и концентрировали досуха. Неочищенный продукт очищали на диоксиде кремния через колонку Biotage, элюируя с использованием смесей метанол:дихлорметан, чтобы предоставлять 7.3 (43 мг, 72%). Аналитическая UPLC-MS: TR=1,79 мин, m/z (ES+) экспериментальн. 467,55.

[482] Синтез 2-((8S,9R)-5-фтор-8-(4-фторфенил)-9-(1-метил-1H-1,2,4-триазол-5-ил)-3-оксо-8,9-дигидро-2H-пиридо[4,3,2-de]фталазин-7(3H)-ил)уксусной кислоты (7.4):

[483] В колбу помещали 43 мг сложного эфира 7.3 (92 мкмоль), который затем растворяли в THF (1,5 мл) и MeOH (1,5 мл). Получаемый раствор перемешивали под N₂ и охлаждали до 0°C. После этого моногидрат гидроксида лития (7,8 мг, 184 мкмоль), растворенный в H₂O (1,5 мл), добавляли по каплям. После этого, реакции позволяли нагреваться до RT и перемешивали в течение 2 часов. Затем реакцию гасили уксусной кислотой (10,5 мкл, 184 мкмоль) и конденсировали при пониженном давлении. Остаток поднимали в минимальном DMSO и очищали посредством препаративной LC, чтобы предоставлять 7.4 (35 мг, 87%). Аналитическая UPLC-MS: TR=1,47 мин, m/z (ES+) экспериментальн. 439,42.

[484] Синтез 2-((8S,9R)-5-фтор-8-(4-фторфенил)-9-(1-метил-1H-1,2,4-триазол-5-ил)-3-оксо-8,9-дигидро-2H-пиридо[4,3,2-de]фталазин-7(3H)-ил)ацетилазида (7.5):

[485] В колбу помещали свободную карбоновую кислоту (7.4, 28 мг, 64 мкмоль), которую затем растворяли в безводном THF (1,3 мл). Добавляли триэтиламин (22 мкл, 160 мкмоль) и получаемую реакционную смесь перемешивали в течение 10 минут при RT под азотом. Затем добавляли дифенилфосфорилазид (14 мкл, 64 мкмоль), и получаемую реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при RT, за это время UPLC/MS показывала превращение в продукт. Затем вещество концентрировали при пониженном давлении, чтобы предоставлять неочищенный ацилазид 7.5, который использовали далее без дополнительного определения характеристик. Аналитическая LC-MS: TR=12,80 мин, m/z (ES+) экспериментальн. 436,16 (M+H-N₂).

[486] Синтез (2S, 3R, 4S, 5S, 6S)-2-(2-(3-(((9H-флуорен-9-ил) метокси) карбонил) амино) пропанамидо)-4-((((((8S, 9R)-5-фтор-8-(4-фторфенил)-9-(1-метил-1H-1,2,4-триазол-5-ил)-3-оксо-8,9-дигидро-2H-пиридо[4,3,2-de]фталазин-7(3H)-ил) метил) карбамоил) окси) метил) фенокси)-6-(метоксикарбонил) тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (7.6):

[487] В колбу, содержащую ацилазид (7,5, 64 мкмоль) в безводном DMF (0,3 мл), добавляли ранее описанное (Bioconjugate Chem. 2006, 17, 831-840) глюкуронид-содержащее соединение Fmoc-βAla-глюкуронидбензиловый спирт (96 мг, 128 мкмоль). Впоследствии реакционную смесь нагревали до и перемешивали при 65°C, чтобы способствовать перегруппировке ацилазида в изоцианат с последующим захватом, чтобы формировать карбаматную функциональную группу. После 2 часов добавляли каталитический дилаурат дибутилолова. Продолжающееся перемешивание при 65°C в течение 5 часов приводило к незначительному превращению в продукт. Реакцию разводили в ацетонитриле и диметилсульфоксиде и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ, чтобы предоставлять 7.6 (4,4 мг, 6%). Аналитическая UPLC-MS: TR=2,27 мин, m/z (ES+) экспериментальн. 1185,29.

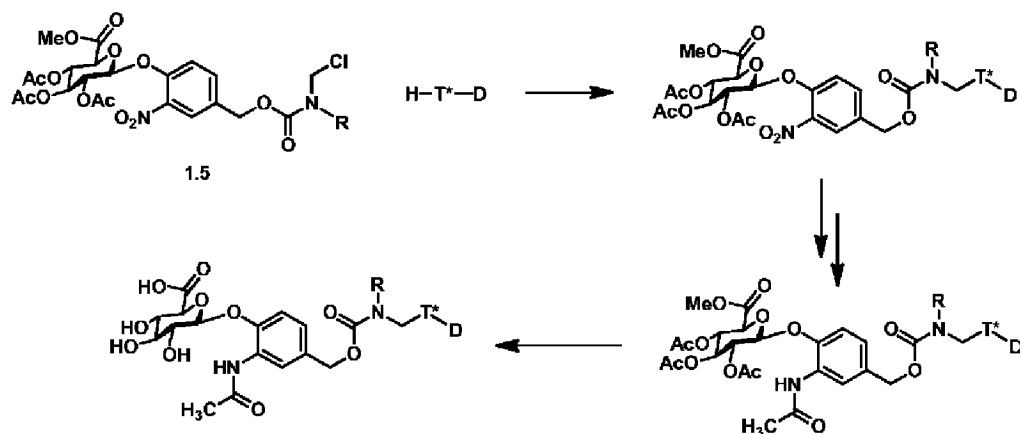
[488] Синтез (2S, 3S, 4S, 5R, 6S)-6-(2-(3-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) пропанамидо) пропанамидо)-4-((((((8S, 9R)-5-фтор-8-(4-фторфенил)-9-(1-метил-1H-1,2,4-триазол-5-ил)-3-оксо-8,9-дигидро-2H-пиридо[4,3,2-de]фталазин-7(3H)-ил) метил) карбамоил) окси) метил) фенокси)-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-карбоновой кислоты (7.7):

[489] В колбу помещали 4,4 мг промежуточного соединения глюкуронидного линкера с защитными группами 7,6 (3,7 мкмоль) и растворяли в THF (0,13 мл) и MeOH (0,13 мл). Получаемый раствор перемешивали под N₂ и охлаждали до 0°C. Затем по каплям добавляли LiOH•H₂O (0,9 мг, 22 мкмоль), солюбилизированный в H₂O (0,13 мл). Затем реакции позволяли нагреваться до RT и перемешивали ее в течение дополнительных 4 часов. Затем реакционную смесь гасили уксусной кислотой (1,3 мкл, 22 мкмоль)

и конденсировали при пониженном давлении. Полученный остаток поднимали в минимальном DMSO и очищали с помощью препаративной ЛС, чтобы предоставлять глюкуронидный линкер с удаленными защитными группами (1,6 мг, 53%). Аналитическая UPLC-MS: TR=1,20 мин, m/z (ES+) экспериментальн. 822,49. Сложный малеимидопропионоловый NHS эфир (0,8 мг, 2,9 мкмоль) растворяли в безводном DMF (0,19) и добавляли в колбу, содержащую глюкуронидный линкер со в целом удаленными защитными группами (1,6 мг, 1,9 мкмоль). Затем добавляли DIPEA (1,7 мкл, 9,5 мкмоль) и реакцию перемешивали под азотом при RT в течение 3 часов. Впоследствии реакцию разводили в ацетонитриле и диметилсульфоксиде и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ, чтобы предоставлять лекарственное средство-линкер 7.7 (2 мг, 97%). Аналитическая UPLC-MS: TR=1,41 мин, m/z (ES+) экспериментальн. 973,43.

[490] Пример 8: получение модельных систем лекарственное средство-линкер, которые имеют саморасщепляющиеся сборочные звенья, которые высвобождают гидроксил- и тиолосодержащие соединения в качестве модельных свободных лекарственных средств.

[491] Образцовые саморасщепляющиеся сборочные звенья с ковалентным прикреплением к звеньям лекарственного средства, которые содержат структуры модельных лекарственных средств, получали через синтез N-хлорметиламина в соответствии со следующей схемой, в которой каждое полученное саморасщепляющееся сборочное звено состоит из саморасщепляющегося фрагмента структуры XVId (т. е., - РАВА(gluc)-) и звена МАК:



где вариации в R и свободном лекарственном средстве D-T*-H, которые используют в синтезе и которые высвобождаются при активации саморасщепляющегося фрагмента РАВА (gluc), приведены в следующей таблице 1.

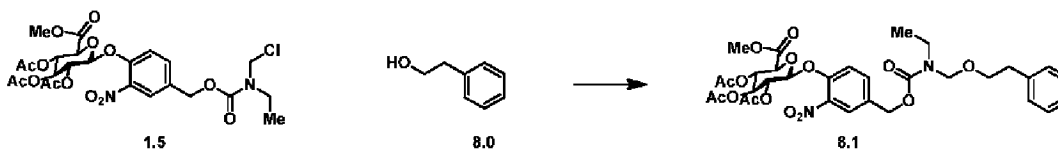
[492] Таблица 1. Гидроксил- и тиолосодержащие соединения в качестве модельных свободных лекарственных средств с вариацией в замещении звена МАК

D-T*-H	R
	-CH ₂ CH ₃
	-PEG
	-CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂

[493] Общая процедура алкилирования нуклеофила из D-T*-H с использованием 1.5: в круглодонную колбу, оборудованную перемешивающим стержнем, перегородкой и баллоном с аргоном, после внесения 5 мл сухого DCM, 1 ммоль D-T*-H, 5 ммоль основания Хунига, одновременно добавляли 2 ммоль соединения N-хлорметиламина 1.5 через шприц. Осуществляли мониторинг реакции посредством LC/MS до тех пор, пока не был израсходован исходный материал D-T*-H; реакции типично завершали в пределах 2 ч. Реакционную смесь сушили *in vacuo* через роторное испарение.

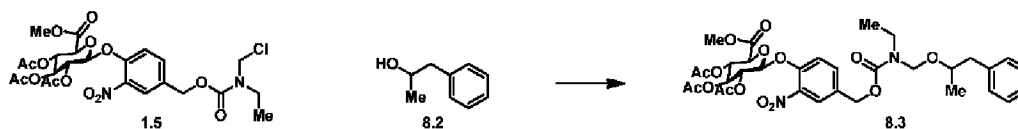
Затем получаемое масло очищали через Biotage FCC с градиентом этилацетата и гексанов.

[494] Синтез (2S, 3R, 4S, 5S, 6S)-2-(4-(((этил(фенэтоксиметил)карбамоил)окси)метил)-2-нитрофенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (8.1):



[495] Следуя общей процедуре алкилирования: используя 1.5 (621 мг, 1,05 ммоль), 8.0 (250 мкл, 2,1 ммоль) и основание Хунига (939 мкл, 5,25 ммоль), получали 615 мг 8.1, выход 85%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₃₂H₃₈N₂O₁₅ 691,23, экспериментальн. 691,25, ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ=7,80 (с, 1H), 7,52 (дд, J=9,2, 8,1 Гц, 1H), 7,37-7,30 (м, 1H), 7,27 (т, J=3,5, 2H), 7,23-7,14 (м, 3H), 5,38-5,27 (м, 3H), 5,20 (д, J=5,9, 1H), 5,12 (д, J=5,4, 2H), 4,71 (д, J=14,0, 2H), 4,20 (д, J=11,3, 1H), 3,73 (с, 3H), 3,65 (дт, J=12,5, 3,5, 2H), 3,39-3,26 (м, 2H), 2,80 (м, 2H), 2,11 (с, 3H), 2,06 (с, 6H), 1,14-1,06 (м, 3H).

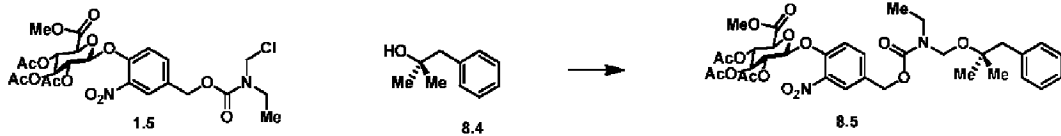
[496] Синтез (2S, 3R, 4S, 5S, 6S)-2-(4-(((этил(((1-фенилпропан-2-ил)окси)метил)карбамоил)окси)метил)-2-нитрофенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (8.3):



[497] Следуя общей процедуре алкилирования: используя 1.5 (105 мг, 0,175 ммоль), 8.2 (47 мкл, 0,35 ммоль) и основание Хунига (156,6 мкл, 0,87 ммоль), получали 111 мг 8.3, выход 90%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₃₃H₄₀N₂O₁₅ 705,68, экспериментальн. 705,65, ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ=7,80 (с, 1H), 7,52 (дд, J=9,2, 8,1 Гц, 1H), 7,37-7,10 (м, 5H), 5,38-5,27 (м, 3H), 5,25-5,01 (м, 3H), 4,80-4,63 (м, 2H), 4,19 (д, J=14,0, 2H), 4,20 (д, J=8,78, 1H), 3,73 (д, J=2,74, 3H), 3,3-3,03 (м,

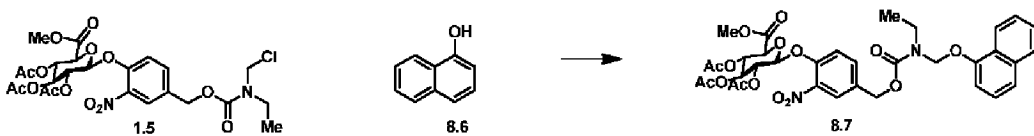
2H), 2,80 (м, 2H), 2,60 (дд, $J=13,11$, 4,64, 1H), 2,11 (с, 3H), 2,06 (с, 6H), 1,14-1,06 (т, $J=7,37$, 3H).

[498] Синтез (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(((этил((2-метил-1-фенилпропан-2-ил)окси)метил)карбамоил)окси)метил)-2-нитрофенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (8.5):



[499] Следуя общей процедуре алкилирования: используя 1.5 (534 мг, 0,885 ммоль), 7.5 (260 мкл, 0,17 ммоль) и основание Хунига (795 мкл, 4,4 ммоль), получали 390 мг 7.6, выход 61%. MS (m/z) $[M+H]^+$ вычисленн. для $C_{34}H_{42}N_2O_{15}$ 719,26, экспериментальн. 719,24, 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) $\delta=7,80$ (д, $J=7,2$ 1H), 7,52 (дд, $J=9,7$, 8,4 Гц, 1H), 7,40-7,29 (м, 1H), 7,25-7,13 (м, 5H), 5,37-5,26 (м, 3H), 5,12-5,09 (м, 2H), 4,81 (д, $J=32,0$, 2H), 4,18 (м, 1H), 3,73 (с, 3H), 3,41-3,31 (м, 2H), 2,81-2,72 (д, $J=16,9$, 2H), 2,11 (м, 3H), 2,11 (с, 3H), 2,05 (с, 6H), 1,19-1,10 (м, 9H).

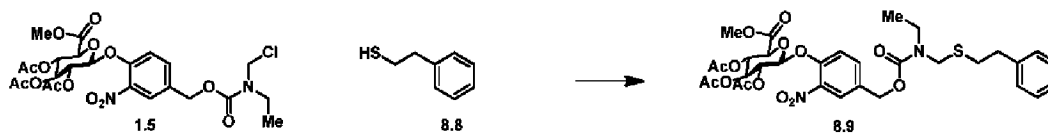
[500] Синтез (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(((этил((нафтален-1-илокси)метил)карбамоил)окси)метил)-2-нитрофенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (8.7):



[501] Следуя общей процедуре алкилирования: используя 1.5 (791 мг, 1,3 ммоль), 8.6 (377 мг, 2,6 ммоль) и основание Хунига (1,7 мл, 6,5 ммоль), получали 768 мг 8.7, выход 82%. MS (m/z) $[M+H]^+$ вычисленн. для $C_{34}H_{36}N_2O_{15}$ 713,39, экспериментальн. 713,37, 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) $\delta=8,19$ (дд, $J=16,3$, 8,5 Гц, 1H), 7,80 (д, $J=7,2$ 1H), 7,47 (м, 3H), 7,34 (т, $J=10,5$ 2H), 7,25 (м, 1H), 7,18 (м, 2H), 6,9 (дд, $J=39,5$, 6,7 Гц, 1H) 5,49 (д, $J=14,9$, 2H), 5,30 (м, 3H), 5,21-5,02 (м, 3H), 4,18 (м, 1H), 3,73 (с, 3H), 3,64-3,49 (м, 2H), 2,31 (с, 2H), 2,12 (с, 3H), 2,06 (с,

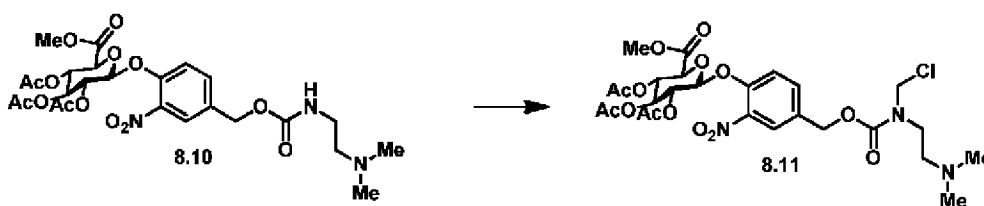
6H), 1,32-1,18 (m, 3H).

[502] Синтез (2S, 3R, 4S, 5S, 6S)-2-(4-((этил(фенэтилтио)метил)карбамоил)окси)метил)-2-нитрофенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (8.9):



[503] Следуя общей процедуре алкилирования: используя 1.5 (43 мг, 0,070 ммоль), 8.8 (19 мкл, 0,140 ммоль) и основание Хунига (62 мкл, 6,5 ммоль), получали 42 мг 8.9, выход 86%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₃₂H₃₈N₂O₁₄S 707,20, экспериментальн. 707,18, ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ=7,79 (с, 1H), 7,50 (дд, J=10,2, 8,7 Гц, 1H), 7,37-7,08 (м, 6H), 5,38-5,26 (м, 3H), 5,17-5,08 (м, 3H), 4,47 (д, J=31,3, 2H), 4,17 (д, J=9,6, 2H), 4,20 (д, J=11,3, 1H), 3,73 (с, 3H), 3,40 (м, 2H), 2,90-2,75 (м, 2H), 2,11 (с, 3H), 2,06 (д, J=2,8, 6H), 1,14 (т, J=6,6, 3H).

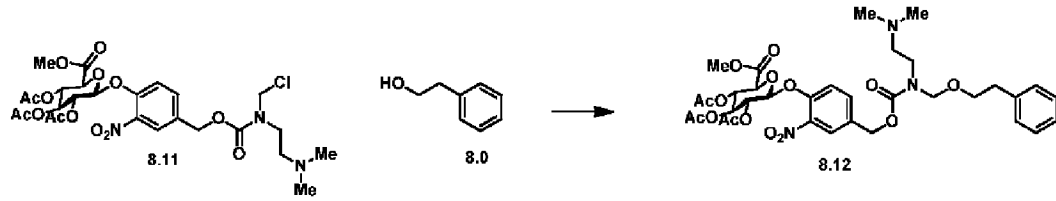
[504] Синтез (2S, 3R, 4S, 5S, 6S)-2-(4-(((2-(диметиламино)этил)карбамоил)окси)метил)-2-нитрофенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (8.11)



[505] Соединение 8.11 синтезировали с использованием процедуры для 1.5. Используя 8.10 (150 мг, 0,2 мм) (синтез 8.10 см. В Bosslet et al., 1998, J. Med. Chem. 41:3572), получали 155 мг 8.11, выход 95%. Образцы для аналитической UPLC получали с использованием MeOH, чтобы гасить реакционноспособный хлорид в 8.1. Аналитическая UPLC-MS: TR=1,40 мин, MS (m/z) [M+Na]⁺ вычисленн. для C₂₇H₃₇N₃NO₁₅ 666,21, экспериментальн. 666,19.

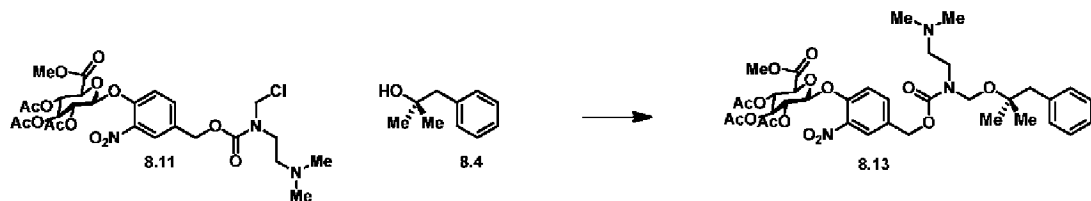
[506] Синтез (2S, 3R, 4S, 5S, 6S)-2-(4-(((2-(диметиламино)этил)(фенэтоксиметил)карбамоил)окси)метил)-2-нитрофенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-

триил триацетата (8.12):



[507] Следуя общей процедуре алкилирования: используя 8.11 (97 мг, 0,150 ммоль), 8.0 (37 мкл, 0,30 ммоль) и основание Хунига (102 мкл, 1,1 ммоль), получали 76 мг 8.12, выход 72%. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ =7,84–7,77 (м, 1H), 7,53 (дд, J =46,5, 9,6 Гц, 1H), 7,35 (т, J =8,2, 1H), 7,30–7,14 (м, 5H), 5,38–5,26 (м, 3H), 5,21 (т, J =6,21, 3H), 5,12 (д, J =7,86, 2H), 4,76 (д, J =15,7, 2H), 4,22 (дд, J =13,2, 7,4, 1H), 3,73 (с, 3H), 3,70–3,54 (м, 5H), 3,0 (т, J =5,9, 1H), 2,83 (т, J =6,6, 2H), 2,78 (с, 6H), 2,59 (с, 2H), 2,12 (с, 3H), 2,06 (д, J =2,19, 6H).

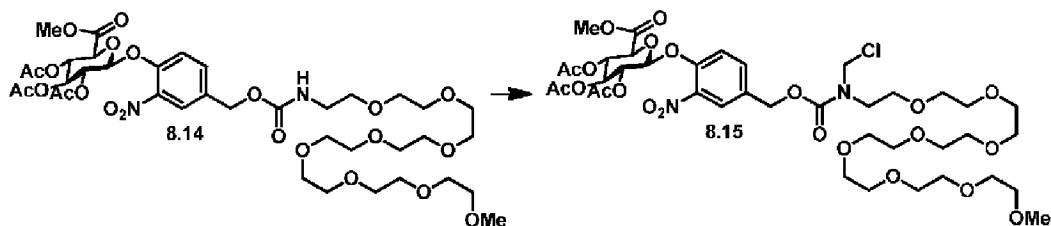
[508] Синтез (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(((2-(диметиламино)этил) ((2-метил-1-фенилпропан-2-ил)окси)метил)карбамоил)окси)метил)-2-нитрофенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (8.13):



[509] Следуя общей процедуре алкилирования: используя 8.11 (150 мг, 0,23 ммоль), 8.4 (104 мкл, 0,69 ммоль) и основание Хунига (102 мкл, 1,1 ммоль), получали 118 мг 8.13, выход 67%. MS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ вычисленн. для $\text{C}_{36}\text{H}_{47}\text{N}_4\text{O}_{15}$ 762,30, экспериментальн. 762,32, ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ =7,80 (д, J =24,6 1H), 7,53 (дд, J =12,3, 8,4 Гц, 1H), 7,34 (т, J =11,1, 1H), 7,26–7,13 (м, 5H), 5,38–5,26 (м, 3H), 5,21–5,09 (м, 3H), 4,47 (д, J =27,2, 2H), 4,20 (т, J =9,74, 1H), 3,73 (с, 3H), 3,55 (тд, J =27,2, 7,7 2H), 2,84 (т, J =9,7, 1H), 2,76 (т, J =14,9, 2H), 2,84 (т, J =9,0, 1H), 2,51 (с, 3H), 2,12 (с, 3H), 2,05 (с, 9H), 1,16 (д, J =12,2, 6H).

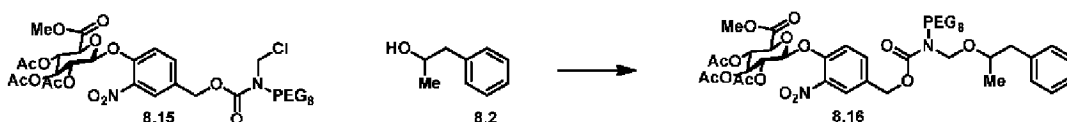
[510] Синтез (2S,3S,4S,5R,6S)-2-(метоксикарбонил)-6-(4-(4-

(метоксиметил)-3-оксо-2,7,10,13,16,19,22,25,28-нонаокса-4-азанонакозил)-2-нитрофенокси) тетрагидро-2Н-пиран-3,4,5-триил триацетата (8.15)



[511] Соединение 8.15 синтезировали с использованием процедуры для 1.5. Используя 8.14 (500 мг, 0,56 мМ) (синтез 8.14 см. в Bosslet et al., 1998, J. Med. Chem. 41:3572), получали 516 мг 8.15, выход 98%. Образцы для аналитической UPLC получали с использованием MeOH, чтобы гасить реакционноспособный хлорид в 8.15. Аналитическая UPLC-MS: TR=1,91 мин, MS (m/z) [M+Na]⁺ вычисленн. для C₄₀H₆₂N₂NO₂₃ 961,36, экспериментальн. 921,40.

[512] Синтез (2S,3S,4S,5R,6S)-2-(метоксикарбонил)-6-(2-нитро-4-(3-оксо-4-((1-фенилпропан-2-ил)окси)метил)-2,7,10,13,16,19,22,25,28-нонаокса-4-азанонакозил)фенокси) тетрагидро-2Н-пиран-3,4,5-триил триацетата (8.16):

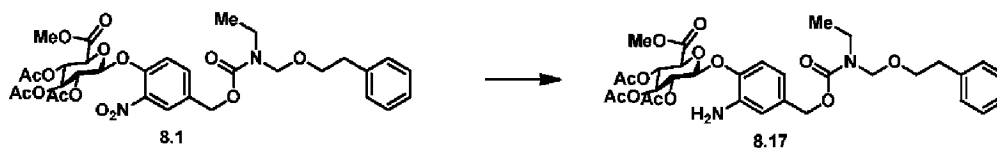


[513] Следуя общей процедуре алкилирования: используя 8.15 (60 мг, 0,064 ммоль), 8.2 (17 мкл, 0,128 ммоль) и основание Хунига (41 мкл, 0,32 ммоль), получали 51 мг 8.16, выход 84%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₄₈H₇₀N₂O₂₃ 1043,44, экспериментальн. 1043,47, ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ=7,79 (с, 1H), 7,53 (т, J=8,0 Гц, 1H), 7,35 (дд, J=9,9, 6,1 Гц, 1H), 7,26-7,07 (м, 5H), 5,38-5,27 (м, 3H), 5,20-5,16 (м, 3H), 4,80-4,70 (м, 1H), 4,20 (м, 1H), 3,73 (с, 3H), 3,66-3,49 (м, 32H), 3,45 (т, J=7,08, 1H), 3,37 (с, 3H), 3,21 (м, 1H), 2,78 (м, 1H) 2,64 (дд, J=13,1, 5,7, 1H), 2,12 (с, 3H), 2,05 (д, J=2,12, 6H), 1,14 (м, 3H).

[514] Общая процедура восстановления нитрогруппы арила до ариламина: в 1 цилиндрический сосуд, оборудованный

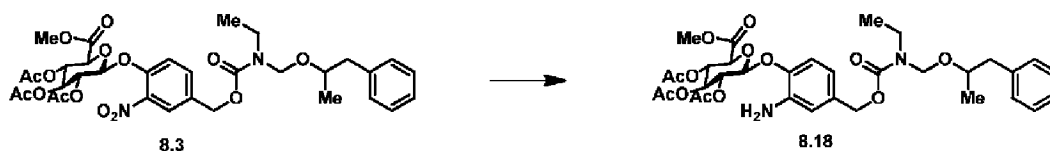
перемешивающим стержнем и резиновой перегородкой, помещали 1 ммоль арилнитро-соединения и 10:1 MeOH:AcOH (об./об.%) для конечной концентрации 0,2 М. Затем добавляли 20 ммоль активированного цинка в одном черпаке и получаемую смесь энергично перемешивали при RT. Осуществляли мониторинг реакции посредством LC/MS до ее завершения, которое в целом наступало в течение 30 минут. Затем реакционную смесь фильтровали и получаемое твердое вещество промывали избытком MeOH. Затем фильтрат азеотропировали досуха с толуолом *in vacuo*. Затем неочищенное масло очищали посредством Biotage FCC с градиентом этилацетата и гексана.

[515] Синтез (2*S*, 3*S*, 4*R*, 5*R*, 6*S*)-6-(2-амино-4-((этил(фенэтоксиметил)карбамоил)окси)метил)фенокси)-5-гидрокси-2-(метоксикарбонил)тетрагидро-2*H*-пиран-3,4-дииацетата (8.17):



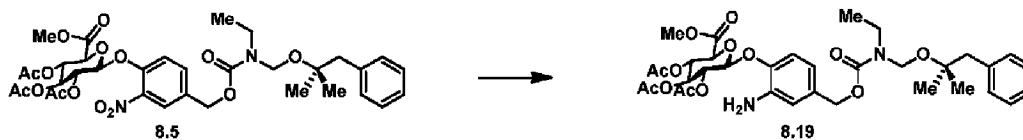
[516] Следуя общей процедуре восстановления: в 400 мкл MeOH:AcOH 8.1 (52 мг, 0,075 ммоль) обрабатывали с использованием цинка (96 мг, 1,5 ммоль). Очистка реакционной смеси давала 43 мг 8.17, выход 86%. MS (*m/z*) [*M*+*H*]⁺ вычисленн. для C₃₂H₄₀N₂O₁₃ 661,25, экспериментальн. 661,23, ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ=7,30-7,25 (м, 2H), 7,23-7,13 (м, 3H), 6,86 (дд, *J*=13,6, 7,02, 1H), 6,66 (м, 2H), 5,38-5,27 (м, 3H), 5,00 (м, 3H), 4,77 (д, *J*=15,5, 2H), 4,15 (д, *J*=9,6, 1H), 3,80 (м, 2H), 3,74 (с, 3H), 3,68 (т, *J*=7,02, 1H), 3,60 (м, 1H), 3,36-3,24 (м, 1H), 2,90-2,79 (м, 1H), 2,07 (с, 3H), 2,05 (д, *J*=3,8 6H), 1,09 (к, 3H).

[517] Синтез (2*S*, 3*R*, 4*S*, 5*S*, 6*S*)-2-(2-амино-4-((этил((1-фенилпропан-2-ил)окси)метил)карбамоил)окси)метил)фенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2*H*-пиран-3,4,5-триил триацетата (8.18):



[518] Следуя общей процедуре восстановления: в 350 мкл MeOH:AcOH 8.3 (49 мг, 0,070 ммоль) обрабатывали с использованием цинка (88 мг, 1,4 ммоль). Очистка реакционной смеси давала 44 мг 8.18, выход 93%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₃H₄₂N₂O₁₃ 675,27, экспериментальн. 675,28, ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ=7,92 (с, 1), 7,41-6,85 (м, 7H) 5,44-5,21 (м, 3H), 5,1 (м, 3H), 4,77 (д, J=5,8, 2H), 4,18 (д, J=8,7, 1H), 3,74 (д, J=5,8, 2H), 3,73-3,45 (м, 2H), 3,34-3,23 (м, 2H), 2,89-2,78 (м, 2H), 2,45 (с, 1H), 2,21 (с, 2H), 2,00 (м, 9H), 1,09 (т, J=6,7, 3H).

[519] Синтез (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-амино-4-(((этил((2-метил-1-фенилпропан-2-ил)окси)метил)карбамоил)окси)метил)фенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (8.19):



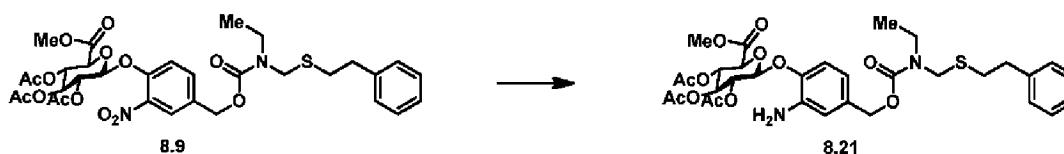
[520] Следуя общей процедуре восстановления: соединение 8.5 (56 мг, 0,074 ммоль) в 390 мкл MeOH:AcOH обрабатывали с использованием цинка (90 мг, 1,42 ммоль). Очистка реакционной смеси давала 44 мг 8.19, выход 93%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₃₄H₄₄N₂O₁₃ 689,28, экспериментальн. 689,30, ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ=7,26-7,14 (м, 5H), 6,86 (т, J=7,0, 1H), 7,47 (м, 2H), 5,38-5,26 (м, 3H), 5,00 (с, 3H), 4,87-4,74 (д, J=38,0, 2H), 4,14 (м, 1H), 3,80 (м, 2H), 3,74 (с, 3H), 3,49 (с, 6H), 3,35 (м, 2H), 2,77 (д, J=22,0, 2H), 2,08 (с, 3H), 2,05 (д, J=4,8, 6H), 1,13 (т, J=6,7, 3H).

[521] Синтез (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-амино-4-(((этил((нафтаден-1-илокси)метил)карбамоил)окси)метил)фенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (8.20):



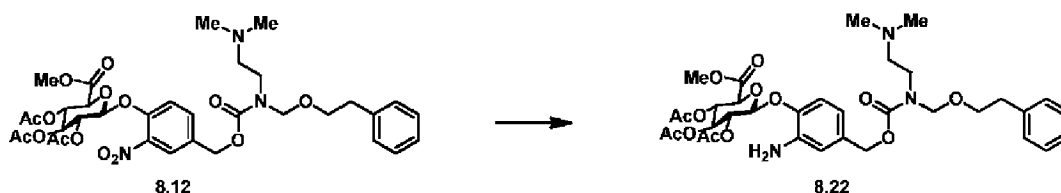
[522] Следуя общей процедуре восстановления: в 630 мкл MeOH:AcOH 8.7 (89 мг, 0,125 ммоль) обрабатывали с использованием цинка (160 мг, 2,50 ммоль). Очистка реакционной смеси давала 78 мг 8.20, выход 88%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₃₄H₃₈N₂O₁₃ 683,24, экспериментальн. 683,21, ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ=8,23 (м, 1H), 7,80 (м, 1H), 7,48 (м, 2H), 7,36–7,27 (м, 1H), 7,26–6,40 (м, 5H), 4,4 (д, J=36,0 2H), 5,38–5,27 (м, 3H), 5,00 (м, 3H), 4,15 (м, 1H), 3,80 (с, 3H), 3,66–3,45 (м, 2H), 2,36 (с, 3H), 2,05 (м, 9H), 3,60 (м, 1H), 1,25 (дт, J=30,0, 7,84, 1H).

[523] Синтез (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-амино-4-(((этил(фенэтилтио)метил)карбамоил)окси)метил)фенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (8.21):



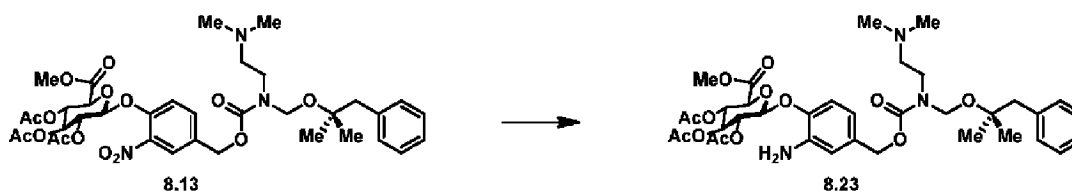
[524] Следуя общей процедуре восстановления: в 320 мкл MeOH:AcOH 8.9 (45 мг, 0,064 ммоль) обрабатывали с использованием цинка (81 мг, 1,27 ммоль). Очистка реакционной смеси давала 38 мг 8.21, выход 84%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₃₄H₄₀N₂O₁₂S 677,23, экспериментальн. 677,20, ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ=7,81 (с, 1H), 7,51 (дд, J=18,1, 8,6 Гц, 1H), 7,35–7,27 (м, 3H), 7,25–7,08 (м, 3H), 5,38–5,27 (м, 3H), 5,14 (м, 3H), 4,49 (д, J=34,0, 2H), 4,20 (д, J=7,90, 2H), 3,74 (с, 3H), 3,50 (с, 2H), 3,46–3,37 (м, 2H), 3,95–2,71 (м, 3H), 2,13 (с, 3H), 2,06 (д, J=2,8, 6H), 1,15 (т, J=6,6, 3H).

[525] Синтез (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-амино-4-(((2-диметиламино)этил)фенэтоксиметил)карбамоил)окси)метил)фенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (8.22):



[526] Следуя общей процедуре восстановления: соединение 8.12 (51 мг, 0,070 ммоль) в 380 мкл MeOH:AcOH обрабатывали с использованием цинка (97 мг, 1,52 ммоль). Очистка реакционной смеси давала 40 мг 8.22, выход 78%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₃₄H₄₅N₃O₁₃ 704,30, экспериментальн. 704,27, ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ=7,29-7,11 (м, 5H), 6,82 (т, J=6,8, 1H), 6,62 (д, J=1,8, 1H), 6,50 (т, J=7,3, 1H), 5,52-5,42 (м, 2H), 5,13-5,01 (м, 2H), 4,72-4,63 (м, 5H), 3,62 (с, 3H), 3,54 (м, 2H), 3,24 (м, 2H), 2,75 (м, 2H), 2,40-2,29 (м, 2H), 2,16 (с, 3H), 2,09 (с, 3H), 2,02 (с, 3H), 1,99 (с, 6H).

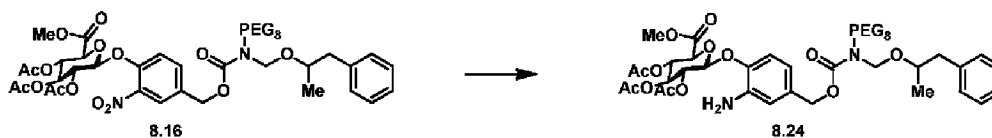
[527] Синтез (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-амино-4-(((2-(диметиламино)этил) ((2-метил-1-фенилпропан-2-ил)окси)метил)карбамоил)окси)метил)фенокси)-6-(метоксикарбонил)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триил триацетата (8.23):



[528] Следуя общей процедуре восстановления: в 330 мкл MeOH:AcOH 8.13 (50 мг, 0,066 ммоль) обрабатывали с использованием цинка (84 мг, 1,31 ммоль). Очистка реакционной смеси давала 46 мг 8.23, выход 92%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₃₆H₄₉N₃O₁₃ 732,33, экспериментальн. 732,29, ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ=7,39 (с, 1H), 7,42 (м, 2H), 7,19-7,11 (м, 4H), 6,89 (д, J=8,4 Гц, 1H), 5,40-5,25 (м, 3H), 5,15-4,98 (м, 3H), 4,85 (д, J=32,0 Гц, 2H), 3,73 (с, 2H), 2,89 (м, 2H), 2,77 (т, J=24,0, 2H), 2,11 (м, 15H), 1,21 (с, 6H).

[529] Синтез (2S,3S,4S,5R,6S)-2-(метоксикарбонил)-6-(2-амино-4-(3-оксо-4-(((1-фенилпропан-2-ил)окси)метил)-2,7,10,13,16,19,22,25,28-нонаокса-4-

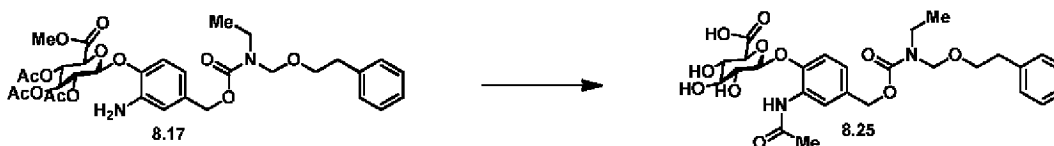
азаноказил) фенокси) тетрагидро-2Н-пиран-3,4,5-триил триацетата (8.24):



[530] В 1 цилиндрический сосуд, оборудованный винтовой крышкой с перегородкой и баллоном с аргоном, помещали 8.16 (56 мг, 0,048 ммоль), дихлорид олова (54 мг, 0,288 ммоль), пиридин (37 мкл, 480 ммоль) и 240 мкл этанола. Реакцию перемешивали в течение 16 ч, LC/MS показывала, что за это время исходные материалы были израсходованы. Реакционную смесь фильтровали через пробку из целита и фильтрат очищали посредством колоночной флэш-хроматографии с выходом 22 мг 8,24 в виде прозрачного масла, 44%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₃₄H₄₄N₂O₁₃ 1013,46, экспериментальн. 1013,43.

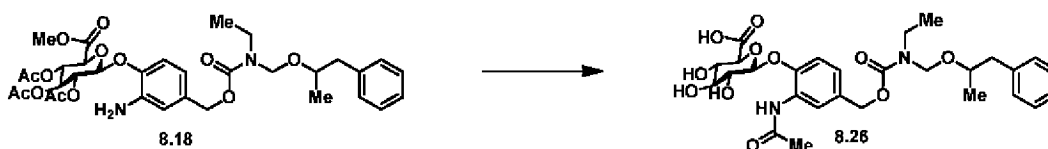
[531] За общей процедурой образования ацетамида следовало снятие защитных групп арилглюкуронида гидроксидом лития. В 1 цилиндрический сосуд, оборудованный перемешивающим стержнем и крышкой с PTFE-накладкой добавляли 1 ммоль анилин глюкуронида, 5 ммоль уксусного ангидрида, 6 ммоль основания Хунига и 5 мл дихлорметана при RT. Осуществляли мониторинг реакции посредством LC/MS до завершения, которое в целом наступало в течение 1 часа. После этого, реакционную смесь азеотропировали досуха с толуолом *in vacuo*. Затем неочищенное масло обрабатывали с использованием 1 мл 1:1 MeOH и насыщенного водного раствора LiOH при RT. С помощью LC/MS осуществляли мониторинг гидролитической реакции снятия защитных групп, которая в целом завершалась в течение 1 часа. Затем реакционную смесь очищали с использованием препаративной ВЭЖХ (градиент 5-95 ацетонитрил/вода 0,05% TFA).

[532] Синтез (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-ацетидамо-4-((этил(фенэтоксиметил)карбамоил)окси)метил)фенокси)-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-карбоновой кислоты (8.25):



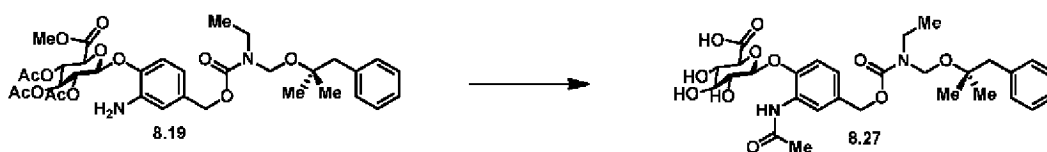
[533] Следуя общей процедуре: соединение 8.17 (63 мг, 0,090 ммоль) превращали в 40 мг 8.25, выход 80%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₂₇H₃₄N₂O₁₁ 563,22, экспериментальн. 563,18.

[534] Синтез (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-ацетиламино-4-((этил((1-фенилпропан-2-ил)окси)метил)карбамоил)окси)метил)фенокси)-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-карбоновой кислоты (8.26):



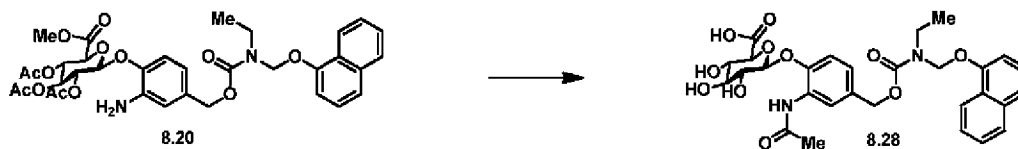
[535] Следуя общей процедуре: соединение 8.16 (56 мг, 0,078 ммоль) превращали в 33 мг 8.24, выход 73%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₂₈H₃₆N₂O₁₁ 577,23, экспериментальн. 577,25.

[536] Синтез (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-ацетиламино-4-((этил((2-метил-1-фенилпропан-2-ил)окси)метил)карбамоил)окси)метил)фенокси)-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-карбоновой кислоты (8.27):



[537] Следуя общей процедуре: соединение 8.19 (29 мг, 0,040 ммоль) превращали в 18 мг 8.27, выход 78%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₂₉H₃₈N₂O₁₁ 591,25, экспериментальн. 591,27.

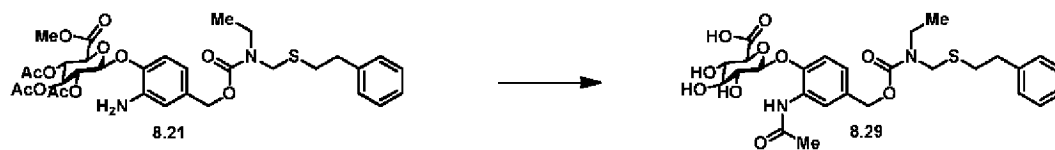
[538] Синтез (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-ацетиламино-4-((этил((нафтаген-1-илокси)метил)карбамоил)окси)метил)фенокси)-3,4,5-тригидрокситетрагидро-2H-пиран-2-карбоновой кислоты (8.28):



[539] Следуя общей процедуре: соединение 8.20 (197 мг, 0,270 ммоль) превращали в 103 мг 8.28, выход 66%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₂₉H₃₂N₂O₁₁ 585,20, экспериментальн. 585,23.

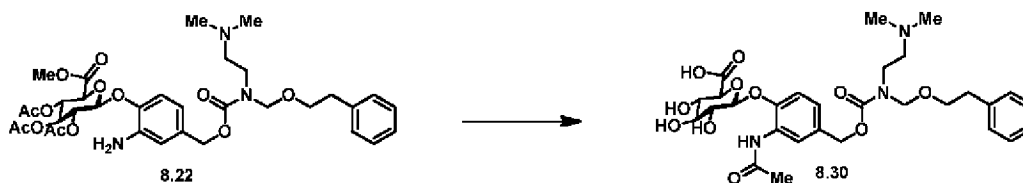
[540] Синтез (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-ацетиламино-4-

(((этил ((фенэтилтио) метил) карбамоил) окси) метил) фенокси) -3, 4, 5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-карбоновой кислоты (8.29):



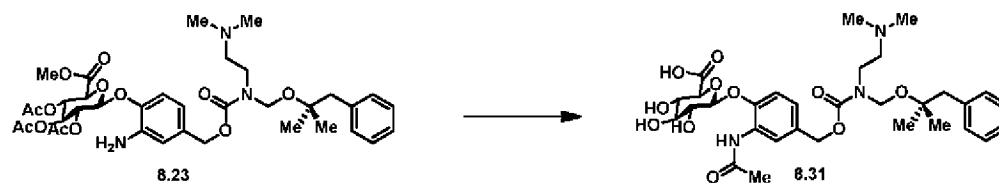
[541] Следуя общей процедуре: соединение 8.21 (48 мг, 0,067 ммоль) превращали в 32 мг 8.29, выход 71%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₂₇H₃₄N₂O₁₀S 579,79, экспериментальн. 579,76.

Синтез (2S, 3S, 4S, 5R, 6S) -6-(2-ацетиамидо-4-(((2-(диметиламино) этил) (фенэтоксиметил) карбамоил) окси) метил) фенокси) -3, 4, 5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-карбоновой кислоты (8.30):



[542] Следуя общей процедуре: соединение 8,22 (45 мг, 0,062 ммоль) превращали в 28 мг 8.30, выход 75%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₂₉H₃₉N₃O₁₁ 606,26, экспериментальн. 606,25.

[543] Синтез (2S, 3S, 4S, 5R, 6S) -6-(2-ацетиамидо-4-(((2-(диметиламино) этил) ((2-метил-1-фенилпропан-2-ил) окси) метил) карбамоил) окси) метил) фенокси) -3, 4, 5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-карбоновой кислоты (8.31):



[544] Следуя общей процедуре: соединение 8.23 (50 мг, 0,066 ммоль) превращали в 31 мг 8.31, выход 72%. MS (m/z) [M+H]⁺ вычисленн. для C₃₁H₄₃N₃O₁₁ 634,29, экспериментальн. 634,32.

[545] Синтез (2S, 3S, 4S, 5R, 6S) -6-(2-ацетиамидо-4-(3-оксо-4-(((1-фенилпропан-2-ил) окси) метил) -2, 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25, 28-нонакса-4-азанокозил) фенокси) -3, 4, 5-тригидрокситетрагидро-2Н-пиран-2-карбоновой кислоты (8.32):

не демонстрировало признаков разложения после 7 суток. R в виде этила и звено лекарственного средства из нафтола (взамен содержащего ароматический спирт лекарственного средства) обеспечивали модельное соединение лекарственного средства и линкера, имеющее звено МАК, ковалентно прикрепленное к звену лекарственного средства (8.28), которое имело превосходную устойчивость, которая была неотличима в ходе исследования от соответствующего модельного соединения лекарственного средства и линкера (8.26) из вторичного алифатического спирта. Этот результат был неожиданным, поскольку звено МАК, содержащее гетероатом кислорода ароматического спирта, не может быть таким же гидролитически стабильным, как звено, содержащее вторичный спирт, из-за его более низкого рКа и, таким образом, более хорошей способности уходящей группы из арил-ОН по сравнению с алифатическим-ОН. В отличие от этого, первичные и третичные алифатические спирты вместо свободных лекарственных средств, содержащих первичные и вторичные алифатические спирты, обеспечивали модельные соединения лекарственного средства и линкера (8.25 и 8.27, соответственно) с R в виде этила, которые имели подходящую устойчивость, но не в той же степени, которую наблюдали для модельного соединения лекарственного средства и линкера из вторичного спирта. Неожиданно, когда R представляет собой диметиламиноэтил взамен этила, модельные соединения лекарственных средств, содержащих первичные и третичные спирты, обеспечивали модельные соединения лекарственного средства и линкера (8.25 и 8.27), для которых была показана та же превосходная устойчивость, что и у модельного соединения лекарственного средства и линкера (8.26) из вторичного алифатического спирта.

[551] Авторы изобретения полагают, что устойчивость лекарственного средства-линкера можно улучшать посредством замещения карбаматного азота его звена метиленкарбамата на основное звено, как определено в настоящем документе, в том числе, без ограничения диметиламиноалкильный фрагмент.

[552] Пример 9: устойчивость *in vitro* для соединений лекарственного средства и линкера, которые имеют

саморасщепляющееся сборочное звено, к самопроизвольному гидролизу их звена метиленкарбамата.

[553] Устойчивость варианта звена МАК во фрагментах лекарственное средство-линкер, представленных соответствующими фрагментами в соединениях лекарственного средства и линкера 4.5 (триптолид), 5.6 (эверолимус), 6.4 (триколимус) и 7.7 (BMN-673) из примеров 4, 5, 6 и 7, соответственно, оценивали следующим образом.

[554] Для оценки устойчивости *in vitro* для соединения 7.7, это соединение лекарственного средства и линкера превращали в его N-ацетилцистеиновый конъюгат (NAC-7.7), который предусматривает модельный LDC с NAC, который служит в качестве суррогата для направленного антительного звена лиганда. С этой целью 8 мкл 8 мМ DMSO матричного раствора соединения лекарственного средства и линкера разводили в фосфатно-солевом буфере (0,39 мл). Затем фрагмент малеимида в каждом соединении лекарственного средства и линкера гасили с использованием N-ацетилцистеина (0,8 мкл, 100 мМ матричный раствор), и это вещество хранили в инкубаторе при 37°C. Аликвоты брали в различные моменты времени в течение 14 суток и анализировали с помощью UPLC-MS на целостность лекарственного средства-линкера.

[555] Тестирование устойчивости проводили как в примере 8. Не отмечено признаков разрушения лекарственного средства-линкера после 14 суток инкубации в 0,1 М PBS, pH 7,4, при 37°C для модельных соединений лекарственного средства и линкера 4.5, 5.6 и 6.4 и модельного конъюгата NAC-7.7 в 4 мМ PBS, pH 7,4, 37°C. В случае NAC-7.7, наблюдали соответствующий амид кислоты из гидролиза сукцинимидного фрагмента. Неожиданно, модельное соединение лекарственного средства и линкера (8.26), которое содержит вторичный алифатический спирт вместо содержащего вторичный алифатический спирт свободного, имело увеличение устойчивости в сравнении с приемлемой устойчивостью соединения лекарственного средства и линкера 6.4, которое получали из содержащего вторичный алифатический спирт свободного лекарственного средства (триколимус), Кроме того, обнаружено,

что соединение лекарственного средства и линкера 5.6, которое получают из содержащего первичный алифатический спирт свободного лекарственного средства (эверолимус), имеет еще более хорошую гидролитическую устойчивость по сравнению с модельным соединением лекарственного средства и линкера (8.23), которое получали из первичного алифатического спирта взамен содержащего первичный алифатический спирт свободного лекарственного средства.

[556] Таким образом, каждое модельное соединение лекарственного средства предусматривало фрагмент лекарственное средство-линкер, который имеет звено метиленкарбамата с приемлемой устойчивостью, степень которой, по-видимому, независима от идентичности гетероатома T* и, таким образом, от функциональной группы на лекарственном средстве, через которую его конъюгируют, но также может быть зависима от остальной структуры звена лекарственного средства. Результаты со звеньями метиленкарбамата, которые являются N-замещенными с использованием основного фрагмента, предусматривают фрагменты лекарственное средство-линкер исключительной устойчивости.

[557] Пример 10: устойчивость *ex vivo* конъюгата антительного лекарственного средства, который имеет саморасщепляющееся сборочное звено, к самопроизвольному гидролизу его звена метиленкарбамата

[558] ADC с четырьмя фрагментами лекарственное средство-линкер из соединения лекарственного средства и линкера 1.3 (т. е., композицию ADC, которая имеет усредненную нагрузку лекарственным средством приблизительно 4), получали как в примере 13, инкубировали в концентрации 1 мг/мл в 200 мкл стерильных аликвотах коммерчески доступной плазмы крысы и мыши (Bioreclamation). Аликвоты инкубировали при 37°C и замораживали на -80°C в каждый момент времени. После завершения инкубации, образцы отмораживали и в каждую аликвоту добавляли 50 мкл чистой смолы IgSelect (GE Healthcare). Образцы центрифугировали при 4°C в течение по меньшей мере трех часов и переносили в 96-луночный фильтровальный планшет (Seahorse) на вакуумном

манифольде. Смолу промывали три раза в 3 мМ PBS (Gibco) и элюировали посредством центрифугирования с двумя 50 мкл аликвотами IgG Elution Buffer (Pierce). Очищенные ADC нейтрализовали с использованием 15 мкл 1М Tris (pH 7,4) и дегликозилировали при 37°C в течение одного часа с использованием PNGaseF (New England Biolabs). 40 мкл инъекцию каждого образца разрешали на колонке Polyhydroxyethyl A SEC (PolyLC) в одной линии с масс-спектрометром QTOF (Agilent) так, что ADC можно было анализировать в нативном, интактном состоянии (см. Valliere-Douglass, John et. al. «Native Intact Mass Determination of Antibodies Conjugated with Monomethyl Auristatin E and F at Interchain Cysteine Residues» *Analytical Chemistry* 2012, 84, 2843-2849). Выполняли обратную свертку необработанного масс-спектра интактного ADC и площадь под каждым пиком после обратной свертки интегрировали для того, чтобы определять усредненное соотношение лекарственное средство-антитело для каждого образца. На фиг. 1 представлена устойчивость конъюгата лекарственного средства АЕ в плазме в качестве функции соотношения лекарственное средство-антитело, определяемого с помощью вышеуказанного способа масс-спектрологии с течением времени в сутках.

[559] Масс-спектрометрические данные подтверждают, что любая возникавшая потеря лекарственного средства обусловлена полным элиминированием лекарственного средства-линкера из звена лиганда и не из-за разрушения линкера, свойственного гидролитической неустойчивости звена МАК. Масс-спектрометрические данные также демонстрируют, что после полного гидролиза сукцинимидной кольцевой системы сукцинимидного фрагмента звена носителя до соответствующего фрагмента амида кислоты, соотношение лекарственное средство:антитело оставалось постоянным.

[560] Данные об устойчивости различных конструкций, описанных в настоящем документе, которые имеют саморасщепляющееся сборочное звено, которое имеет звено метиленкарбамата, ковалентно прикрепленное к звену

лекарственного средства, которое соответствует по структуре лекарственному средству или модельному лекарственному средству, сведены в таблице 4.

[561] **Таблица 4**

Сводка по устойчивости саморасщепляющегося сборочного звена

Лекарственное средство или модельное лекарственное средство (карбамат R)	Конструкция (функциональная группа лекарственного средства)	Относительный период полуразрушения, наблюдаемый с помощью LC/MS
1.3 (H)	Конъюгат сАС10-АЕ (2°ОН) *	Не наблюдали
4.5 (Et)	Соединение триптолид-линкер (2°ОН)	Не наблюдали
5.6 (H)	Соединение эверолимус-линкер (2°ОН)	7 суток
6.4 (H)	Соединение триколимус-линкер (1°ОН)	Не наблюдали
7.7 (H)	Конъюгат НАС- (BMN-673) (2°NH)	Не наблюдали
8.25 (Et)	Модельное соединение лекарственного средства и линкера (1°ОН)	7 суток
8.30 (BU) **	Модельное соединение лекарственного средства и линкера (1°ОН)	Не наблюдали
8.26 (Et)	Модельное соединение лекарственного средства и линкера (2°ОН)	Не наблюдали
8.32 (PEG ₈)	Модельное соединение лекарственного средства и линкера (2°ОН)	Не наблюдали
8.27 (Et)	Модельное соединение лекарственного средства и	7 суток

	линкера (3°ОН)	
8.31 (BU)	Модельное соединение лекарственного средства и линкера (3°ОН)	Не наблюдали
8.28 (Et)	Модельное соединение лекарственного средства и линкера (Ar-ОН)	Не наблюдали
8.29 (Et)	Модельное соединение лекарственного средства и линкера (1°SH)	Не наблюдали

*Инкубировали в плазме крысы или мыши при 37°C, все другие в 0,1 М PBS, pH 7,4, при 37°C

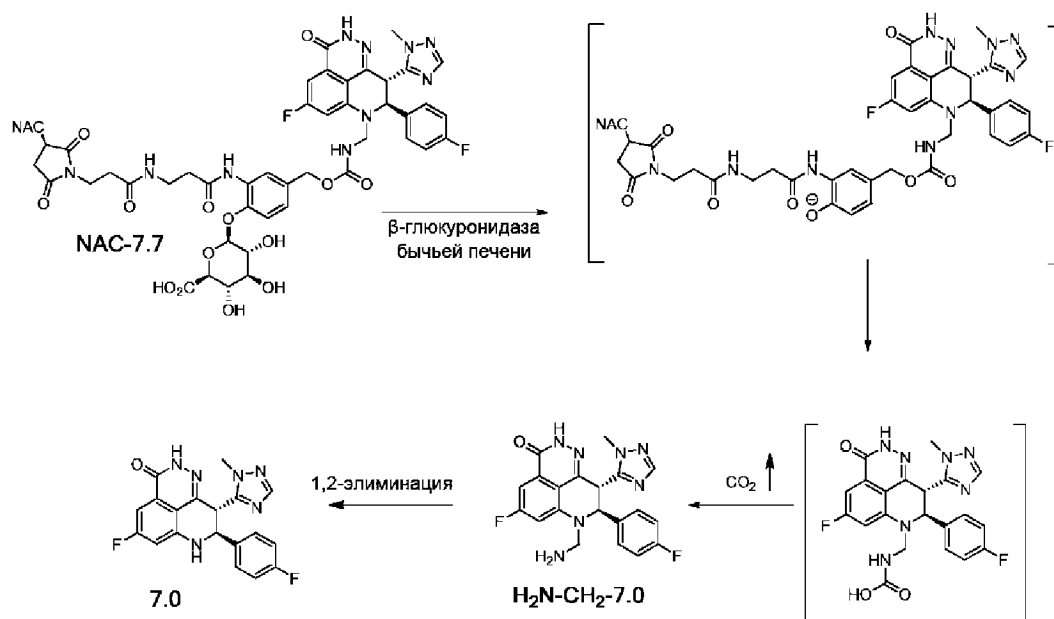
**BU представляет собой $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)_2$

[562] Пример 11. Высвобождение свободного лекарственного средства или модельных соединений для тиолосодержащих лекарственных средств, содержащих первичные, вторичные и третичные алифатические спирты лекарственных средств и фенолоспиртосодержащего лекарственного средства из НАС-конъюгатов. Имеющих саморасщепляющееся сборочное звено, состоящее из звена МАК или его варианта, после активации этого звена глюкуронидазой

[563] Высвобождение свободного лекарственного средства из конъюгата НАС-7.7, полученного из соединения лекарственного средства и линкера в примере 7, оценивали следующим образом: матричный раствор фермента получали растворением β -глюкуронидазы типа В-1 (бычья печень, 1644000 Ед./г сухого вещества) в 100 мМ натрий-ацетатном буфере с pH 5 до рабочей концентрации 0,5 мг/мл. Пять микролитров 8 мМ матричного раствора лекарственного средства-линкера соединения 7.7 добавляли в 12,5 мкл DMSO, 26,3 мкл фосфатно-солевого буфера и 6,75 мкл 100 мМ N-ацетилцистеина. Затем погашенный линкер разводили с использованием 0,45 мл матричного раствора фермента. После этого ферментативную реакцию инкубировали при 37°C, с множеством временных точек 1, 10, 20 и 40 минут. В каждый момент времени образец состоял из 20 мкл реакции,

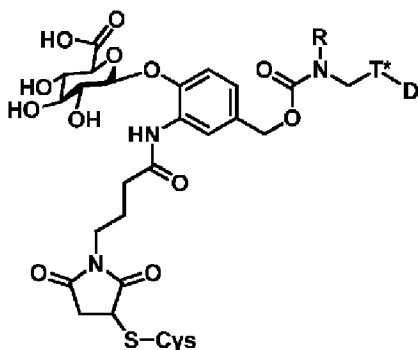
разведенных 5 объемами ледяного метанола и охлажденных до -20°C , пока все образцы не были выбраны. Затем образцы центрифугировали на 12000 г в течение 5 минут и 20 мкл супернатанта анализировали посредством UPLC-MS. После 20 минут ферментативного расщепления, лекарственное средство-линкер было полностью израсходовано. Через 40 минут основная часть материала представляла собой свободное лекарственное средство, что указывает на эффективное полное высвобождение лекарственного средства из линкерной системы.

[564] В отличие от конъюгата сАС10-2.0, который быстро высвобождал свободное лекарственное средство из звена МАК без поддающегося обнаружению промежуточного соединения после саморасщепления саморасщепляющегося сборочного звена, конъюгат НАС-7.7 демонстрировал накопление промежуточного соединения, $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-7.0}$, структура которого представлена на следующей схеме.



[565] Также исследовали высвобождение заменяющих «свободных лекарственных средств» из НАС-конъюгатов, содержащих фрагменты лекарственное средство-линкер из примера 8. Эти соединения получали посредством замены N-ацетильной блокирующей группы на N-3-(пропионоил)-малеимид, который вводит maleimидный предшественник звена носителя, в промежуточных аминосоединениях, используемых для получения модельных соединений лекарственного средства и линкера 8.23-8.30. Затем maleimидные фрагменты гасили с использованием N-ацетилцистеина,

как описано ранее для получения НАС-7.7. НАС-конъюгаты, полученные из промежуточных аминосоединений из примера 8, имеют обобщенную структуру



, в которой T^* представляет собой гетероатом кислорода или серы из гидроксильной или сульфгидрильной функциональной группы содержащего первичный спирт или тиол соединения или гетероатом кислорода из гидроксильной функциональной группы из содержащего вторичный или третичный спирт соединения или из фенолосодержащего соединения из таблицы 3. Время до полного высвобождения D- T^* -H с вариациями в R и высвобождаемом соединении представлены в таблице 5.

[566] Таблица 5

Эффективность высвобождения свободного лекарственного средства после активации саморасщепления

D- T^* -H (соответствующее модельное соединение лекарственное средство-линкер)	R	Время до 100% высвобождения (мин)
Первичный спирт (8.25)	-CH ₂ CH ₃	15
Первичный спирт (8.30)	-CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂	15
Вторичный спирт (8.26)	-CH ₂ CH ₃	45
Вторичный спирт (8.32)	-PEG ₈	15
Третичный спирт (8.27)	-CH ₂ CH ₃	15
Третичный спирт (8.31)	-CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂	15
Ароматический спирт (8.28)	-CH ₂ CH ₃	25

[567] Пример 12: Внутриклеточная доставка цитотоксического свободного лекарственного средства в клетки-мишени злокачественной опухоли, высвобождаемого из звена МАК конъюгата

антительного лекарственного средства из-за активации его саморасщепляющегося сборочного звена при определенных условиях.

[568] Обнаружено, что клетки LoVo (клеточная линия аденокарциномы ободочной кишки человека) после контакт с нагруженным 8 лекарственными средствами конъюгатом cOKT9-7.7, который направлен на клетки CD70+, имеет фрагмент лекарственное средство-линкер из примера 7 и получен подобно примеру 13, имеют более высокие количества внутриклеточного свободного лекарственного средства (т. е., соединения 7.0), чем после контакта с эквивалентным количеством ненаправленного свободного лекарственного средства, как показано на фиг. 3. Эти результаты показывают, что ADC направлен на желаемые клетки и эффективно высвобождает свободное лекарственное средство после его интернализации в клетки.

[569] Пример 13: получение ADC, которые имеют звено МАК, и их цитотоксичности *in vitro*

[570] Направленные антительные лиганды cAC10 и h1F6 описаны в US 8257706 и US 2009/0148942, соответственно. cAC10 направлен на клетки CD30+, которые включают Karpas 299, L540cy и L-428. h1F6 направлен на клетки CD70+, которые включают 786-O, L-428 и Saki-1.

[571] Для композиций ADC, которые имеют гомогенную нагрузку лекарственным средством, равную 8, полное восстановление дисульфидных связей между цепями направленного антительного лиганда осуществляли способом из US 2003/00883263. В кратком изложении, направленное антитело (5-10 мг/мл) в фосфатно-солевом буфере с 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислотой (EDTA) обрабатывали 10 эквивалентами трис(2-карбоксииэтил)фосфина (ТСЕР), нейтрализованного до pH 7,4, используя двухосновный фосфат калия, и инкубировали при 37°C в течение 45 минут. Отделения низкомолекулярных средств достигают эксклюзионной хроматографией на колонке Sephadex G25.

[572] Частичное восстановление направленного антительного лиганда, чтобы предоставлять композиции ADC, имеющие усредненную нагрузку лекарственным средством, приблизительно

равную 4 осуществляли с использованием способа из US 2005/0238649. В кратком изложении, антитело в фосфатно-солевом буфере с 1 мМ EDTA, pH 7,4, обрабатывали 2,1 эквивалента TCEP и затем инкубировали при 37°C в течение приблизительно 45 минут. Значение тиол/антитело проверяли посредством определения концентрации восстановленных антител по поглощению раствора на 280 нм и концентрации тиола посредством реакции с DTNB и определения поглощения на 412 нм.

[573] Соединения лекарственного средства и линкера конъюгировали с полностью и частично восстановленными направленными антительными лигандами с использованием способа из US 2005/0238649. В кратком изложении, соединение лекарственного средства и линкера в DMSO добавляли к восстановленному антителу в PBS с EDTA вместе с избытком DMSO до полного реакционного соразвителя 15%. После 30 минут при температуре окружающей среды в смесь добавляли избыток N-ацетилцистеина для гашения всех малеимидных групп, не вступивших в реакцию. Реакционную смесь очищали посредством обессоливания с использованием смолы Sephadex G25 в PBS буфере.

[574] Концентрацию белка в получаемой композиции ADC определяли на 280 нм. Связанное лекарственное средство количественно определяли посредством анализа с использованием ВЭЖХ гидрофобного взаимодействия (ХГВ).

[575] сАС10-1006 и hF16-1006, указанные в следующих таблицах, представляют собой химерное антитело АС10 и гуманизированное антитело F16, соответственно, конъюгированные с монометилауристатином Е (ММАЕ) на его N-конце через карбаматную функциональную группу с саморасщепляющимся фрагментом val-cit-РАВА, который имеет формулу XVIII, и использовали в качестве контроля. Получаемые ADC тестировали на множестве клеточных линий, чтобы определять активность *in vitro*, результаты чего сведены в таблицах 5 и 6.

[576] Таблица 6

Цитотоксическая активность *in vitro* для ADC, полученных с использованием МАК линкеров; значения представляют IC₅₀ в нг/мл.

ADC	Лекарственное средство/антитело	Karpas 299 CD30+ CD70-	L540cy CD30+ CD70 (низк.)	786-0 CD70+	Сaki-1 CD70+
h1F6-1.3	3,6	>1000	>1000*	>1000**	19
cAC10-1.3	3,7	0,8	3	>1000	>1000
cAC10-1006	4,0	1	8	>1000	>1000
h1F6-1006	4,0	>1000	>1000	>1000**	7

Таблица 7

Цитотоксическая активность *in vitro* для ADC, полученных с использованием МАК линкеров; значения представляют IC₅₀ в нг/мл.

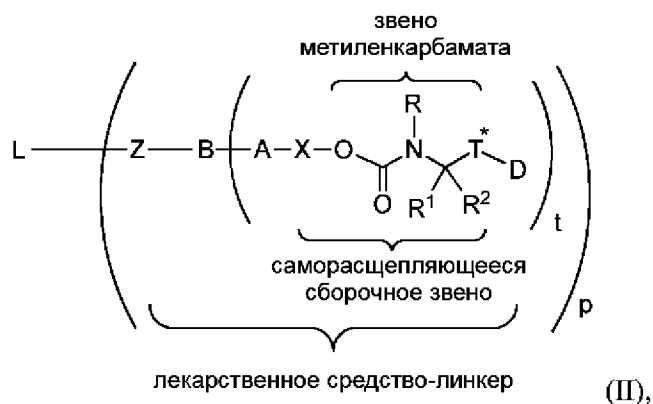
ADC	Лекарственное средство/антитело	Karpas 299 CD30+ CD70-	L540cy CD30+ CD70-	L-428 CD30 (средн.) CD70 (низк.)	HEL92, 1.7 CD30- CD70-
cAC10-2.0	8,0	0,4	3	65	>1000
cAC10-1006	4,0	0,6	9	>1000*	>1000
h1F6-1006	4,0	>1000	>1000	>1000*	>1000

*Известно, что клеточные линии известны устойчивы к ММАЕ

**Известно, что клеточная линия устойчива к ауристатинам

Формула изобретения

1. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда, которое имеет формулу II:



или его фармацевтически приемлемая соль, в котором

L представляет собой звено лиганда;

Z представляет собой звено носителя;

B представляет собой необязательное звено ветвления и присутствует, когда t больше 1, и отсутствует, когда t равно 1;

D представляет собой звено лекарственного средства, соответствующее лекарственному средству, имеющему тиоловую, аминную или амидную функциональную группу, где функциональная группа встроена в указанное звено метилкарбамата;

T* представляет собой атом серы или азота из указанной функциональной группы;

X представляет собой активируемый саморасщепляющийся фрагмент,

A представляет собой необязательное соединительное звено;

R представляет собой водород, незамещенный C₁-C₆ алкил или C₁-C₆ алкил, замещенный -N(R^{op})₂, -N(R^{op})₃, -S(=O)₂R^{op}, -S(=O)₂NR^{op}, -S(=O)R^{op} или -C(=NR^{op})N(R^{op})₂, где каждый R^{op} независимо выбирают из группы, состоящей из водорода и -C₁-C₂₀ алкила, или

R представляет собой C₁-C₆ алкил, замещенный амином или азотсодержащим 3, 4, 5 или 6-членным гетероциклом, который является C-связанным; и

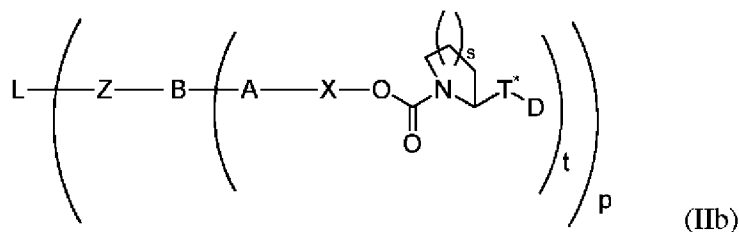
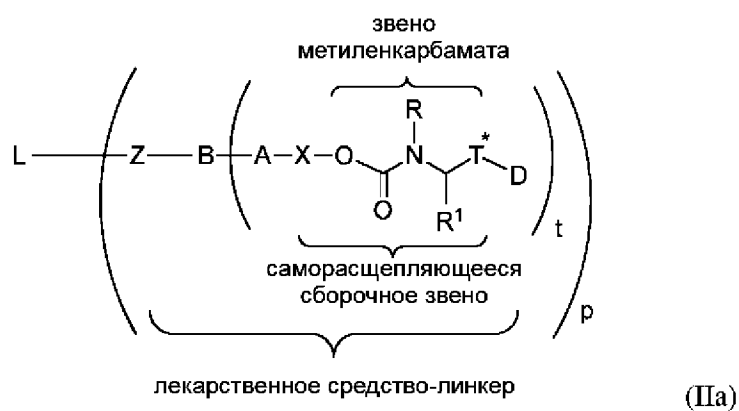
R¹ и R² являются каждый водородом, или

оба R и R¹ совместно с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, определяют фрагмент пирролодинола или пиперидинола, и R² представляет собой водород;

нижний индекс t представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 4; и

нижний индекс p представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 16.

2. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по п. 1, которое имеет формулу IIa или IIb:



или его фармацевтически приемлемая соль, в котором нижний индекс s равен 1 или 2.

3. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по п.п. 1 или 2, в котором R представляет собой водород или незамещенный C₁-C₆ алкил, и нижний индекс s равен 1.

4. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по п. 1 или 2, в котором R представляет собой C₁-C₆ алкил, замещенный -N(R^{op})₂, N(R^{op})₃ или -C(=NR)N(R^{op})₂.

5. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по п. 4, в котором R представляет собой C₁-C₆ алкил, замещенный -N(R^{op})₂, в котором R^{op} независимо выбирают из группы, состоящей из водорода и C₁₋₆ алкила.

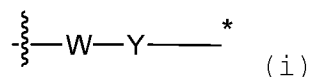
6. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по п. 4, в котором R представляет собой C₁-C₆ алкил, замещенный -N(R^{op})₂, в котором R^{op} независимо выбирают из группы, состоящей из водорода и метила.

7. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по п. 4, в котором R представляет собой C₁-C₆ алкил, замещенный -N(R^{op})₂, в котором каждый R^{op} представляет собой метил.

8. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по п. 4, в котором R представляет собой -CH₂CH₂N(R^{op})₂, в котором R^{op} независимо выбирают из группы, состоящей из водорода и метила.

9. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по любому одному из пп.1-8, в котором В отсутствует и нижний индекс t равен 1.

10. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по п. 1, в котором X имеет формулу (i):



волнистая линия обозначает ковалентное присоединение W к А, В или Z, в зависимости от наличия или отсутствия А и/или В, и звездочка (*) обозначает ковалентное присоединение Y к звену метиленкарбамата, и где

W представляет собой активационное звено; и

Y представляет собой саморасщепляющееся спейсерное звено,

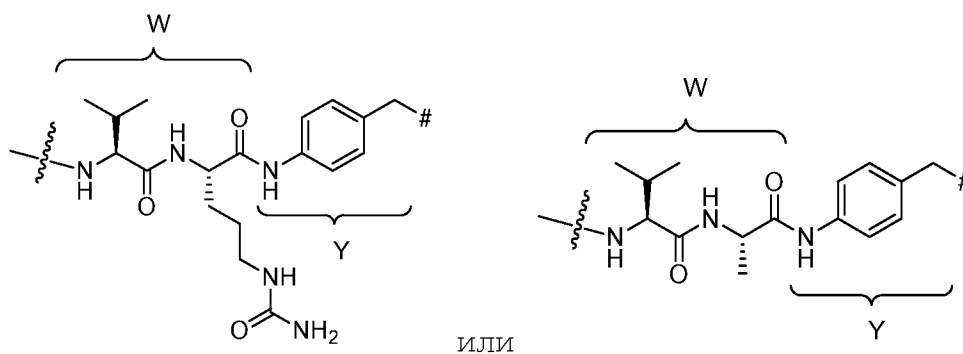
в котором активация саморасщепления Y ведет к высвобождению свободного лекарственного средства.

11. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по п. 10, в котором активация для саморасщепления Y опосредована ферментативным расщеплением ковалентной связи между W и Y посредством опухоли-ассоциированной протеазы.

12. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по п. 11, в котором опухоли-ассоциированная протеаза представляет собой катепсин В.

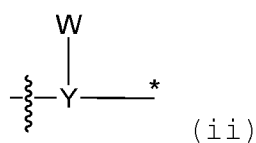
13. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по п. 11, в котором W формулы (i) представляет собой -Val-Cit-, -Phe-Lys- или -Val-Ala-.

14. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по п. 13, в котором -W-Y- представляют структурой:



в котором волнистая связь с азотом из W показывает ковалентную связь с Z, A или B, в зависимости от присутствия или отсутствия A и/или B, и знак диез (#) обозначает ковалентное присоединение атома углерода бензила из Y к атому кислорода звена метиленкарбамата.

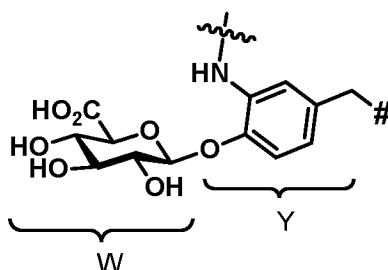
15. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по п. 1, где X имеет формулу (ii):



в котором волнистая линия обозначает ковалентное прикрепление Y к A, B или Z, в зависимости от присутствия или отсутствия A и/или B, и звездочка (*) обозначает ковалентное прикрепление Y к фрагменту метиленкарбамата, и в котором;

W представляет собой активационное звено; и Y представляет собой саморасщепляющееся спейсерное звено, в котором активация саморасщепления Y ведет к высвобождению свободного лекарственного средства.

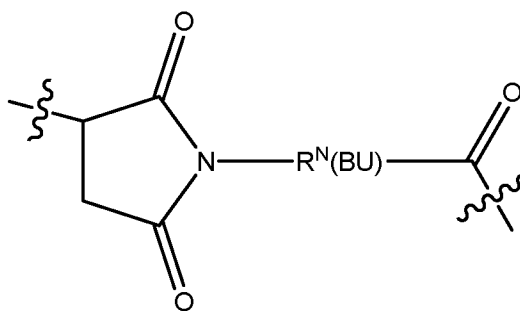
16. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по п. 15, в котором -Y(W)- представляют структурой:



в котором волнистая связь смежно с азотом из Y обозначает ковалентное прикрепление Y к Z, A или B, в зависимости от присутствия или отсутствия A и/или B, и знак диез (#) обозначает ковалентное присоединение атома углерода бензила из Y к атому кислорода звена метиленкарбамата.

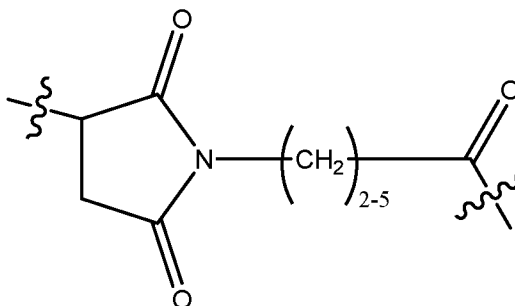
17. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по любому из пп. 1 - 16, где звено носителя (Z) состоит из сукцинимидного фрагмента или фрагмента амида янтарной кислоты, и необязательно, основного звена, где сукцинимидный фрагмент или фрагмент амида янтарной кислоты присоединены к атому серы звена лиганда.

18. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по п. 17, в котором звено носителя (Z) представлено структурой формулы Ха' :



(Xa'), или

или звено носителя (Z) имеет структуру:

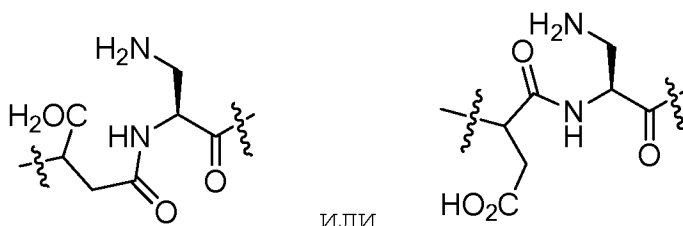


в котором волнистая линия смежно с сукцинимидной кольцевой системой обозначает ковалентное присоединение к атому серы звена лиганда;

волнистая линия смежно с карбонилем обозначает присоединение внутри остальной части соединения конъюгата лекарственного средства и лиганда;

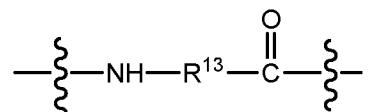
и R^N представляет собой $-C_2-C_5$ алкилен, в котором алкилен замещен основным звеном (BU), в котором BU представляет собой $-(CH_2)_xNH_2$, $-(CH_2)_xNHR^{op}$ или $-(CH_2)_xN(R^{op})_2$, в котором x представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 4; и R^{op} представляет собой C_1-C_6 алкил.

19. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по п. 17, в котором звено носителя (Z) имеет структуру:



ИЛИ

20. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по любому из п.п.1-21, в котором соединительное звено (А) присутствует и имеет следующую структуру:

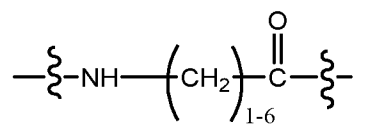


в котором волнистая линия смежно с карбонилем обозначает ковалентное присоединение к активируемому саморасщепляющемуся фрагменту X, и

другая волнистая линия обозначает присоединение к В, если присутствует, или к Z, если В отсутствует; и

R¹³ представляет собой -C₁-C₆ алкилен-, -C₃-C₈карбоцикло-, -арилен-, -C₁-C₁₀ гетероалкилен-, -C₃-C₈гетероцикло-, -C₁-C₁₀алкилен-арилен-, -арилен-C₁-C₁₀алкилен-, -C₁-C₁₀алкилен-(C₃-C₈карбоцикло)-, -(C₃-C₈карбоцикло)-C₁-C₁₀алкилен-, -C₁-C₁₀алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)- или -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-.

21. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по п. 20, в котором А имеет формулу:



22. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по любому из п.п.1-19, в котором А отсутствует.

23. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по любому из п.п.1-22, в котором р представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 10.

24. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по любому из п.п.1-22, в котором р представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 8.

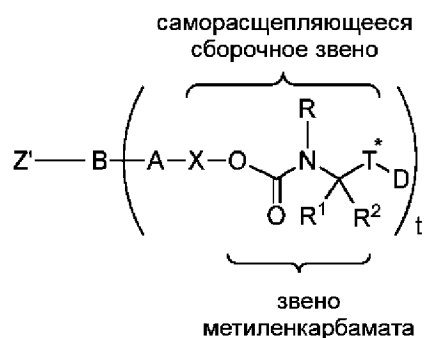
25. Композиция соединения конъюгата лекарственного средства и лиганда, включающая множество конъюгированных

соединений, каждое из которых имеет структуру соединения конъюгата лекарственного средства и лиганда по любому из п.п.1-24, и фармацевтически приемлемый носитель, в которой в среднем присутствует от 2 до 10 фрагментов лекарственных средств-линкеров на звено лиганда.

26. Композиция соединения конъюгата лекарственного средства и лиганда по п.25, в которой в среднем присутствует от 2 до 8 фрагментов лекарственных средств-линкеров на звено лиганда.

27. Соединение лекарственного средства и линкера, в котором соединение содержит звено лекарственного средства и линкерное звено, в котором линкерное звено содержит саморасщепляющееся сборочное звено, имеющее звено метиленкарбамата и активируемый саморасщепляющийся фрагмент, в котором звено лекарственного средства ковалентно прикреплено к звену метиленкарбамата,

в котором соединение лекарственного средства и линкера имеет структуру формулы V:



(V)

или его фармацевтически приемлемая соль; в котором D представляет собой звено лекарственного средства, соответствующее лекарственному средству, имеющему тиоловую, аминную или амидную функциональную группу, где функциональная группа встроена в указанное звено метиленкарбамата;

T* представляет собой атом серы или азота из указанной функциональной группы;

R представляет собой водород, незамещенный C₁-C₆ алкил или C₁-C₆ алкил, замещенный -N(R^{op})₂, -N(R^{op})₃, -S(=O)₂R^{op}, -S(=O)₂NR^{op}, -S(=O)R^{op} или -C(=NR^{op})N(R^{op})₂, где каждый R^{op} независимо выбирают из группы, состоящей из водорода и -C₁-C₂₀ алкила, или

R представляет собой C₁-C₆ алкил, замещенный амином или азотсодержащим 3, 4, 5 или 6-членным гетероциклом, который является C-связанным или N-связанным; и

R¹ и R² являются каждый водородом, или

оба R и R¹ совместно с атомами азота и углерода, к которым они присоединены, определяют фрагмент пирролодинила или пиперидинила, и R² представляет собой водород;

X представляет собой активируемый саморасщепляющийся фрагмент,

Z' представляет собой предшественник звена носителя для звена носителя (Z);

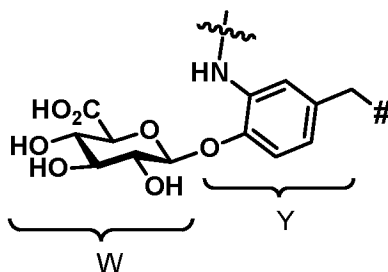
V представляет собой необязательное звено ветвления, и присутствует, когда t больше 1, и отсутствует, когда t равно 1;

A представляет собой необязательное соединительное звено;

нижний индекс t представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 4; и

нижний индекс p представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 16.

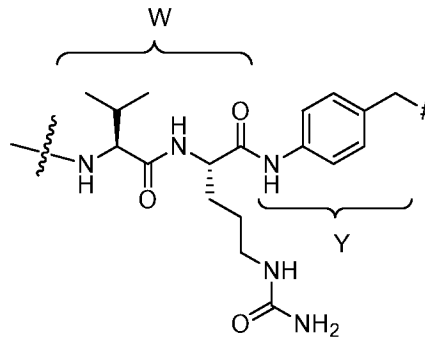
28. Соединение лекарственного средства и линкера по п. 27, в котором X представляет собой -Y(W)-, в котором -Y(W)- представлен структурой:



в котором волнистая связь смежно с атомом азота из Y обозначает ковалентное присоединение к Z', A или B, в зависимости от присутствия или отсутствия A и/или B, и знак

диз (#) обозначает ковалентное присоединение атома углерода бензила из Y к атому кислорода звена метиленкарбамата.

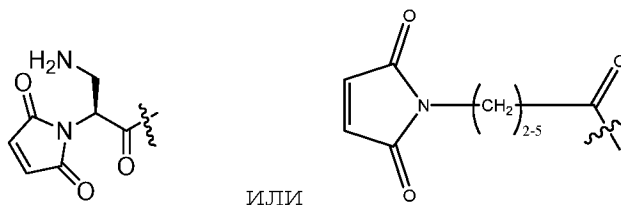
29. Соединение лекарственного средства и линкера по п. 27, в котором X представляет собой -W-Y, в котором -W-Y- представляют структурой:



в котором волнистая связь смежно с гетероатомом азота из W обозначает ковалентное присоединение W к Z', A или B, в зависимости от присутствия или отсутствия A и/или B, и знак диз (#) обозначает ковалентное присоединение атома углерода бензила из Y к атому кислорода звена метиленкарбамата.

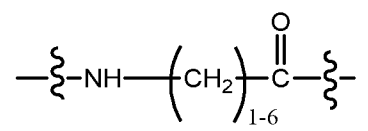
30. Соединение лекарственного средства и линкера по любому из п.п.27-29, в котором Z' содержит фрагмент малеимида.

31. Соединение лекарственного средства и линкера по п. 30, в котором Z' имеет формулу:



в котором волнистая линия смежно с атомом углерода карбонила обозначает ковалентное присоединение Z' к A, B или X, в зависимости от присутствия или отсутствия A и/или B.

32. Соединение лекарственного средства и линкера по любому из п.п.27-31, в котором А присутствует и имеет формулу

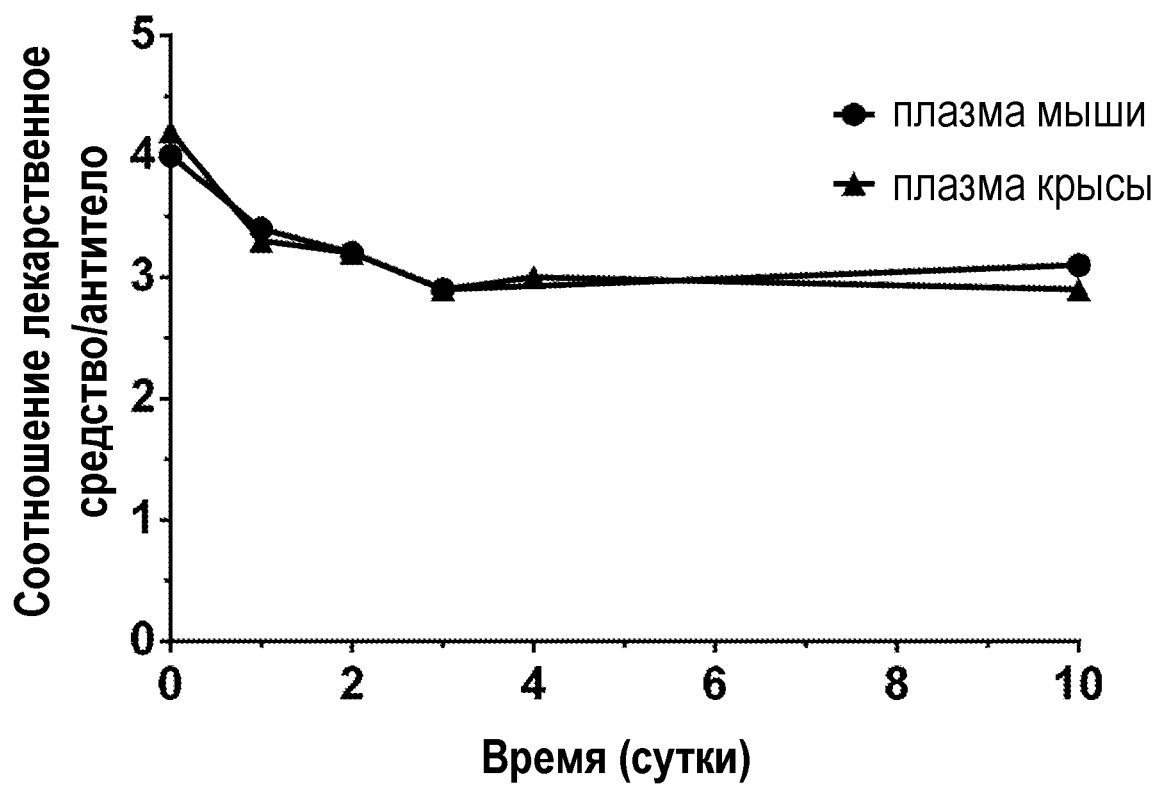


33. Соединение лекарственного средства и линкера по любому из п.п.27-32, в котором В отсутствует и t равен 1.

34. Соединение лекарственного средства и линкера по любому из п.п.27-32, в котором В присутствует и t равен 2.

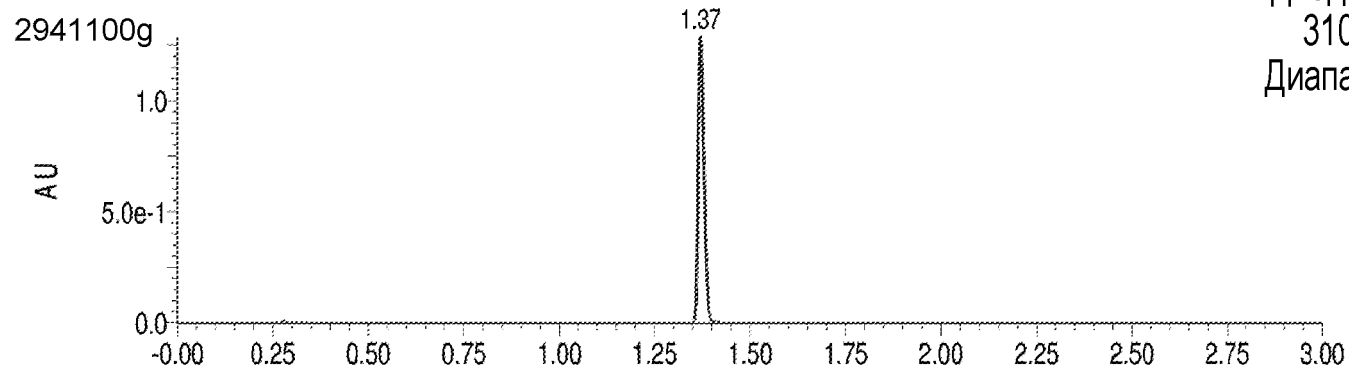
35. Соединение конъюгата лекарственного средства и лиганда по любому из пп. 1-24 для применения в лечении злокачественного опухоли или аутоиммунного заболевания.

Стабильность сАС10-1.3 в плазме ex vivo

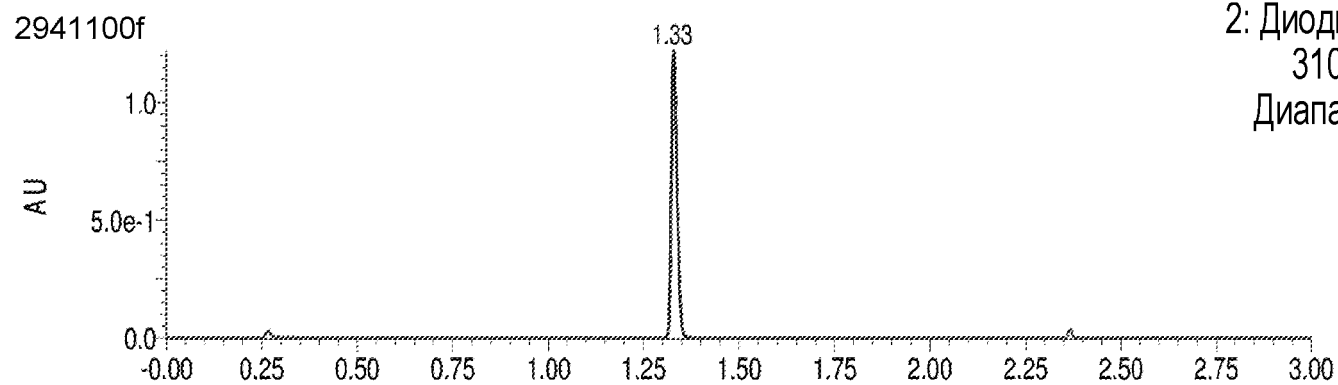


ФИГ. 1

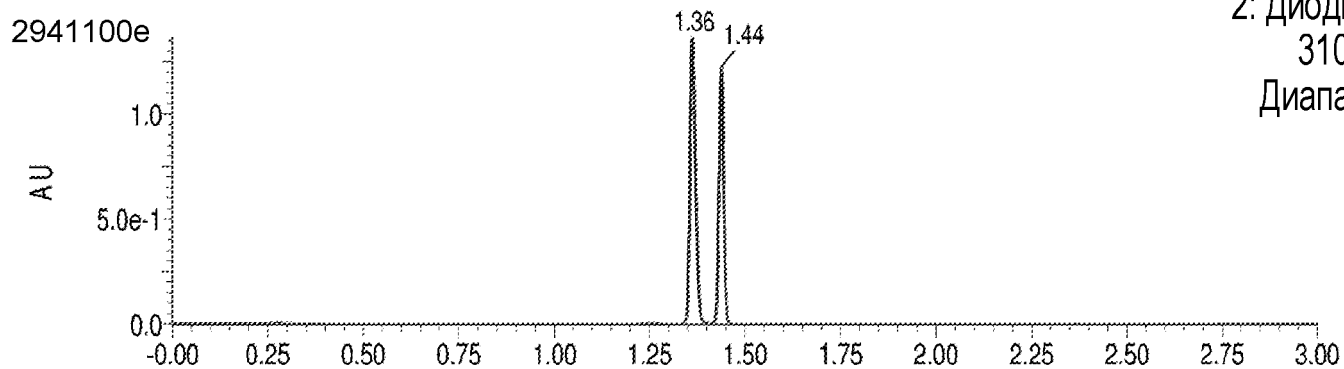
t=18ч



2: Диодная матрица
310 1.50Да
Диапазон: 1.295



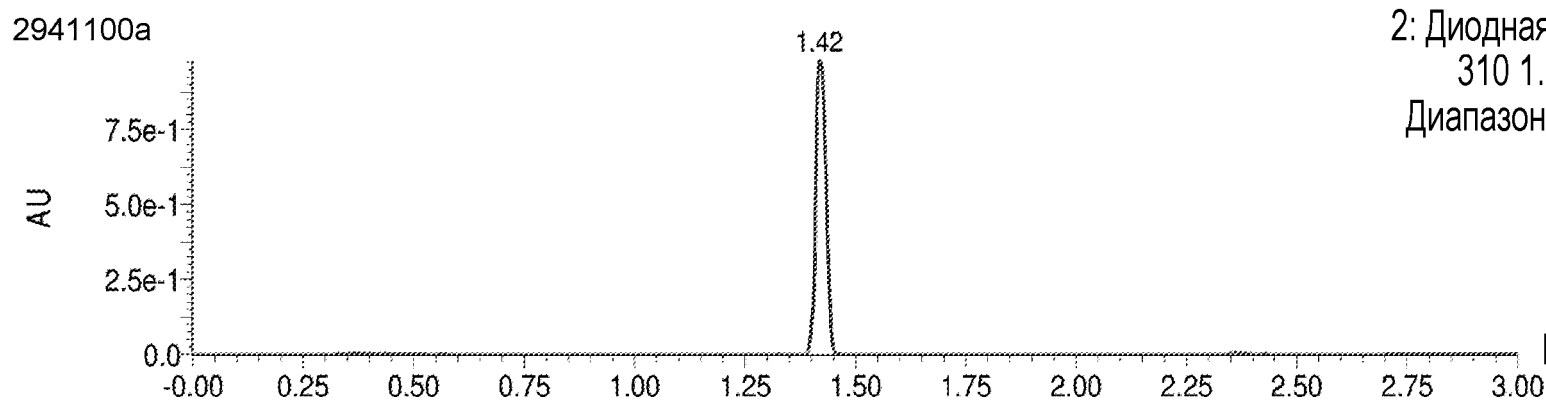
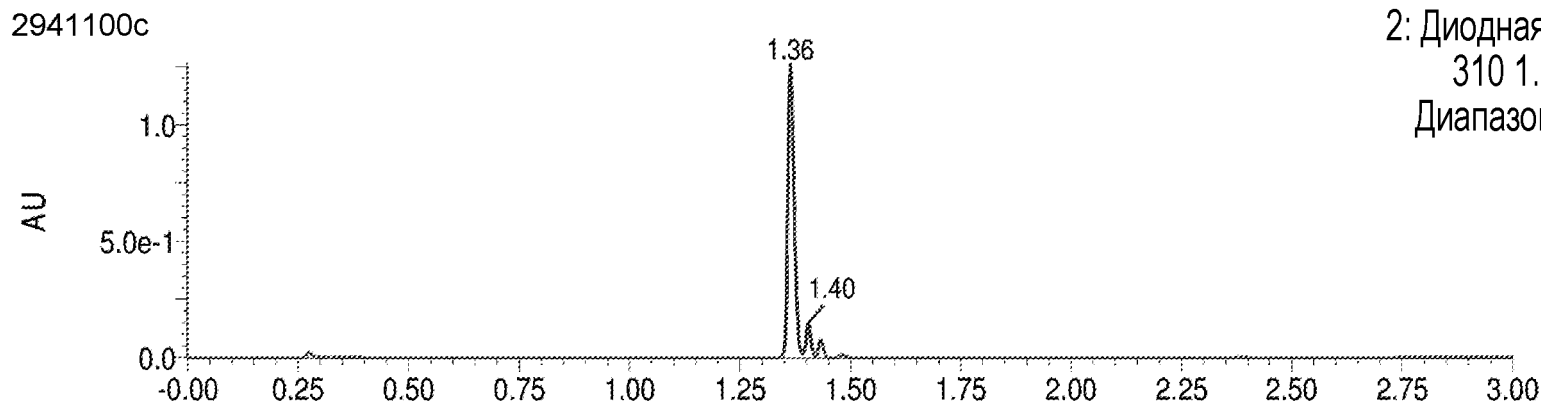
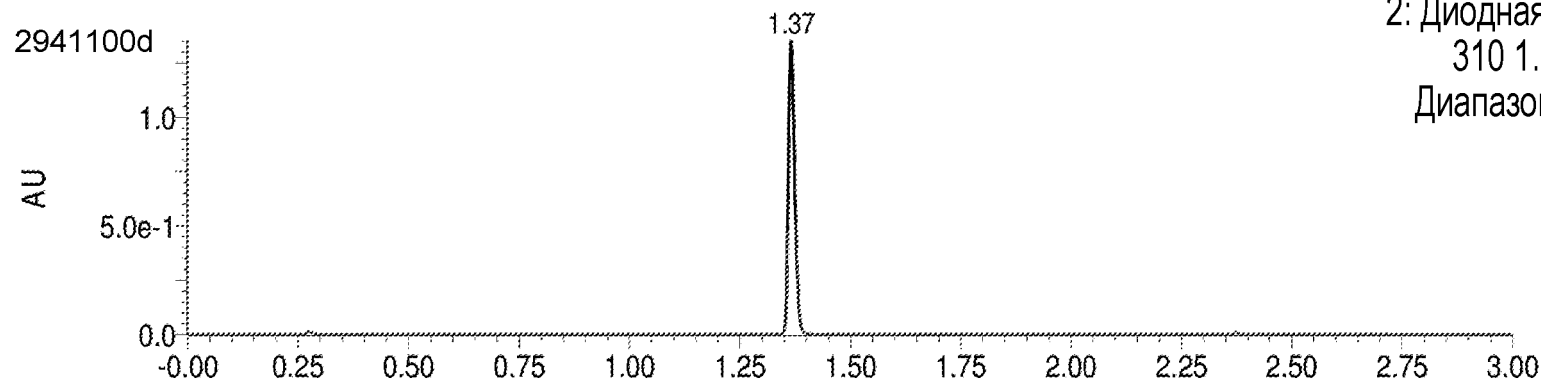
2: Диодная матрица
310 1.50Да
Диапазон: 1.225



2: Диодная матрица
310 1.50Да
Диапазон: 1.368

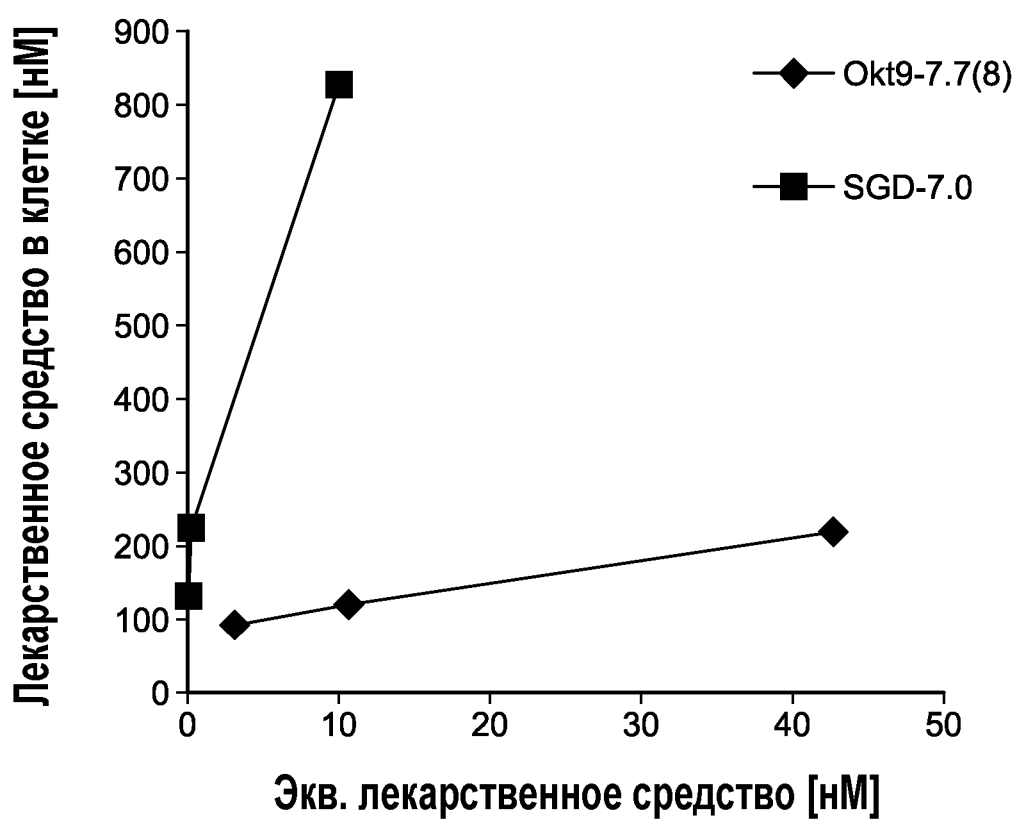
2/4

ФИГ. 2А



ФИГ. 2В

Высвобождение соединения 7.0 в клетках LoVo



ФИГ. 3

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ
(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:
202192240

А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:
См. дополнительный лист

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)
A61K 47/50, 47/68, 31/27, 39/395, A61P 35/00, 37/06

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если возможно, используемые поисковые термины)
Espacenet, EAPATIS, Google, Reaxys

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
X	US 2013116407 A1 (ASHLEY GARY et al.) 2013-05-09, формула, примеры, абзацы [0049], [0074], [0087], [0088]	1-9, 20-24, 27, 32, 33, 35
Y		1-35
Y	BURKE PJ et al. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Antibody-Drug Conjugates Comprised of Potent Camptothecin Analogues. Bioconjugate Chem., 2009, Vol. 20, p. 1242-1250. doi: 10.1021/bc9001097 весь документ	1-35
Y	WO 2013103707 A1 (INVICTUS ONCOLOGY PVT. LTD. et al.) 2013-07-11 формула, примеры, фиг. 2, 5	19
A	US 2005256030 A1 (GENENTECH, INC.) 2005-11-17, формула, примеры	1-35
A	US 2008280937 A1 (LEAMON CHRISTOPHER PAUL et al.) 2008-11-13, формула, примеры	1-35
A	MANSOORI GA et al. Nanotechnology in cancer prevention, detection and treatment: bright future lies ahead. World Review of Science, Technology and Sustainable Development, 2007, Vol. 4(2/3), p. 226-257. doi: 10.1504/WRSTSD.2007.013584 абзац на границе страниц 240-241, фиг. 11	1-35

последующие документы указаны в продолжении

<p>* Особые категории ссылочных документов: «А» - документ, определяющий общий уровень техники «D» - документ, приведенный в евразийской заявке «Е» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее «О» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д. "R" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"</p>	<p>«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения «Х» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности «У» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории «&» - документ, являющийся патентом-аналогом «L» - документ, приведенный в других целях</p>
--	--

Дата проведения патентного поиска: 05 декабря 2023 (05.12.2023)

Уполномоченное лицо:
Начальник Управления экспертизы



Документ подписан
электронной подписью

Сертификат: 1683140433539
Владелец: СN=Аверкиев С.
Действителен: 03.05.2023-02.05.2024

С.Е. Аверкиев

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ
(дополнительный лист)

Номер евразийской заявки:

202192240

КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ (продолжение графы А)

МПК:

A61K 47/50 (2017.01)
A61K 47/68 (2017.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)

СПК:

A61K 47/50
A61K 47/68
A61K 47/6889
A61P 35/00
A61P 37/06