

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 036202

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.10.14

(21) Номер заявки
201692215

(22) Дата подачи заявки
2012.10.12

(51) Int. Cl. C07D 487/04 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 47/66 (2017.01)
A61K 31/5517 (2006.01)

(54) ПИРРОЛБЕНЗОДИАЗЕПИНЫ И КОНЬЮГАТЫ НАПРАВЛЕННОГО ДЕЙСТВИЯ

(31) 61/547,195

(32) 2011.10.14

(33) US

(43) 2017.07.31

(62) 201490582; 2012.10.12

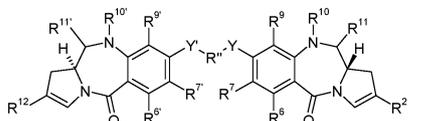
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
СИЭТЛ ДЖЕНЕТИКС, ИНК. (US);
МЕДИМЬОН ЛИМИТЕД (GB)

(72) Изобретатель:
Джеффри Скотт, Бёрк Патрик (US),
Ховард Филип Уилсон (GB)

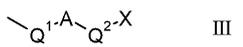
(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

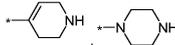
(56) WO-A1-2006111759
US-A1-20110196148

(57) Соединение формулы I



или его фармацевтически приемлемая соль или сольват или его конъюгат,
где R² имеет формулу III



где A представляет собой C₅₋₇арильную группу, X представляет собой , или NHR^N, где R^N выбран из группы, включающей H и C₁₋₄алкил, и либо (i) Q¹ представляет собой одинарную связь, и Q² выбран из одинарной связи и -Z-(CH₂)_n-, где Z выбран из одинарной связи, O, S и NH, и n составляет от 1 до 3; или (ii) Q¹ представляет собой -CH=CH-, и Q² представляет собой одинарную связь; R¹² представляет собой C₅₋₁₀арильную группу; замещенную группой, выбранной из OH, CO₂H, CO₂R^O, где R^O выбран из C₁₋₄алкила; R⁶ и R⁹ независимо выбраны из H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', нитро, Me₃Sn и галогена; где R и R' независимо выбраны из необязательно замещенной C₁₋₁₂алкильной, C₃₋₂₀гетероциклической и C₅₋₂₀арильной групп; R⁷ выбран из H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NHRR', нитро, Me₃Sn и галогена; либо (a) R¹⁰ представляет собой H, и R¹¹ представляет собой OH, OR^A, где R^A представляет собой C₁₋₄алкил; (b) R¹⁰ и R¹¹ образуют двойную связь азот-углерод между атомами азота и углерода, к которым они присоединены; или (c) R¹⁰ представляет собой H, и R¹¹ представляет собой SO₂M, где z представляет собой 2 или 3, и M представляет собой одновалентный фармацевтически приемлемый катион; R'' представляет собой C₃₋₁₂алкиленовую группу, цепь которой может прерываться одним или более гетероатомами, например O, S, NR^{N2}, где R^{N2} представляет собой H или C₁₋₄алкил, и/или ароматическими кольцами, например бензолом или пиридином; Y и Y' выбраны из O, S или NH; R⁶, R⁷, R⁹ выбраны из тех же групп, как R⁶, R⁷ и R⁹ соответственно, и R¹⁰ и R¹¹ представляют собой такие же группы, как R¹⁰ и R¹¹, где если R¹¹ и R^{11'} представляют собой SO₂M, M может представлять собой двухвалентный фармацевтически приемлемый катион.

B1

036202

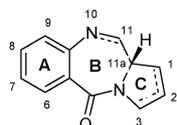
036202

B1

Настоящее изобретение относится к пирролбензодиазепинам (PBD), в частности к димерам пирролбензодиазепина, содержащим С2-С3 двойную связь и арильную группу в положении С2 в каждом мономерном звене, и их включению в конъюгаты направленного действия.

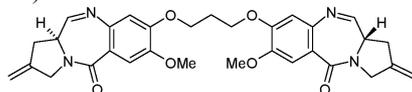
Уровень техники

Некоторые пирролбензодиазепины (PBD) способны распознавать и связываться со специфическими последовательностями ДНК; предпочтительной последовательностью является PuGpu. Первый противоопухолевый антибиотик на основе PBD, антрамицин, был открыт в 1965 году (Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5793-5795 (1965); Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5791-5793 (1965)). После этого сообщалось о ряде природных PBD, и были разработаны многочисленные способы синтеза их различных аналогов (Thurston, et al., Chem. Rev. 1994, 433-465 (1994); Antonow, D. и Thurston, D.E., Chem. Rev. 2011 111 (4), 2815-2864). Члены данного семейства включают эббимицин (abbeymycin) (Hochlowski, et al., J. Antibiotics, 40, 145-148 (1987)), чикамицин (chicamycin) (Konishi, et al., J. Antibiotics, 37, 200-206 (1984)), DC-81 (патент Японии 58-180487; Thurston, et al., J. Chem. Brit., 26, 767-772 (1990); Bose, et al., Tempahedron, 48, 751-758 (1992)), мазетрамицин (mazethramycin) (Kuminoto, et al., J. Antibiotics, 33, 665-667 (1980)), неотрамицины А и В (neothramycin) (Takeuchi, et al., J. Antibiotics, 29, 93-96 (1976)), поротрамицин (porothramycin) (Tsunakawa, et al., J. Antibiotics, 41, 1366-1373 (1988)), протракарцин (prothracarcin) (Shimizu, et al., J. Antibiotics, 29, 2492-2503 (1982); Langley и Thurston, J. Org. Chem., 52, 91-97 (1987)), сибаномицин (DC-102) (Hara, et al., J. Antibiotics, 41, 702-704 (1988); Itoh, et al., J. Antibiotics, 41, 1281-1284 (1988)), сибиромицин (sibiromycin) (Leber, et al., J. Am. Chem. Soc., 110, 2992-2993 (1988)) и томамицин (tomamycin) (Arima, et al., J. Antibiotics, 25, 437-444 (1972)). PBD имеют следующую общую структуру:



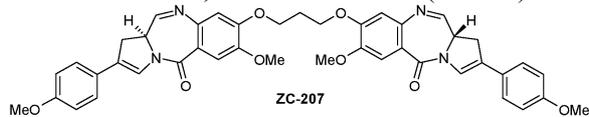
Они различаются числом, типом и положением заместителей как в ароматических кольцах А, так и пиррольных кольцах С, а также степенью насыщения кольца С. В кольце В присутствуют имин (N=C), карбиноламин (NH-CH(OH)) или метиловый эфир карбиноламина (NH-CH(OMe)) в положении N10-C11, которое представляет собой электрофильный центр, ответственный за алкилирование ДНК. Все известные природные продукты имеют (S)-конфигурацию хирального центра C11a, что обеспечивает правозакрученную форму, если смотреть от кольца С в направлении кольца А. Такая форма придает им подходящую трехмерную конфигурацию для изоспиральности с малой бороздкой В-формы ДНК, что приводит к плотному соединению в месте связывания (Kohn, In Antibiotics III. Springer-Verlag, New York, pp. 3-11 (1975); Hurley и Needham-VanDevanter, Acc. Chem. Res., 19, 230-237 (1986)). Их способность образовывать аддукты в малой бороздке позволяет указанным соединениям влиять на процессинг ДНК, а следовательно, и применять их в качестве противоопухолевых агентов.

Ранее было обнаружено, что биологическую активность указанных молекул можно усиливать путем объединения двух звеньев PBD посредством их С8/С'-гидроксильных функциональных групп через гибкий алкиленовый линкер (Bose, D.S., et al., J. Am. Chem. Soc., 114, 4939-4941 (1992); Thurston, D.E., et al., J. Org. Chem., 61, 8141-8147 (1996)). Полагают, что димеры PBD вызывают селективные повреждения последовательностей ДНК, такие как поперечные сшивки палиндромных участков 5'-Pu-GATC-Py-3' цепей ДНК (Smellie, M., et al., Biochemistry, 42, 8232-8239 (2003); Martin, C, et al., Biochemistry, 44, 4135-4147), что считается основной причиной, определяющей их биологическую активность. Одним из примеров димера PBD, SG2000 (SJG-136)

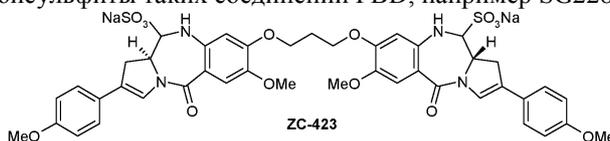


недавно вошел в фазу II клинических испытаний в области онкологии (Gregson, S., et al., J. Med. Chem., 44, 737-748 (2001); Alley, M.C., et al., Cancer Research, 64, 6700-6706 (2004); Hartley, J.A., et al., Cancer Research, 64, 6693-6699 (2004)).

Позднее авторы настоящего изобретения предложили в WO 2005/085251 димерные соединения PBD, содержащие С2 арильные заместители, такие как SG2202 (ZC-207)



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



Было показано, что указанные соединения являются очень подходящими цитотоксическими агентами (Howard, P.W., et al., Bioorg. Med. Chem. (2009), 19 (22), 6463-6466, doi: 10.1016/j.bmcl.2009.09.012).

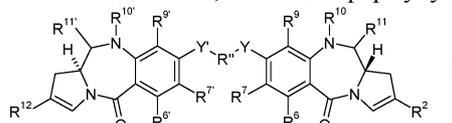
Благодаря особенности действия указанных высокоактивных соединений при поперечной сшивке ДНК указанные молекулы были получены в симметричной форме. Это обеспечивалось прямым синтезом за счет либо получения фрагментов PBD, уже содержащих линкерную группу димера, либо путем взаимодействия синтезированных фрагментов PBD с линкерной группой димера.

В WO 2010/043880 описаны несимметричные димерные соединения PBD, содержащие арильные группы в положении С2 каждого мономера, где одна из трех указанных арильных групп содержит заместитель, способный обеспечить якорь для связывания указанного соединения и другого фрагмента. В находящейся одновременно на рассмотрении международной заявке PCT/US2011/032664, поданной 15 апреля 2011 г., описано включение указанных соединений димера PBD в конъюгаты направленного действия.

Описание изобретения

Авторы настоящего изобретения разработали дополнительные несимметричные димерные соединения PBD для включения в конъюгаты направленного действия, в которых заместители на С2 арильной группе, не содержащие якорь для связывания указанного соединения и другого фрагмента, отличаются от ранее описанных. Указанные отличающиеся замещающие группы обладают преимуществами при получении применении указанных соединений, особенно в биологических свойствах, и при синтезе конъюгатов, а также биологических свойствах указанных конъюгатов.

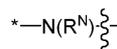
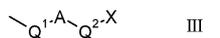
Настоящее изобретение включает соединение, имеющее формулу I



или его фармацевтически приемлемую соль или сольват,

где

R² имеет формулу III



где А представляет собой фенил, Х представляет собой

и либо:

(i) Q¹ представляет собой одинарную связь, и Q² представляет собой одинарную связь; или

(ii) Q¹ представляет собой -CH=CH-, и Q² представляет собой одинарную связь;

R¹² представляет собой фенил, замещенный группой, выбранной из OH, CO₂H, CO₂R⁰, где

R⁰ выбран из C₁₋₄алкила;

R⁶ и R⁹ представляют собой H; R⁷ представляет собой C₁₋₄алкокси;

R¹⁰ и R¹¹ образуют двойную связь азот-углерод между атомами азота и углерода, к которым они присоединены;

Rⁿ представляет собой C₃₋₇алкиленовую группу;

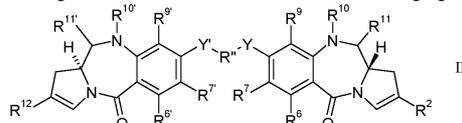
Y и Y' представляют собой O;

R⁶, R⁷, R⁹ выбраны из тех же групп, как R⁶, R⁷ и R⁹ соответственно, и R¹⁰ и R¹¹ представляют собой такие же группы, как R¹⁰ и R¹¹.

Согласно второму аспекту настоящего изобретения предложено применение соединения по первому аспекту изобретения для получения лекарственного средства для лечения пролиферативного заболевания. Согласно второму аспекту также предложено соединение по первому аспекту изобретения для применения для лечения пролиферативного заболевания.

Специалисты в данной области техники могут легко определить, подходит ли исследуемый кандидат конъюгата для лечения пролиферативного состояния для любого конкретного типа клеток. Например, исследования, которые можно без труда применять для определения активности, обеспечиваемой конкретным соединением, описаны ниже в примерах.

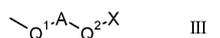
Согласно третьему аспекту изобретение включает соединение формулы II



или его фармацевтически приемлемую соль или сольват,

где

R² имеет формулу III



где А представляет собой фенил, Х представляет собой $\text{---N(R}^N\text{)}_2\text{---}$, где R^N выбран из группы, состоящей из Н и С₁₋₄алкила;

и либо:

(i) Q¹ представляет собой одинарную связь, и Q² представляет собой одинарную связь; или

(ii) Q¹ представляет собой -CH=CH-, и Q² представляет собой одинарную связь;

R¹² представляет собой фенил, замещенный группой, выбранной из ОН, СО₂Н, СО₂R⁰, где R⁰ выбран из С₁₋₄алкила;

R⁶ и R⁹ представляют собой Н;

R⁷ представляет собой С₁₋₄алкокси;

R¹⁰ представляет собой карбаматную защитную группу азота, и R¹¹ представляет собой O-Prot⁰, где Prot⁰ представляет собой защитную группу кислорода;

Rⁿ представляет собой С₃₋₇алкиленовую группу;

Y и Y¹ представляют собой О;

R⁶, R⁷, R⁹ выбраны из тех же групп, как R⁶, R⁷ и R⁹ соответственно, и R¹⁰ и R¹¹ представляют собой такие же группы, как R¹⁰ и R¹¹.

Согласно четвертому аспекту настоящее изобретение включает способ получения соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата из соединения формулы II или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата путем снятия защиты иминной связи.

Несимметричные димеры PBD согласно настоящему изобретению получают при помощи способов, отличающихся от применявшихся ранее для получения симметричных димеров PBD. В частности, авторами настоящего изобретения разработан способ, заключающийся в добавлении каждого заместителя С2 в ядро симметричного димера PBD на разных стадиях способа. Соответственно согласно пятому аспекту настоящего изобретения предложен способ получения соединения по первому и третьему аспектам изобретения, включающий по меньшей мере одну стадию способа, описанную ниже.

Согласно шестому аспекту настоящее изобретение относится к конъюгатам, содержащим димеры PBD, связанные с нацеливающим агентом, где указанный димер PBD представляет собой димер PBD формулы I или его фармацевтически приемлемую соль или сольват (см. выше).

Согласно некоторым вариантам реализации конъюгаты имеют следующую формулу IV



или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, где L представляет собой звено лиганда (т.е. нацеливающий агент), LU представляет собой звено линкера, а D представляет собой звено лекарственного соединения, представляющее собой димер PBD (см. ниже). Индекс p составляет от 1 до 20. Соответственно конъюгаты содержат звено лиганда, ковалентно связанное по меньшей мере с одним звеном лекарственного соединения при помощи звена линкера. Звено лиганда, более подробно описанное ниже, представляет собой нацеливающий агент, который связывается с фрагментом-мишенью. Звено лиганда может, например, специфично связываться с компонентом клетки (агент, связывающийся с клеткой) или с другими целевыми молекулами-мишенями. Соответственно в настоящем изобретении также предложены способы лечения, например, различных типов рака и аутоиммунных заболеваний. Указанные способы включают применение конъюгатов, где звено лиганда представляет собой нацеливающий агент, который специфично связывается с молекулой-мишенью. Звено лиганда может представлять собой, например, белок, полипептид или пептид, такой как антитело, антигенсвязывающий фрагмент антитела или другой связывающийся агент, такой как гибридный белок Fc.

В конъюгатах согласно настоящему изобретению димер PBD D представляет собой димер формулы I или его фармацевтически приемлемую соль или сольват.

Содержание лекарственного соединения обозначается p, значение количества молекул лекарственного соединения на звено лиганда (например, антитела). Содержание лекарственного соединения может варьироваться от 1 до 20 звеньев лекарственного соединения (D) на звено лиганда (например, Ab или mAb). Для композиций p представляет собой среднее содержание лекарственного соединения в конъюгатах в композиции, и r составляет от 1 до 20.

Согласно некоторым вариантам реализации r составляет от примерно 1 до примерно 8 звеньев лекарственного соединения на звено лиганда. Согласно некоторым вариантам реализации r принимает значение 1. Согласно некоторым вариантам реализации r принимает значение 2. Согласно некоторым вариантам реализации r составляет от примерно 2 до примерно 8 звеньев лекарственного соединения на звено лиганда. Согласно некоторым вариантам реализации r составляет от примерно 2 до примерно 6, от 2 до примерно 5 или от 2 до примерно 4 звеньев лекарственного соединения на звено лиганда. Согласно некоторым вариантам реализации r составляет примерно 2, примерно 4, примерно 6 или примерно 8 звеньев лекарственного соединения на звено лиганда.

Среднее количество звеньев лекарственного соединения на звено лиганда в препаратах после реакции конъюгации может быть охарактеризовано с помощью традиционных средств, например масс-спектропии, анализа ИФА и ВЭЖХ. Может быть также определено количественное распределение конъюгатов через r. В некоторых случаях отделение, очистку и характеристику гомогенных конъюгатов,

в которых r имеет конкретное значение, от конъюгатов с другим содержанием лекарственного соединения можно выполнить с помощью средств, таких как обращенно-фазовая ВЭЖХ или электрофорез.

В седьмом аспекте настоящее изобретение относится к соединениям линкер-лекарственное соединение (т.е. лекарственные соединения-линкеры), содержащим димеры PBD (см. выше), связанные со звеном линкера. Указанные лекарственные соединения-линкеры можно использовать в качестве промежуточных веществ для синтеза конъюгатов, содержащих димеры PBD, связанные с нацеливающим агентом.

Указанные лекарственные соединения-линкеры могут иметь следующую формулу V:



его фармацевтически приемлемую соль или сольват, где LU является звеном линкера, и D является звеном лекарственного соединения, представляющим собой димер PBD.

Фигуры

На фиг. 1 показано действие на объем опухоли конъюгата согласно настоящему изобретению в двух различных дозировках;

на фиг. 2 показано действие на объем опухоли того же конъюгата, как на фиг. 1, на различные опухоли.

Определения.

Фармацевтически приемлемые катионы.

Примеры фармацевтически приемлемых одновалентных и двухвалентных катионов описаны в публикации Berge, et al., J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977), содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки полностью и для всех целей.

Фармацевтически приемлемый катион может быть неорганическим или органическим.

Примеры фармацевтически приемлемых одновалентных неорганических катионов включают, но не ограничиваются ими, ионы щелочных металлов, такие как Na^+ и K^+ . Примеры фармацевтически приемлемых двухвалентных неорганических катионов включают, но не ограничиваются ими, катионы щелочноземельных металлов, такие как Ca^{2+} и Mg^{2+} . Примеры фармацевтически приемлемых органических катионов включают, но не ограничиваются ими, ион аммония (т.е. NH_4^+) и замещенные ионы аммония (например, NH_3R^+ , NH_2R_2^+ , NHR_3^+ , NR_4^+). Примерами некоторых подходящих замещенных ионов аммония являются ионы, полученные из этиламина, диэтиламина, дициклогексиламина, триэтиламина, бутиламина, этилендиамина, этаноламина, диэтанолламина, пиперазина, бензиламина, фенилбензиламина, холина, меглумамина и трометамина, а также из аминокислот, таких как лизин и аргинин. Примером распространенного четвертичного иона аммония является $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$.

Заместители.

В настоящем описании выражение "возможно замещенный" относится к исходной группе, которая может быть незамещенной или замещенной.

Если не указано иное, в настоящем описании термин "замещенный" относится к исходной группе, которая содержит один или более заместителей. В настоящем описании термин "заместитель" используется в традиционном значении и относится к химическому фрагменту, который ковалентно присоединен или, если это возможно, конденсирован с исходной группой. Хорошо известен широкий ряд заместителей, и способы их получения и введения в разнообразные исходные группы также хорошо известны.

Примеры заместителей более подробно описаны ниже.

C_{1-12} алкил: в настоящем описании термин " C_{1-12} алкил" относится к одновалентному фрагменту, полученному в результате удаления атома водорода от атома углерода в углеводороде, содержащем от 1 до 12 атомов углерода, который может быть алифатическим или алициклическим и который может быть насыщенным или ненасыщенным (например, частично ненасыщенным, полностью ненасыщенным). В настоящем описании термин " C_{1-4} алкил" относится к одновалентному фрагменту, полученному путем удаления атома водорода от атома углерода углеводородного соединения, имеющего от 1 до 4 атомов углерода, которое может быть алифатическим или алициклическим и которое может быть насыщенным или ненасыщенным (например, частично ненасыщенным, полностью ненасыщенным). Аналогично, в настоящем описании термин " C_{1-2} алкил" относится к одновалентному фрагменту, полученному путем удаления атома водорода от атома углерода углеводородного соединения, имеющего от 1 до 2 атомов углерода, то есть метилу или этилу.

Таким образом, термин "алкил" включает подклассы алкенил, алкинил, циклоалкил и т.д., описанные ниже.

Примеры насыщенных алкильных групп включают, но не ограничиваются ими, метил (C_1), этил (C_2), пропил (C_3), бутил (C_4), пентил (C_5), гексил (C_6) и гептил (C_7).

Примеры насыщенных линейных алкильных групп включают, но не ограничиваются ими, метил (C_1), этил (C_2), н-пропил (C_3), н-бутил (C_4), н-пентил (амил) (C_5), н-гексил (C_6) и н-гептил (C_7).

Примеры насыщенных разветвленных алкильных групп включают изопропил (C_3), изобутил (C_4), втор-бутил (C_4), трет-бутил (C_4), изопентил (C_5) и неопентил (C_5).

C_{2-12} алкенил: в настоящем описании термин " C_{2-12} алкенил" относится к алкильной группе, содержащей одну или более двойных углерод-углеродных связей.

Примеры ненасыщенных алкенильных групп включают, но не ограничиваются ими, этенил (винил,

-CH=CH₂), 1-пропенил (-CH=CH-CH₃), 2-пропенил (аллил, -CH-CH=CH₂), изопропенил (1-метилвинил, -C(CH₃)=CH₂), бутенил (C₄), пентенил (C₅) и гексенил (C₆).

C₂₋₁₂алкинил: в настоящем описании термин "C₂₋₁₂алкинил" относится к алкильной группе, содержащей одну или более тройных углерод-углеродных связей.

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

C₃₋₁₂циклоалкил: в настоящем описании термин "C₃₋₁₂циклоалкил" относится к алкильной группе, которая также является циклической группой; то есть представляет собой одновалентный фрагмент, полученный в результате удаления атома водорода из атома алициклического кольца циклического углеводородного соединения (карбоциклического соединения), содержащий от 3 до 7 атомов углерода, включая от 3 до 7 атомов в кольце.

Примеры циклоалкильных групп включают, но не ограничиваются ими, группы, полученные из насыщенных моноциклических углеводородных соединений:

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

ненасыщенных моноциклических углеводородных соединений:

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

насыщенных полициклических углеводородных соединений:

норкарана (C₇), норпинана (C₇), норборнана (C₇).

В указанном контексте префиксы (например, C₃₋₂₀, C₃₋₇, C₅₋₆ и т.д.) обозначают количество атомов в кольце или диапазон количества атомов в кольце, включая атомы углерода и гетероатомы.

Приведенные выше группы, по отдельности или как часть другого заместителя, могут быть замещены одной или более группами, выбранными из таких же групп и дополнительных заместителей, перечисленных ниже.

Галогены: -F, -Cl, -Br и -I.

Гидроксильные: -OH.

Простой эфир: -OR, где R представляет собой заместитель простого эфира, например C₁₋₇алкильную группу (которую также называют C₁₋₇алкоксигруппой, как описано ниже), C₃₋₂₀гетероциклическую группу (которую также называют C₃₋₂₀гетероциклилоксигруппой) или C₅₋₂₀арильную группу (которую также называют C₅₋₂₀арилоксигруппой), предпочтительно C₁₋₇алкильную группу.

Алкокси: -OR, где R представляет собой алкильную группу, например C₁₋₇алкильную группу. Примеры C₁₋₇алкоксигрупп включают, но не ограничиваются ими, -OMe (метокси), -OEt (этокси), -O(nPr) (н-пропокси), -O(iPr) (изопропокси), -O(nBu) (н-бутокси), -O(sBu) (втор-бутокси), -O(iBu) (изобутокси) и -O(tBu) (трет-бутокси).

Ацеталь: -CH(OR¹)(OR²), где R¹ и R² независимо представляют собой заместители ацеталей, например C₁₋₇алкильную группу, C₃₋₂₀гетероциклическую группу или C₅₋₂₀арильную группу, предпочтительно C₁₋₇алкильную группу, или в случае "циклической" ацетальной группы R¹ и R², взятые совместно с двумя атомами кислорода, к которым они присоединены, и атомами углерода, к которым они присоединены, образуют гетероциклическое кольцо, содержащее от 4 до 8 атомов в кольце. Примеры ацетальных групп включают, но не ограничиваются ими, -CH(OMe)₂, -CH(OEt)₂ и -CH(OMe)(OEt).

Гемиацеталь: -CH(OH)(OR¹), где R¹ представляет собой заместитель гемиацеталей, например C₁₋₇алкильную группу, C₃₋₂₀гетероциклическую группу или C₅₋₂₀арильную группу, предпочтительно C₁₋₇алкильную группу. Примеры гемиацетальных групп включают, но не ограничиваются ими, -CH(OH)(OMe) и -CH(OH)(OEt).

Кеталь: -CR(OR¹)(OR²), где R¹ и R² такие же, как определены для ацеталей, и R представляет собой заместитель кеталей, отличный от водорода, например C₁₋₇алкильную группу, C₃₋₂₀гетероциклическую группу или C₅₋₂₀арильную группу, предпочтительно C₁₋₇алкильную группу. Примеры кеталей включают, но не ограничиваются ими, -C(Me)(OMe)₂, -C(Me)(OEt)₂, -C(Me)(OMe)(OEt), -C(Et)(OMe)₂, -C(Et)(OEt)₂ и -C(Et)(OMe)(OEt).

Гемикеталь: -CR(OH)(OR¹), где R¹ такой же, как определен для гемиацеталей, и R представляет собой заместитель гемикеталей, отличный от водорода, например C₁₋₇алкильную группу, C₃₋₂₀гетероциклическую группу или C₅₋₂₀арильную группу, предпочтительно C₁₋₇алкильную группу. Примеры гемикеталей включают, но не ограничиваются ими, -C(Me)(OH)(OMe), -C(Et)(OH)(OMe), -C(Me)(OH)(OEt) и -C(Et)(OH)(OEt).

Оксогруппа (кето-, -он): =O.

Тион (тиокетон): =S.

Имино (иминная группа): =NR, где R представляет собой заместитель имина, например водород, C₁₋₇алкильную группу, C₃₋₂₀гетероциклическую группу или C₅₋₂₀арильную группу, предпочтительно водород или C₁₋₇алкильную группу. Примеры иминов включают, но не ограничиваются ими, =NH, =NMe,

=NEt и =NPh.

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

Ацил (кето-): $-C(=O)R$, где R представляет собой заместитель ацила, например C_{1-7} алкильную группу (которую также называют C_{1-7} алкилацилом или C_{1-7} алканоилом), C_{3-20} гетероциклическую группу (которую также называют C_{3-20} гетероциклилацилом) или C_{5-20} арильную группу (которую также называют C_{5-20} арилацилом), предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры ацильных групп включают, но не ограничиваются ими, $-C(=O)CH_3$ (ацетил), $-C(=O)CH_2CH_3$ (пропионил), $-C(=O)C(CH_3)_3$ (т-бутирил) и $-C(=O)Ph$ (бензоил, фенол).

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

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

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

Тионокарбокси (тионокарбоновая кислота): $-C(=S)OH$.

Имидокислота: $-C(=NH)OH$.

Гидроксамовая кислота: $-C(=NOH)OH$.

Сложный эфир (карбоксилат, сложный эфир карбоновой кислоты, оксикарбонил): $-C(=O)OR$, где R представляет собой заместитель сложноэфирной группы, например C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры сложноэфирных групп включают, но не ограничиваются ими, $-C(=O)OCH_3$, $-C(=O)OCH_2CH_3$, $-C(=O)OC(CH_3)_3$ и $-C(=O)OPh$.

Ацилокси ("обращенный" сложный эфир): $-OC(=O)R$, где R представляет собой заместитель ацилокси, например C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры ацилоксигрупп включают, но не ограничиваются ими, $-OC(=O)CH_3$ (ацетокси), $-OC(=O)CH_2CH_3$, $-OC(=O)C(CH_3)_3$, $-OC(=O)Ph$ и $-OC(=O)CH_2Ph$.

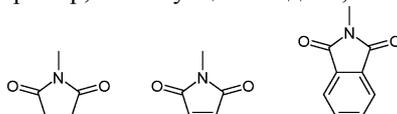
Оксикарбонилокси: $-OC(=O)OR$, где R представляет собой заместитель сложноэфирной группы, например C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры сложноэфирных групп включают, но не ограничиваются ими, $-OC(=O)OCH_3$, $-OC(=O)OCH_2CH_3$, $-OC(=O)OC(CH_3)_3$ и $-OC(=O)OPh$.

Амино: $-NR^1R^2$, где R^1 и R^2 независимо представляют собой заместители аминогруппы, например водород, C_{1-7} алкильную группу (которую также называют C_{1-7} алкиламино или ди- C_{1-7} алкиламино), C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно H или C_{1-7} алкильную группу, или в случае "циклической" аминогруппы R^1 и R^2 совместно с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклическое кольцо, содержащее от 4 до 8 атомов в кольце. Аминогруппы могут быть первичными ($-NH_2$), вторичными ($-NHR^1$) или третичными ($-NHR^1R^2$), а также в случае катионной формы могут быть четвертичными ($-N^+R^1R^2R^3$). Примеры аминогрупп включают, но не ограничиваются ими, $-NH_2$, $-NHCH_3$, $-NHC(CH_3)_2$, $-N(CH_3)_2$, $-N(CH_2CH_3)_2$ и $-NPh$. Примеры циклических аминогрупп включают, но не ограничиваются ими, азиридино, азетидино, пирролидино, пиперидино, пиперазино, морфолино и тиоморфолино.

Амидная группа (карбамоил, карбамил, аминокарбонил, карбоксамид): $-C(=O)NR^1R^2$, где R^1 и R^2 независимо представляют собой заместители аминогруппы, определенные для аминогрупп. Примеры амидогрупп включают, но не ограничиваются ими, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)NHCH_3$, $-C(=O)N(CH_3)_2$, $-C(=O)NHCH_2CH_3$ и $-C(=O)N(CH_2CH_3)_2$, а также амидогруппы, в которых R^1 и R^2 совместно с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклическую структуру, как, например, в случае пиперидинокарбонила, морфолинокарбонила, тиоморфолинокарбонила и пиперазинокарбонила.

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

Ациламино (ациламино): $-NR^1C(=O)R^2$, где R^1 представляет собой заместитель амидной группы, например водород, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно водород или C_{1-7} алкильную группу, и R^2 представляет собой заместитель ацильной группы, например C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно водород или C_{1-7} алкильную группу. Примеры ациламиногрупп включают, но не ограничиваются ими, $-NHC(=O)CH_3$, $-NHC(=O)CH_2CH_3$ и $-NHC(=O)Ph$. R^1 и R^2 , взятые вместе, могут образовывать циклическую структуру, например, как в сукцинимидиле, малеимидиле и фталиимидиле



сукцинимидил малеимидил фталиимидил

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

Уреидогруппа: $-N(R^1)CONR^2R^3$, где R^2 и R^3 независимо представляют собой заместители амино-

группы, определенные для аминогрупп, а R^1 представляет собой заместитель уреидогруппы, например водород, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно водород или C_{1-7} алкильную группу. Примеры уреидогрупп включают, но не ограничиваются ими, $-NHCONH_2$, $-NHCONHMe$, $-NHCONHEt$, $-NHCONMe_2$, $-NHCONEt_2$, $-NMeCONH_2$, $-NMeCONHMe$, $-NMeCONHEt$, $-NMeCONMe_2$ и $-NMeCONEt_2$.

Гуанидин: $-NH-C(=NH)NH_2$.

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



Иминогруппа: $=NR$, где R представляет собой заместитель иминогруппы, например водород, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно H или C_{1-7} алкильную группу. Примеры иминогрупп включают, но не ограничиваются ими, $=NH$, $=NMe$ и $=NEt$.

Амидин (амидино): $-C(=NR)NR_2$, где каждый R представляет собой заместитель амидиногруппы, например водород, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{6-20} арильную группу, предпочтительно H или C_{1-7} алкильную группу. Примеры амидиногрупп включают, но не ограничиваются ими, $-C(=NH)NH_2$, $-C(=NH)NMe_2$ и $-C(=NMe)NMe_2$.

Нитро: $-NO_2$.

Нитрозо: $-NO$.

Азидо: $-N_3$.

Циано (нитрил, карбонитрил): $-CN$.

Изоциано: $-NC$.

Цианато: $-OCN$.

Изоцианато: $-NCO$.

Тиоциано (тиоцианато): $-SCN$.

Изотиоциано (изотиоцианато): $-NCS$.

Сульфгидрил (тиол, меркапто): $-SH$.

Простой тиоэфир (сульфид): $-SR$, где R представляет собой заместитель простого тиоэфира, например C_{1-7} алкильную группу (которую также называют C_{1-7} алкилтиогруппой), C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры C_{1-7} алкилтиогрупп включают, но не ограничиваются ими, $-SCH_3$ и $-SCH_2CH_3$.

Дисульфид: $-SS-R$, где R представляет собой заместитель дисульфида, например C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу (которую также называют C_{1-7} алкилдисульфидом). Примеры C_{1-7} алкилдисульфидных групп включают, но не ограничиваются ими, $-SSCH_3$ и $-SSCH_2CH_3$.

Сульфин (сульфинил, сульфоксид): $-S(=O)R$, где R представляет собой заместитель сульфиногруппы, например C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры сульфиновых групп включают, но не ограничиваются ими, $-S(=O)CH_3$ и $-S(=O)CH_2CH_3$.

Сульфон (сульфонил): $-S(=O)_2R$, где R представляет собой заместитель сульфоновой группы, например C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу, включая, например, фторированную или перфторированную C_{1-7} алкильную группу. Примеры сульфоновых групп включают, но не ограничиваются ими, $-S(=O)_2CH_3$ (метансульфонил, мезил), $-S(=O)_2CF_3$ (трифлил), $-S(=O)_2CH_2CH_3$ (эзил), $-S(=O)_2C_4F_9$ (нонафлил), $-S(=O)_2CH_2CF_3$ (трезил), $-S(=O)_2CH_2CH_2NH_2$ (таурил), $-S(=O)_2Ph$ (фенилсульфонил, безил), 4-метилфенилсульфонил (тозил), 4-хлорфенилсульфонил (хлозил), 4-бромфенилсульфонил (брозил), 4-нитрофенил (нозил), 2-нафталинсульфонат (напсил) и 5-диметиламинафталин-1-илсульфонат (дансил).

Сернистая кислота (сульфино): $-S(=O)OH$, $-SO_2H$.

Сульфокислота (сульфо): $-S(=O)_2OH$, $-SO_3H$.

Сульфат (сложный эфир сернистой кислоты): $-S(=O)OR$; где R представляет собой заместитель сульфатной группы, например C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры сульфатных групп включают, но не ограничиваются ими, $-S(=O)OCH_3$ (метоксисульфинил; метилсульфат) и $-S(=O)OCH_2CH_3$ (этоксисульфинил; этилсульфат).

Сульфонат (сложный эфир сульфокислоты): $-S(=O)_2OR$, где R представляет собой заместитель сульфонатной группы, например C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры сульфонатных групп включают, но не ограничиваются ими, $-S(=O)_2OCH_3$ (метоксисульфонил; метилсульфонат) и $-S(=O)_2OCH_2CH_3$ (этоксисульфонил; этилсульфонат).

Сульфинокси: $-OS(=O)R$, где R представляет собой заместитель сульфиноксигруппы, например C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно

C_{1-7} алкильную группу. Примеры сульфенилоксигрупп включают, но не ограничиваются ими, $-OS(=O)CH_3$ и $-OS(=O)CH_2CH_3$.

Сульфонилокси: $-OS(=O)_2R$, где R представляет собой заместитель сульфонилоксигруппы, например C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры сульфонилоксигрупп включают, но не ограничиваются ими, $-OS(=O)_2CH_3$ (мезилат) и $-OS(=O)_2CH_2CH_3$ (эзилат).

Сульфат: $-OS(=O)_2OR$; где R представляет собой заместитель сульфатной группы, например C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры сульфатных групп включают, но не ограничиваются ими, $-OS(=O)_2OCH_3$ и $-SO(=O)_2OCH_2CH_3$.

Сульфамил (сульфамоил; амид сернистой кислоты; сульфинамид): $-S(=O)NR^1R^2$, где R^1 и R^2 независимо представляют собой заместители аминогруппы, определенные для аминогрупп. Примеры сульфамильных групп включают, но не ограничиваются ими, $-S(=O)NH_2$, $-S(=O)NH(CH_3)$, $-S(=O)N(CH_3)_2$, $-S(=O)NH(CH_2CH_3)$, $-S(=O)N(CH_2CH_3)_2$ и $-S(=O)NPh$.

Сульфонамидо (сульфинамоил, амид сульфокислоты, сульфонамид): $-S(=O)_2NR^1R^2$, где R^1 и R^2 независимо представляют собой заместители аминогруппы, определенные для аминогрупп. Примеры сульфонамидных групп включают, но не ограничиваются ими, $-S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2NH(CH_3)$, $-S(=O)_2N(CH_3)_2$, $-S(=O)_2NH(CH_2CH_3)$, $-S(=O)_2N(CH_2CH_3)_2$ и $-S(=O)_2NPh$.

Сульфамино: $-NR^1S(=O)_2OH$, где R^1 представляет собой заместитель аминогруппы, определенный для аминогрупп. Примеры сульфаминогрупп включают, но не ограничиваются ими, $-NHS(=O)_2OH$ и $-N(CH_3)S(=O)_2OH$.

Сульфонамино: $-NR^1S(=O)_2R$, где R^1 представляет собой заместитель аминогруппы, определенный для аминогрупп, и R представляет собой заместитель сульфонаминогруппы, например C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры сульфонаминогрупп включают, но не ограничиваются ими, $-NHS(=O)_2CH_3$ и $-N(CH_3)S(=O)_2C_6H_5$.

Сульфинамино: $-NR^1S(=O)R$, где R^1 представляет собой заместитель аминогруппы, определенный для аминогрупп, и R представляет собой заместитель сульфинаминогруппы, например C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры сульфинаминогрупп включают, но не ограничиваются ими, $-NHS(=O)CH_3$ и $-N(CH_3)S(=O)C_6H_5$.

Фосфино (фосфин): $-PR_2$, где R представляет собой заместитель фосфиногруппы, например -H, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно -H, C_{1-7} алкильную группу или C_{5-20} арильную группу. Примеры фосфиновых групп включают, но не ограничиваются ими, $-PH_2$, $-P(CH_3)_2$, $-P(CH_2CH_3)_2$, $-P(t-Bu)_2$ и $-P(Ph)_2$.

Фосфо: $-P(=O)_2$.

Фосфинил (фосфиноксид): $-P(=O)R_2$, где R представляет собой заместитель фосфинила, например C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу или C_{5-20} арильную группу. Примеры фосфинильных групп включают, но не ограничиваются ими, $-P(=O)(CH_3)_2$, $-P(=O)(CH_2CH_3)_2$, $-P(=O)(t-Bu)_2$ и $-P(=O)(Ph)_2$.

Фосфовая кислота (фосфоно): $-P(=O)(OH)_2$.

Фосфонат (сложный эфир фосфоновой кислоты): $-P(=O)(OR)_2$, где R представляет собой заместитель фосфонатной группы, например -H, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно -H, C_{1-7} алкильную группу или C_{5-20} арильную группу. Примеры фосфонатных групп включают, но не ограничиваются ими, $-P(=O)(OCH_3)_2$, $-P(=O)(OCH_2CH_3)_2$, $-P(=O)(O-t-Bu)_2$ и $-P(=O)(OPh)_2$.

Фосфорная кислота (фосфонокси): $-OP(=O)(OH)_2$.

Фосфат (сложный эфир фосфонокси): $-OP(=O)(OR)_2$, где R представляет собой заместитель фосфатной группы, например -H, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно -H, C_{1-7} алкильную группу или C_{5-20} арильную группу. Примеры фосфатных групп включают, но не ограничиваются ими, $-OP(=O)(OCH_3)_2$, $-OP(=O)(OCH_2CH_3)_2$, $-OP(=O)(O-t-Bu)_2$ и $-OP(=O)(OPh)_2$.

Фосфористая кислота: $-OP(OH)_2$.

Фосфит: $-OP(OR)_2$, где R представляет собой заместитель фосфитной группы, например -H, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно -H, C_{1-7} алкильную группу или C_{5-20} арильную группу. Примеры фосфитных групп включают, но не ограничиваются ими, $-OP(OCH_3)_2$, $-OP(OCH_2CH_3)_2$, $-OP(O-t-Bu)_2$ и $-OP(OPh)_2$.

Фосфорамидит: $-OP(OR^1)NR^2$, где R^1 и R^2 представляют собой заместители фосфорамидитной группы, например -H, (возможно замещенную) C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно -H, C_{1-7} алкильную группу или C_{5-20} арильную группу. Примеры фосфорамидитных групп включают, но не ограничиваются ими, $-OP(OCH_2CH_3)N(CH_3)_2$, $-OP(OCH_2CH_3)N(i-Pr)_2$ и $-OP(OCH_2CH_2CN)N(i-Pr)_2$.

Фосфорамидат: $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OR}^1)\text{-NR}^2_2$, где R^1 и R^2 представляют собой заместители фосфорамидатной группы, например $-\text{H}$, (возможно замещенную) C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{5-20} арильную группу, предпочтительно $-\text{H}$, C_{1-7} алкильную группу или C_{5-20} арильную группу. Примеры фосфорамидатных групп включают, но не ограничиваются ими, $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_3)\text{-N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_3)\text{-N}(\text{i-Pr})_2$ и $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN})\text{-N}(\text{i-Pr})_2$.

Алкилен.

C_{3-7} алкилен: в настоящем описании термин " C_{3-7} алкилен" относится к бидентатному фрагменту, полученному в результате удаления двух атомов водорода, обоих от одного атома углерода или по одному от каждого из двух разных атомов углерода, в углеводороде, содержащем от 3 до 7 атомов углерода (если не указано иное), который может быть алифатическим или апициклическим и который может быть насыщенным, частично ненасыщенным или полностью ненасыщенным. Таким образом, термин "алкилен" включает такие подклассы, как алкенилен, алкинилен, циклоалкилен и т.д., описанные ниже.

Примеры линейных насыщенных C_{3-7} алкиленовых групп включают, но не ограничиваются ими, $-(\text{CH}_2)_n-$, где n представляет собой целое число от 3 до 7, например $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (пропилен), $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (бутилен), $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (пентилен) и $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (гептилен).

Примеры разветвленных насыщенных C_{3-7} алкиленовых групп включают, но не ограничиваются ими, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ и $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$.

Примеры линейных частично ненасыщенных C_{3-7} алкиленовых групп (C_{3-7} алкениленовых и алкиниленовых групп) включают, но не ограничиваются ими, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ и $-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_2-$.

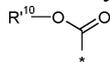
Примеры разветвленных частично ненасыщенных C_{3-7} алкиленовых групп (C_{3-7} алкениленовых и алкиниленовых групп) включают, но не ограничиваются ими, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-$, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ и $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}(\text{CH}_3)-$.

Примеры алициклических насыщенных C_{3-7} алкиленовых групп (C_{3-7} циклоалкиленов) включают, но не ограничиваются ими, циклопентилен (например, циклопент-1,3-илен) и циклогексилен (например, циклогекс-1,4-илен).

Примеры алициклических частично ненасыщенных C_{3-7} алкиленовых групп (C_{3-7} циклоалкиленов) включают, но не ограничиваются ими, циклопентенилен (например, 4-циклопентен-1,3-илен), циклогексенилен (например, 2-циклогексен-1,4-илен; 3-циклогексен-1,2-илен; 2,5-циклогексадиен-1,4-илен).

Защитные группы атома кислорода: термин "защитные группы атома кислорода" относится к фрагменту, который защищает гидроксигруппу, и такие группы хорошо известны в данной области техники. Большое число подходящих групп описано в Greene, T.W. и Wuts, G.M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Edition, John Wiley & Sons, Inc., 1999 на с. 23-100, содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки во всей полноте и для любых целей. Классы групп, представляющие наибольший интерес, включают простые силильные эфирные группы (например, триметилсилильную группу (TMS), трет-бутилдиметилсилильную группу (TBDMS)), замещенные простые метиловые эфирные группы (например, тетрагидропиранильную группу (THP)) и сложноэфирные группы (например, ацетатную).

Карбаматные защитные группы атома азота: термин "карбаматные защитные группы атома азота" относится к фрагменту, который защищает атом азота иминной связи, и такие группы хорошо известны в данной области техники. Указанные группы имеют следующую структуру:



где R^{10} представляет собой R, определенный выше. Большое число подходящих групп описано в Greene, T.W. и Wuts, G.M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Edition, John Wiley & Sons, Inc., 1999, на с. 503-549, содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки во всей полноте и для любых целей.

Гемиаминальные защитные группы атома азот: термин "гемиаминальные защитные группы атома азота" относится к группе, имеющей следующую структуру:



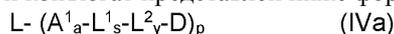
где R^{10} представляет собой R, определенный выше. Большое число подходящих групп описано в Greene, T.W. и Wuts, G.M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Edition, John Wiley & Sons, Inc., 1999, на с. 633-647, содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки во всей полноте и для любых целей.

Конъюгаты.

В настоящем изобретении предложены конъюгаты, содержащие димер PBD, связанный со звеном

лиганда через звено линкера. Согласно одному из вариантов реализации звено линкера включает удлиняющее звено (A), специфичное звено (L¹) и звено-спейсер (L²). Звено линкера связано одним концом со звеном лиганда (L) и другим концом - с димерным соединением PBD (D).

Согласно одному аспекту такой конъюгат представлен ниже формулой IVa



или его фармацевтически приемлемой солью или сольватом,
где

L представляет собой звено лиганда; и

-A¹a-L¹s-L²y- представляет собой звено линкера (LU), где

-A¹ представляет собой удлиняющее звено,

a представляет собой 1 или 2,

-L¹ представляет собой специфичное звено,

s представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 12,

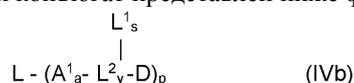
-L² представляет собой звено-спейсер,

y представляет собой 0, 1 или 2;

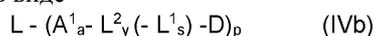
-D представляет собой димер PBD; и

p принимает значения от 1 до 20.

Согласно другому аспекту такой конъюгат представлен ниже формулой IVb



Также его можно представить в виде



или его фармацевтически приемлемой солью или сольватом
где

L представляет собой звено лиганда; и

-A¹a-L¹s(L²y)- представляет собой звено линкера (LU), где

-A¹ представляет собой удлиняющее звено, связанное с удлиняющим звеном (L²),

a представляет собой 1 или 2,

-L¹ представляет собой специфичное звено, связанное с удлиняющим звеном (L²),

s представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 12,

-L² представляет собой звено-спейсер,

y представляет собой 0, 1 или 2;

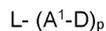
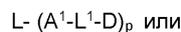
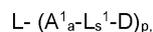
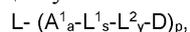
-D представляет собой димер PBD; и

p принимает значения от 1 до 20.

Предпочтительные варианты реализации изобретения.

Представленные ниже предпочтительные варианты реализации можно применять для всех аспектов настоящего изобретения, как описано выше, или они могут относиться к одному аспекту. Предпочтительные варианты реализации можно объединять в любых комбинациях.

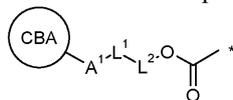
Согласно одному из вариантов реализации указанный конъюгат имеет формулу



или его фармацевтически приемлемая соль или сольват,

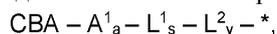
где L, A¹, a, L¹, s, L², D, y и p такие, как описано выше.

Согласно одному из вариантов реализации звено лиганда (L) представляет собой связывающийся с клетками агент (СВА), который специфично связывается с молекулой-мишенью на поверхности клетки-мишени. Ниже приведена формула соединения в качестве примера



где звездочка означает место присоединения к звену лекарственного соединения (D), СВА представляет собой связывающийся с клетками агент, L¹ представляет собой специфичное звено, A¹ представляет собой удлиняющее звено, соединяющее L¹ и связывающийся с клетками агент, L² представляет собой звено-спейсер, которое представляет собой ковалентную связь, саморасщепляющуюся группу, или совместно с -OC(=O) образует саморасщепляющуюся группу, при атом L² является необязательным. -OC(=O)- может рассматриваться как часть L¹ или L² при необходимости.

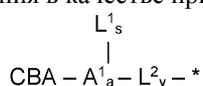
Согласно другому варианту реализации звено лиганда (L) представляет собой связывающийся с клетками агент (CBA), который специфично связывается с молекулой-мишенью на поверхности клетки-мишени. Ниже представлена формула соединения в качестве примера



где звездочка означает место присоединения к звену лекарственного соединения (D), CBA представляет собой связывающийся с клетками агент, L^1 представляет собой специфичное звено, A^1 представляет собой удлиняющее звено, соединяющее L^1 и связывающийся с клетками агент, L^2 представляет собой звено-спейсер, которое представляет собой ковалентную связь или саморасщепляющуюся группу, а представляет собой 1 или 2, s представляет собой 0, 1 или 2, и у представляет собой 0, 1 или 2.

Согласно вариантам реализации, проиллюстрированным выше, L^1 может представлять собой способное к расщеплению специфичное звено и может называться "триггер", который при расщеплении активирует саморасщепляющуюся группу (или саморасщепляющиеся группы) в L^2 , в случае если саморасщепляющаяся(иеся) группа(ы) присутствует(ют). Когда специфичное звено L^1 расщепляется или линкер (т.е. ковалентная связь) между L^1 и L^2 расщепляется, то саморасщепляющаяся группа высвобождает звено лекарственного соединения (D).

Согласно другому варианту реализации звено лиганда (L) представляет собой связывающийся с клетками агент (CBA), который специфично связывается с молекулой-мишенью на поверхности клетки-мишени. Ниже приведена формула соединения в качестве примера



где звездочка означает место присоединения к звену лекарственного соединения (D), CBA представляет собой связывающийся с клетками агент, L^1 представляет собой специфичное звено, связанное с L^2 , A^1 представляет собой удлиняющее звено, соединяющее L^2 и связывающийся с клетками агент, L^2 представляет собой саморасщепляющуюся группу, а представляет собой 1 или 2, s представляет собой 1 или 2, и у представляет собой 1 или 2.

Согласно различным вариантам реализации, описанным в настоящем документе, природа L^1 и L^2 может изменяться в широких пределах. Указанные группы выбирают с учетом их характеристик, которые могут частично определяться условиями в том месте, в которое доставляется конъюгат. Если специфичное звено L^1 способно к расщеплению, то структуру и/или последовательность L^1 выбирают таким образом, чтобы оно расщеплялось под действием ферментов, присутствующих в целевом участке (например, в клетке-мишени). Также можно применять звенья L^1 , которые способны расщепляться в результате изменений pH (например, фрагменты, лабильные к действию кислоты или основания), температуры или под действием облучения (например, фотолabile фрагменты). Звенья L^1 , способные расщепляться в восстановительных или окислительных условиях, также можно использовать в указанных конъюгатах.

Согласно некоторым вариантам реализации L^1 может содержать одну аминокислоту или непрерывную последовательность аминокислот. Последовательность аминокислот может представлять собой субстрат-мишень для фермента.

Согласно одному из вариантов реализации L^1 способен расщепляться под действием ферментов. Согласно одному из вариантов реализации фермент представляет собой астеразу или пептидазу. Например, L^1 может расщепляться лизосомной протеазой, такой как катепсин.

Согласно одному из вариантов реализации L^2 присутствует и совместно с $-C(=O)O-$ образует саморасщепляющуюся группу или саморасщепляющиеся группы. Согласно некоторым вариантам реализации $-C(=O)O-$ также представляет собой саморасщепляющуюся группу.

Согласно одному из вариантов реализации, где L^1 способен расщепляться под действием фермента, и L^2 присутствует, фермент расщепляет связь между L^1 и L^2 , в результате чего саморасщепляющаяся(иеся) группа(ы) высвобождает(ют) звено лекарственного соединения.

L^1 и L^2 , в случае если присутствуют, могут быть связаны с помощью связывающей группы, выбранной из

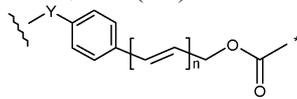
- C(=O)NH-,
- C(=O)O-,
- NHC(=O)-,
- OC(=O)-,
- OC(=O)O-,
- NHC(=O)O-,
- OC(=O)NH-,
- NHC(=O)NH и
- O- (гликозидная связь).

Аминогруппа в L^1 , которая связана с L^2 , может представлять собой N-конец аминокислоты или может быть получена из аминогруппы боковой цепи аминокислоты, например боковой цепи аминокислоты лизин.

Карбоксильная группа в L^1 , которая связана с L^2 , может представлять собой С-конец аминокислоты или может быть получена из карбоксильной группы боковой цепи аминокислоты, например боковой цепи аминокислоты глутаминовая кислота.

Гидроксигруппа в L^1 , которая связана с L^2 , может быть получена из гидроксигруппы боковой цепи аминокислоты, например боковой цепи аминокислоты серин.

Согласно одному из вариантов реализации $-C(=O)O-$ и L^2 вместе образуют группу



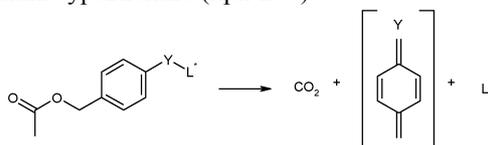
где звездочка означает место присоединения к звену лекарственного соединения, волнистая линия означает место присоединения к L^1 , Y представляет собой $-N(H)-$, $-O-$, $-C(=O)N(H)-$ или $-C(=O)O-$, и n принимает значения от 0 до 3. Фениленовое кольцо возможно замещено одним, двумя или тремя заместителями, описанными в настоящем документе.

Согласно одному из вариантов реализации Y представляет собой NH.

Согласно одному из вариантов реализации n принимает значение 0 или 1. Предпочтительно n принимает значение 0.

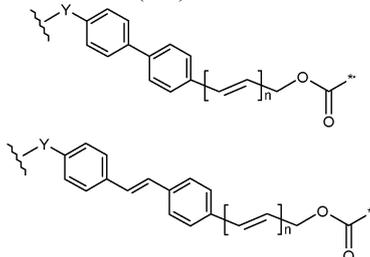
Если Y представляет собой NH, и n принимает значение 0, то саморасщепляющуюся группу можно назвать п-аминобензилкарбонильным линкером (PABC).

Саморасщепляющаяся группа обеспечивает высвобождение звена лекарственного соединения (т.е. несимметричного PBD), если активируется удаленный участок линкера, при этом разложение происходит согласно представленному ниже уравнению (при $n=0$)



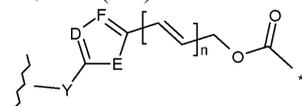
где звездочка означает место присоединения к звену лекарственного соединения, L^* представляет собой активированную форму остатка линкера, высвобожденное звено лекарственного соединения не показано. Указанные группы обладают преимуществом, заключающимся в отделении места активации от лекарственного соединения.

Согласно другому варианту реализации $-C(=O)O-$ и L^2 вместе образуют группу, выбранную из



где звездочка, волнистая линия, Y и n такие, как определено выше. Каждое фениленовое кольцо возможно замещено одним, двумя или тремя заместителями, описанными в настоящем документе. Согласно одному из вариантов реализации фениленовое кольцо, содержащее заместитель Y, является возможно замещенным, и фениленовое кольцо, не содержащее заместитель Y, является незамещенным.

Согласно другому варианту реализации $-C(=O)O-$ и L^2 вместе образуют группу, выбранную из



где звездочка, волнистая линия, Y и n такие, как определено выше, E представляет собой O, S или NR, D представляет собой N, CH или CR, а F представляет собой N, CH или CR.

Согласно одному из вариантов реализации D представляет собой N.

Согласно одному из вариантов реализации D представляет собой CH.

Согласно одному из вариантов реализации E представляет собой O или S.

Согласно одному из вариантов реализации F представляет собой CH.

Согласно предпочтительному варианту реализации ковалентная связь между L^1 и L^2 представляет собой связь, лабильную к действию катепсина (например, способную к расщеплению).

Согласно одному из вариантов реализации L^1 включает дипептид. Аминокислоты в дипептиде могут представлять собой любую комбинацию природных аминокислот и не природных аминокислот. Согласно некоторым вариантам реализации дипептид содержит природные аминокислоты. Если линкер представляет собой линкер, лабильный к действию катепсина, то дипептид представляет собой участок расщепления, опосредованного катепсином. Дипептид, таким образом, является участком распознавания

для катепсина.

Согласно одному из вариантов реализации группа $-X_1-X_2-$ в дипептиде, $-NH-X_1-X_2-CO-$, выбрана из

- Phe-Lys-,
- Val-Ala-,
- Val-Lys-,
- Ala-Lys-,
- Val-Cit-,
- Phe-Cit-,
- Leu-Cit-,
- Ile-Cit-,
- Phe-Arg- и
- Trp-Cit-;

где Cit представляет собой цитруллин. В указанном дипептиде $-NH-$ представляет собой аминогруппу в X_1 , а CO представляет собой карбонильную группу в X_2 .

Предпочтительно группа $-X_1-X_2-$ в дипептиде, $-NH-X_1-X_2-CO-$, выбрана из

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

Более предпочтительно группа $-X_1-X_2-$ в дипептиде, $-NH-X_1-X_2-CO-$, представляет собой -Phe-Lys-, Val-Cit или -Val-Ala-.

Другие требуемые комбинации аминокислот в дипептиде включают

- Gly-Gly-,
- Pro-Pro- и
- Val-Glu-.

Можно применять другие комбинации аминокислот в дипептиде, включая комбинации, описанные в публикации Dubowchik et al., содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки во всей полноте и для всех целей.

Согласно одному из вариантов реализации боковая цепь аминокислоты является химически защищенной, если это необходимо. Защитная группа боковой цепи может представлять собой группу, описанную ниже. Последовательности защищенных аминокислот способны расщепляться под действием ферментов. Например, последовательность аминокислот в дипептиде, содержащем остаток Lys с Восзащищенной боковой цепью, способна расщепляться под действием катепсина.

Защитные группы боковых цепей аминокислот хорошо известны в данной области техники и описаны в каталоге Novabiochem (Novabiochem Catalog). Дополнительные способы введения защитных групп представлены в Protective groups in Organic Synthesis, Greene и Wuts.

Ниже приведены возможные защитные группы боковых цепей аминокислот, имеющих реакционно-способные функциональные группы в боковых цепях

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

Согласно одному из вариантов реализации $-X_2-$ опосредованно связан со звеном лекарственного соединения. Согласно указанному варианту реализации звено-спейсер L^2 присутствует.

Согласно одному из вариантов реализации $-X_2-$ непосредственно связан со звеном лекарственного соединения. Согласно указанному варианту реализации звено-спейсер L^2 отсутствует.

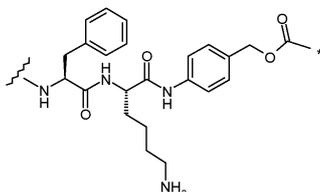
Согласно одному из вариантов реализации дипептид применяют в комбинации с саморасщепляющейся(имися) группой(ами) (звено-спейсер). Саморасщепляющаяся(иеся) группа(ы) может быть соединена с $-X_2-$.

Если саморасщепляющаяся группа присутствует, то $-X_2-$ связан непосредственно с саморасщепляющейся группой. Согласно одному из вариантов реализации $-X_2-$ связан с группой Y саморасщепляющейся группы. Предпочтительно группа $-X_2-CO-$ связана с Y, где Y представляет собой NH.

Согласно одному из вариантов реализации $-X_1-$ связан непосредственно с A^1 . Предпочтительно группа $-NH-X_1-$ (N-конец X_1) связана с A^1 . A^1 может содержать функциональную группу $-CO-$ и, тем са-

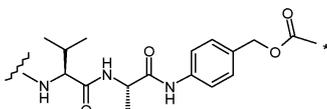
мым, образовывать амидную связь с $-X_1-$.

Согласно одному из вариантов реализации L^1 и L^2 , взятые совместно с $-OC(=O)-$, содержат группу $-X_1-X_2-PAVC-$. Группа PAVC связана непосредственно со звеном лекарственного соединения. В одном из примеров саморасщепляющаяся группа и дипептид вместе образуют группу $-Phe-Lys-PAVC-$, которая показана ниже



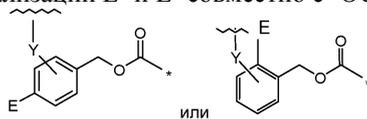
где звездочка означает место присоединения к звену лекарственного соединения, и волнистая линия означает место присоединения к остальной части L^1 или место присоединения к A^1 . Предпочтительно волнистая линия означает место присоединения к A^1 .

Альтернативно саморасщепляющаяся группа и дипептид вместе образуют группу $-Val-Ala-PAVC-$, которая показана ниже



где звездочка и волнистая линия такие, как определено выше.

Согласно другому варианту реализации L^1 и L^2 совместно с $-OC(=O)-$ представляют собой



где звездочка означает место присоединения к звену лекарственного соединения, волнистая линия означает место присоединения к A^1 , Y представляет собой ковалентную связь или функциональную группу, и E представляет собой группу, которая способна к расщеплению и, тем самым, активировать саморасщепляющуюся группу.

E выбирают таким образом, чтобы группа была способной к расщеплению, например, под действием света или фермента. E может представлять собой $-NO_2$ или глюкуроновую кислоту (например, β -глюкуроновую кислоту). Первая из указанных групп может быть чувствительна к действию нитроредуктазы, а последняя к действию β -глюкуронидазы.

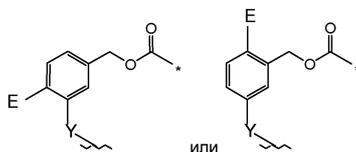
Группа Y может представлять собой ковалентную связь.

Группа Y может представлять собой функциональную группу, выбранную из

- $-C(=O)-$,
- $-NH-$,
- $-O-$,
- $-C(=O)NH-$,
- $-C(=O)O-$,
- $-NHC(=O)-$,
- $-OC(=O)-$,
- $-OC(=O)O-$,
- $-NHC(=O)O-$,
- $-OC(=O)NH-$,
- $-NHC(=O)NH-$,
- $-NHC(=O)NH-$,
- $-C(=O)NHC(=O)-$,
- SO_2 и
- $-S-$.

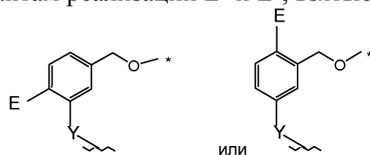
Группа Y предпочтительно представляет собой $-NH-$, $-CH_2-$, $-O-$ и $-S-$.

Согласно некоторым вариантам реализации L^1 и L^2 , взятые совместно с $-OC(=O)-$, представляют собой



где звездочка означает место присоединения к звену лекарственного соединения, волнистая линия означает место присоединения к A, Y представляет собой ковалентную связь или функциональную группу, и E представляет собой глюкуроновую кислоту (например, β -глюкуроновую кислоту). Y предпочтительно представляет собой функциональную группу, выбранную из $-NH-$.

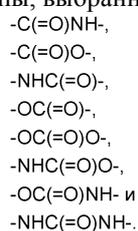
Согласно некоторым вариантам реализации L^1 и L^2 , взятые вместе, представляют собой



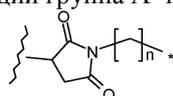
где звездочка означает место присоединения к остатку L^2 или звену лекарственного соединения, волнистая линия означает место присоединения к A^1 , Y представляет собой ковалентную связь или функциональную группу, и E представляет собой глюкуроновую кислоту (например, β -глюкуроновую кислоту). Y предпочтительно представляет собой функциональную группу, выбранную из $-NH-$, $-CH_2-$, $-O-$ и $-S-$.

Согласно некоторым дополнительным вариантам реализации Y представляет собой функциональную группу, предложенную выше, где функциональная группа связана с аминокислотой, и аминокислота связана с удлиняющим звеном A^1 . Согласно некоторым вариантам реализации аминокислота представляет собой β -аланин. Согласно указанному варианту реализации аминокислоту можно рассматривать в качестве эквивалента удлиняющего звена.

Специфичное звено L^1 и лиганд опосредованно связаны через удлиняющее звено. L^1 и A^1 могут быть связаны посредством связывающей группы, выбранной из

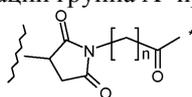


Согласно одному из вариантов реализации группа A^1 представляет собой



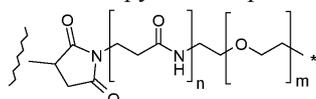
где звездочка означает место присоединения к L^1 , L^2 или D, волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда, и n принимает значения от 0 до 6. Согласно одному из вариантов реализации n принимает значение 5.

Согласно одному из вариантов реализации группа A^1 представляет собой



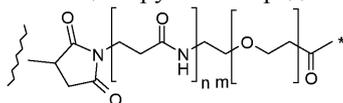
где звездочка означает место присоединения к L^1 , L^2 или D, волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда, и n принимает значения от 0 до 6. Согласно одному из вариантов реализации n принимает значение 5.

Согласно одному из вариантов реализации группа A^1 представляет собой



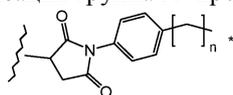
где звездочка означает место присоединения к L^1 , L^2 или D, волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда, n принимает значение 0 или 1, и m принимает значения от 0 до 30. Согласно предпочтительному варианту реализации n принимает значение 1, и m принимает значения от 0 до 10, от 1 до 8, предпочтительно от 4 до 8, более предпочтительно 4 или 8.

Согласно одному из вариантов реализации группа A^1 представляет собой



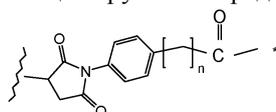
где звездочка означает место присоединения к L^1 , L^2 или D, волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда, n принимает значение 0 или 1, и m принимает значения от 0 до 30. Согласно предпочтительному варианту реализации n принимает значение 1, и m принимает значения от 0 до 10, от 1 до 8, предпочтительно от 4 до 8, более предпочтительно 4 или 8.

Согласно одному из вариантов реализации группа A^1 представляет собой



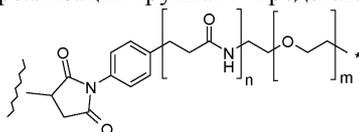
где звездочка означает место присоединения к L^1 , L^2 или D, волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда, и n принимает значения от 0 до 6. Согласно одному из вариантов реализации n принимает значение 5.

Согласно одному из вариантов реализации группа A^1 представляет собой



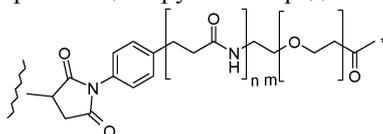
где звездочка означает место присоединения к L^1 , L^2 или D, волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда, и n принимает значения от 0 до 6. Согласно одному из вариантов реализации n принимает значение 5.

Согласно одному из вариантов реализации группа A^1 представляет собой



где звездочка означает место присоединения к L^1 , L^2 или D, волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда, n принимает значение 0 или 1, и m принимает значения от 0 до 30. Согласно предпочтительному варианту реализации n принимает значение 1, и m принимает значения от 0 до 10, от 1 до 8, предпочтительно от 4 до 8, более предпочтительно 4 или 8.

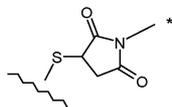
Согласно одному из вариантов реализации группа A^1 представляет собой



где звездочка означает место присоединения к L^1 , L^2 или D, волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда, n принимает значение 0 или 1, и m принимает значения от 0 до 30. Согласно предпочтительному варианту реализации n принимает значение 1, и m принимает значения от 0 до 10, от 1 до 8, предпочтительно от 4 до 8, более предпочтительно 4 или 8.

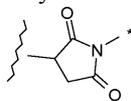
Согласно одному из вариантов реализации звено лиганда и A^1 связаны посредством тиольного остатка лиганда и малеимидной группы в A^1 .

Согласно одному из вариантов реализации звено лиганда и A^1 связаны посредством



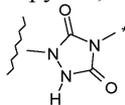
где звездочка означает место присоединения к остатку A^1 , L^1 , L^2 или D, а волнистая линия означает место присоединения к остатку звена лиганда. Согласно указанному варианту реализации атом S, как правило, получен от звена лиганда.

Согласно каждому из вариантов реализации, предложенных выше, можно применять альтернативную функциональную группу вместо группы, полученной из малеимида, показанной ниже



где волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда, как указано выше, и звездочка означает связь с остатком группы A^1 или с L^1 , L^2 или D.

Согласно одному из вариантов реализации группа, полученная из малеимида, замещена на группу



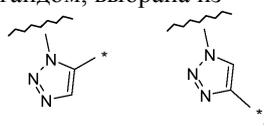
где волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда, и звездочка означает связь с остатком группы A^1 или с L^1 , L^2 или D.

Согласно одному из вариантов реализации группа, полученная из малеимида, замещена на группу, которая, возможно, взятая совместно со звеном лиганда (например, связывающегося с клетками агента), выбрана из

-C(=O)NH-,
 -C(=O)O-,
 -NHC(=O)-,
 -OC(=O)-,
 -OC(=O)O-,
 -NHC(=O)O-,
 -OC(=O)NH-,
 -NHC(=O)NH-,
 -NHC(=O)NH-,
 -C(=O)NHC(=O)-,
 -S-,
 -S-S-,
 -CH₂C(=O)-,
 -C(=O)CH₂-,
 =N-NH- и
 -NH-N=.

Из которых -C(=O)CH₂- может быть предпочтительной, особенно когда указанная карбонильная группа связана с -NH-.

Согласно одному из вариантов реализации группа, полученная из малеимида, замещена на группу, которая, возможно взятая совместно с лигандом, выбрана из



где волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда или связь с остатком группы A¹, и звездочка означает другое место присоединения к звену лиганда или связь с остатком группы A¹.

Другие группы, подходящие для связывания L¹ со связывающимся с клетками агентом, описаны в WO 2005/082023.

Согласно одному из вариантов реализации удлиняющее звено A¹ присутствует, специфичное звено L¹ присутствует, и звено-спейсер L² отсутствует. Таким образом, L¹ и звено лекарственного соединения напрямую соединены посредством связи, что эквивалентно тому, что согласно указанному варианту реализации L² представляет собой связь.

L¹ и D могут быть связаны при помощи связывающей группы, выбранной из

-C(=O)N<,
 -OC(=O)N<, и
 -NHC(=O)N<,

где N< является частью D.

Согласно одному из вариантов реализации L¹ и D предпочтительно соединены при помощи связи

-C(=O)N<.

Согласно одному из вариантов реализации L¹ содержит дипептид, и один из концов дипептида связан с D. Как описано выше, аминокислоты, входящие в состав дипептида, могут представлять собой любую комбинацию природных аминокислот и не природных аминокислот. Согласно некоторым вариантам реализации дипептид содержит природные аминокислоты. Если линкер представляет собой линкер, лабильный к действию катепсина, то дипептид представляет собой участок расщепления, опосредованный катепсином. Дипептид, таким образом, является участком распознавания для катепсина.

Согласно одному из вариантов реализации группа -X₁-X₂- в дипептиде, -NH-X₁-X₂-CO-, выбрана из

-Phe-Lys-,
 -Val-Ala-,
 -Val-Lys-,
 -Ala-Lys-,
 -Val-Cit-,
 -Phe-Cit-,
 -Leu-Cit-,
 -Ile-Cit-,
 -Phe-Arg- и
 -Trp-Cit-;

где Cit представляет собой цитруллин. В указанном дипептиде -NH- представляет собой аминокислотную группу в X₁, а CO представляет собой карбонильную группу в X₂.

Предпочтительно группа -X₁-X₂- в дипептиде, -NH-X₁-X₂-CO-, выбрана из

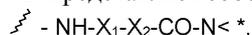
-Phe-Lys-,
 -Val-Ala-,
 -Val-Lys-,
 -Ala-Lys- и
 -Val-Cit-.

Более предпочтительно группа $-X_1-X_2-$ в дипептиде, $-NH-X_1-X_2-CO-$, представляет собой $-Phe-Lys-$ или $-Val-Ala-$.

Другие важные комбинации аминокислот в дипептиде включают

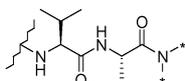
$-Gly-Gly-$,
 $-Pro-Pro-$ и
 $-Val-Glu-$.

Можно применять другие комбинации аминокислот в дипептиде, включая описанные выше. Согласно одному из вариантов реализации L^1-D представляет собой



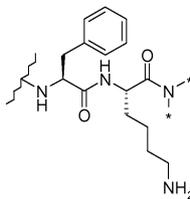
где $-NH-X_1-X_2-CO$ представляет собой дипептид, $N<$ является частью звена лекарственного соединения, звездочка означает места присоединения к остатку звена лекарственного соединения, и волнистая линия означает место присоединения к остатку L^1 или место присоединения к A^1 . Предпочтительно волнистая линия означает место присоединения к A^1 .

Согласно одному из вариантов реализации дипептид представляет собой валин-аланин, а L^1-D представляет собой



где звездочки, $-N<$ и волнистая линия такие, как определено выше.

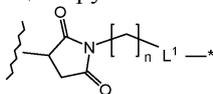
Согласно одному из вариантов реализации дипептид представляет собой фенилаланин-лизин, и L^1-D представляет собой



где звездочки, $-N<$ и волнистая линия такие, как определено выше.

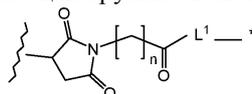
Согласно одному из вариантов реализации дипептид представляет собой валин-цитруллин.

Согласно одному из вариантов реализации группы A^1-L^1 представляют собой



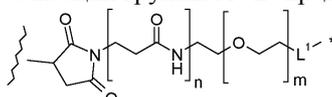
где звездочка означает место присоединения к L^2 или D , волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда, и n принимает значения от 0 до 6. Согласно одному из вариантов реализации n принимает значение 5.

Согласно одному из вариантов реализации группы A^1-L^1 представляют собой



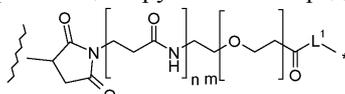
где звездочка означает место присоединения к L^2 или D , волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда, и n принимает значения от 0 до 6. Согласно одному из вариантов реализации n принимает значение 5.

Согласно одному из вариантов реализации группы A^1-L^1 представляют собой

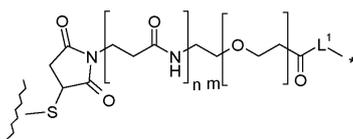


где звездочка означает место присоединения к L^2 или D , волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда, n принимает значение 0 или 1, и m принимает значения от 0 до 30. Согласно предпочтительному варианту реализации n принимает значение 1, и m принимает значения от 0 до 10, от 1 до 8, предпочтительно от 4 до 8, более предпочтительно 4 или 8.

Согласно одному из вариантов реализации группы A^1-L^1 представляют собой

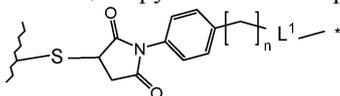


где звездочка означает место присоединения к L^2 или D , волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда, n принимает значение 0 или 1, и m принимает значения от 0 до 30. Согласно предпочтительному варианту реализации n принимает значение 1, и m принимает значения от 0 до 10, от 1 до 7, предпочтительно от 3 до 7, более предпочтительно 3 или 7.



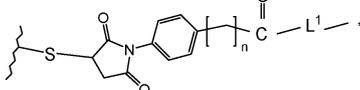
где звездочка означает место присоединения к L^2 или D, волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда, n принимает значение 0 или 1, и m принимает значения от 0 до 30. Согласно предпочтительному варианту реализации n принимает значение 1, и m принимает значения от 0 до 10, от 1 до 7, предпочтительно от 4 до 8, более предпочтительно 4 или 8.

Согласно одному из вариантов реализации группы $L-A^1-L^1$ представляют собой



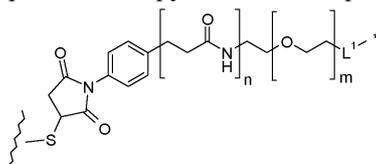
где звездочка означает место присоединения к L^2 или D, волнистая линия означает место присоединения к остатку звена лиганда, и n принимает значения от 0 до 6. Согласно одному из вариантов реализации n принимает значение 5.

Согласно одному из вариантов реализации группы $L-A^1-L^1$ представляют собой



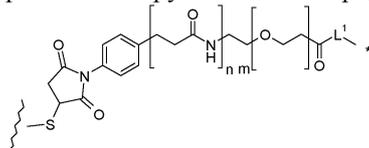
где звездочка означает место присоединения к L^2 или D, волнистая линия означает место присоединения к остатку лиганда, и n принимает значения от 0 до 6. Согласно одному из вариантов реализации n принимает значение 5.

Согласно одному из вариантов реализации группы $L-A^1-L^1$ представляют собой



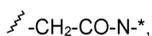
где звездочка означает место присоединения к L^2 или D, волнистая линия означает место присоединения к остатку звена лиганда, n принимает значение 0 или 1, и m принимает значения от 0 до 30. Согласно предпочтительному варианту реализации n принимает значение 1, и m принимает значение от 0 до 10, от 1 до 8, предпочтительно от 4 до 8, более предпочтительно 4 или 8.

Согласно одному из вариантов реализации группы $L-A^1-L^1$ представляют собой



где звездочка означает место присоединения к L^2 или D, волнистая линия означает место присоединения к остатку звена лиганда, n принимает значение 0 или 1, и m принимает значения от 0 до 30. Согласно предпочтительному варианту реализации n принимает значение 1, и m принимает значения от 0 до 10, от 1 до 8, предпочтительно от 4 до 8, более предпочтительно 4 или 8.

Согласно одному из вариантов реализации удлиняющее звено представляет собой ацетамидное звено, имеющее формулу

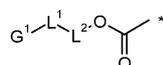


где звездочка означает место присоединения к остатку удлиняющего звена, L^1 или D, а волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда.

Линкер-лекарственное соединение.

Согласно другим вариантам реализации предложены лекарственные соединения, связанные с линкером, для конъюгации с лигандом. Согласно одному из вариантов реализации лекарственные соединения, связанные с линкером, предназначены для соединения со связывающимся с клетками агентом.

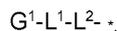
Согласно одному из вариантов реализации лекарственное соединение, связанное с линкером, имеет формулу



где звездочка означает место присоединения к звену лекарственного соединения, G^1 представляет собой удлиняющее звено (A^1) для образования связи со звеном лиганда, L^1 представляет собой специфичное звено, L^2 (звено-спейсер) представляет собой ковалентную связь или совместно с ---OC(=O)--- обра-

зует саморасщепляющуюся(иесь) группу(ы).

Согласно другому варианту реализации лекарственное соединение, связанное с линкером, имеет формулу



где звездочка означает место присоединения к звену лекарственного соединения, G^1 представляет собой удлиняющее звено (A^1) для образования связи со звеном лиганда, L^1 представляет собой специфическое звено, L^2 (звено-спейсер) представляет собой ковалентную связь или саморасщепляющуюся(иесь) группу(ы).

L^1 и L^2 являются такими, как определено выше. Выражение "связывание с A^1 " можно рассматривать в данном случае как связывание с G^1 .

Согласно одному из вариантов реализации, когда L^1 содержит аминокислоту, боковая цепь этой аминокислоты может быть защищена. Можно использовать любые подходящие защитные группы. Согласно одному из вариантов реализации защитные группы боковой цепи способны удаляться совместно с другими защитными группами, присутствующими в соединении. Согласно другим вариантам реализации защитные группы могут быть расположены ортогонально по отношению к другим защитным группам, присутствующим в молекуле.

Подходящие защитные группы боковых цепей аминокислот включают группы, описанные в каталоге Novabiochem 2006/2007 (Novabiochem Catalog 2006/2007). Защитные группы для линкера, лабильного к действию катепсина, также описаны в источнике Dubowchik et al.

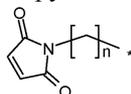
Согласно конкретным вариантам реализации группа L^1 включает остаток аминокислоты Lys. Боковая цепь этой аминокислоты может быть защищена при помощи Вос- или Аллос-защитных групп. Вос-защитная группа является более предпочтительной.

Функциональная группа G^1 образует связывающую группу в результате взаимодействия со звеном лиганда (например, со связывающимся с клетками агентом).

Согласно одному из вариантов реализации функциональная группа G^1 представляет собой или содержит аминокислоту, карбоновую кислоту, гидроксигруппу, тиольную или малеимидную группу для взаимодействия с соответствующей группой звена лиганда. Согласно предпочтительному варианту реализации G^1 содержит малеимидную группу.

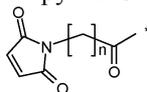
Согласно одному из вариантов реализации группа G^1 представляет собой алкилмалеимидную группу. Указанная группа подходит для взаимодействия с тиольными группами, в частности с тиольными группами цистеина, присутствующими в связывающемся с клетками агенте, например присутствующими в антителе.

Согласно одному из вариантов реализации группа G^1 представляет собой



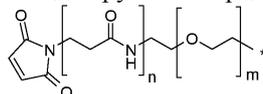
где звездочка означает место присоединения к L^1 , L^2 или D, и n принимает значения от 0 до 6. Согласно одному из вариантов реализации n принимает значение 5.

Согласно одному из вариантов реализации группа G^1 представляет собой



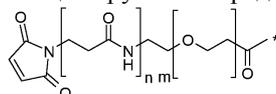
где звездочка означает место присоединения к L^1 , L^2 или D, и n принимает значения от 0 до 6. Согласно одному из вариантов реализации n принимает значение 5.

Согласно одному из вариантов реализации группа G^1 представляет собой



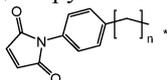
где звездочка означает место присоединения к L^1 , L^2 или D, n принимает значение 0 или 1, и m принимает значения от 0 до 30. Согласно предпочтительному варианту реализации n принимает значение 1, и m принимает значения от 0 до 10, от 1 до 2, предпочтительно от 4 до 8 и более предпочтительно 4 или 8.

Согласно одному из вариантов реализации группа G^1 представляет собой



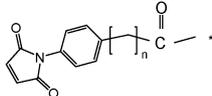
где звездочка означает место присоединения к L^1 , L^2 или D, n принимает значение 0 или 1, и m принимает значения от 0 до 30. Согласно предпочтительному варианту реализации n принимает значение 1, и m принимает значения от 0 до 10, от 1 до 8, предпочтительно от 4 до 8 и более предпочтительно 4 или 8.

Согласно одному из вариантов реализации группа G^1 представляет собой



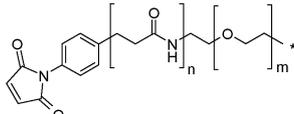
где звездочка означает место присоединения к L^1 , L^2 или D, и n принимает значения от 0 до 6. Согласно одному из вариантов реализации n принимает значение 5.

Согласно одному из вариантов реализации группа G^1 представляет собой



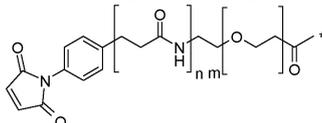
где звездочка означает место присоединения к L^1 , L^2 или D, и n принимает значения от 0 до 6. Согласно одному из вариантов реализации n принимает значение 5.

Согласно одному из вариантов реализации группа G^1 представляет собой



где звездочка означает место присоединения к L^1 , L^2 или D, n принимает значение 0 или 1, и m принимает значения от 0 до 30. Согласно предпочтительному варианту реализации n принимает значение 1, и m принимает значения от 0 до 10, от 1 до 2, предпочтительно от 4 до 8 и более предпочтительно 4 или 8.

Согласно одному из вариантов реализации группа G^1 представляет собой



где звездочка означает место присоединения к L^1 , L^2 или D, n принимает значение 0 или 1, и m принимает значения от 0 до 30. Согласно предпочтительному варианту реализации n принимает значение 1, и m принимает значения от 0 до 10, от 1 до 8, предпочтительно от 4 до 8 и более предпочтительно 4 или 8.

В каждом из указанных выше вариантов реализации можно использовать альтернативную функциональную группу вместо малеимидной группы, показанной ниже



где звездочка означает связь с остатком группы G.

Согласно одному из вариантов реализации группа, полученная из малеимида, замещена на группу



где звездочка означает связь с остатком группы G.

Согласно одному из вариантов реализации малеимидная группа замещена на группу, выбранную из

- C(=O)OH,
- OH,
- NH₂,
- SH,
- C(=O)CH₂X, где X представляет собой Cl, Br или I,
- CHO,
- NHNH₂,
- C≡CH и
- N₃ (азид).

Из которых -C(=O)CH₂X может быть предпочтительной, особенно когда указанная карбонильная группа связана с -NH-.

Согласно одному из вариантов реализации L^1 присутствует, и G^1 представляет собой -NH₂, -NHMe, -COOH, -OH или -SH.

Согласно одному из вариантов реализации, когда L^1 присутствует, G^1 представляет собой -NH₂ или NHMe. Каждая из групп может представлять собой N-конец последовательности аминокислот в L^1 .

Согласно одному из вариантов реализации L^1 присутствует, G^1 представляет собой -NH₂, и L^1 представляет собой последовательность аминокислот -X₁-X₂-, как определено выше.

Согласно одному из вариантов реализации L^1 присутствует, и G^1 представляет собой COOH. Эта группа может представлять собой C-конец последовательности аминокислот в L^1 .

Согласно одному из вариантов реализации L^1 присутствует, и G^1 представляет собой OH.

Согласно одному из вариантов реализации L^1 присутствует, и G^1 представляет собой SH.

Группа G^1 способна превращаться из одной функциональной группы в другую. Согласно одному из вариантов реализации L^1 присутствует, и G^1 представляет собой $-NH_2$. Указанная группа способна превращаться в другую группу G^1 , содержащую малеимидную группу. Например, группу $-NH_2$ можно подвергать взаимодействию с кислотами или активированной кислотой (например, с N-сукцинимидными формами кислот) тех групп G^1 , содержащих малеимидную группу, показанных выше.

Группу G^1 , таким образом, можно превращать в функциональную группу, которая больше подходит для взаимодействия со звеном лиганда.

Как отмечалось выше, согласно одному из вариантов реализации L^1 присутствует, а G^1 представляет собой $-NH_2$, $-NHMe$, $-COOH$, $-OH$ или $-SH$. В дополнительном варианте реализации указанные группы предложены в химически защищенной форме. Химически защищенная форма, таким образом, является предшественником линкера, который содержит функциональную группу.

Согласно одному из вариантов реализации G^1 представляет собой $-NH_2$ в химически защищенной форме. Указанная группа может быть защищена карбаматной защитной группой. Карбаматная защитная группа может быть выбрана из группы, состоящей из Alloc, Fmoc, Boc, Troc, Teoc, Cbz и PNZ.

Предпочтительно, если G^1 представляет собой $-NH_2$, то она защищена Alloc- или Fmoc-группой.

Согласно одному из вариантов реализации, если G^1 представляет собой $-NH_2$, то она защищена Fmoc-группой.

Согласно одному из вариантов реализации защитная группа является такой же, как и карбаматная защитная группа блокирующей (кэспирующей) группы.

Согласно одному из вариантов реализации защитная группа отличается от карбаматной защитной группы блокирующей группы. Согласно указанному варианту реализации предпочтительно, чтобы защитная группа была способна удаляться в условиях, при которых не происходит удаление карбаматной защитной группы блокирующей группы.

Химическую защитную группу можно удалять для получения функциональной группы, связывающейся со звеном лиганда. Указанная функциональная группа затем необязательно может быть превращена в другую функциональную группу, описанную выше.

Согласно одному из вариантов реализации активная группа представляет собой амин. Указанный амин предпочтительно представляет собой N-терминальный амин, входящий в состав пептида, а также может представлять собой N-терминальный амин, входящий в состав предпочтительных дипептидов согласно настоящему изобретению.

Активную группу можно подвергать взаимодействию с образованием функциональной группы, предназначенной для образования связи со звеном лиганда.

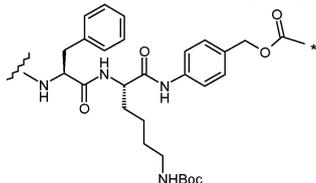
Согласно другим вариантам реализации линкер представляет собой предшественник линкера, содержащего активную группу. Согласно указанному варианту реализации линкер содержит активную группу, которая защищена с помощью защитной группы. Защитную группу можно удалить для получения линкера, содержащего активную группу.

Если активная группа представляет собой амин, то защитная группа может представлять собой защитную группу аминогруппы, например, описанную в источнике Green и Wuts.

Защитная группа предпочтительно расположена ортогонально по отношению к другим защитным группам, присутствующим в звене линкера.

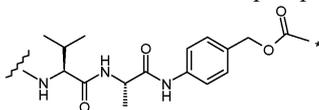
Согласно одному из вариантов реализации защитная группа расположена ортогонально к блокирующей группе. Таким образом, защитная группа активной группы способна удаляться с сохранением блокирующей группы. Согласно другим вариантам реализации защитная группа и блокирующая группа способна удаляться в тех же условиях, что и, например, условия для удаления блокирующей группы.

Согласно одному из вариантов реализации звено линкера представляет собой



где звездочка означает место присоединения к звену лекарственного соединения, и волнистая линия означает место присоединения к остатку звена линкера, если он присутствует, или место присоединения к G^1 . Предпочтительно волнистая линия означает место присоединения к G^1 .

Согласно одному из вариантов реализации звено линкера представляет собой



где звездочка и волнистая линия являются такими, как определено выше.

Другие функциональные группы, подходящие для применения для образования связи между L¹ и связывающимся с клетками агентом, описаны в WO 2005/082023.

Звено лиганда.

Звено лиганда может быть любым и включает белок, полипептид, пептид и непептидный агент, который специфично связывается с молекулой-мишенью. Согласно некоторым вариантам реализации звено лиганда может представлять собой белок, полипептид или пептид. Согласно некоторым вариантам реализации звено лиганда может представлять собой циклический полипептид. Указанные звенья лигандов могут включать антитела или фрагмент антитела, который содержит по меньшей мере один участок связывания с молекулой-мишенью, лимфокины, гормоны, факторы роста или любые другие связывающиеся с клетками молекулы или вещества, которые могут специфично связываться с мишенью. В настоящем документе звено лиганда также называют "связывающим агентом" или "нацеливающим агентом".

Термины "специфично связывается" и "специфичное связывание" относятся к связыванию антитела или другого белка, полипептида или пептида с целевой молекулой (например, с антигеном). Как правило, антитело или другая молекула связывается с аффинностью, составляющей по меньшей мере примерно $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$, при этом аффинность связывания с целевой молекулой по меньшей мере в два раза выше аффинности связывания с другими молекулами (например, БСА, казеина), отличными от целевой молекулы или родственной ей молекулы.

Примеры звеньев лигандов включают агенты, описанные для применения в документе WO 2007/085930, содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки во все полноте и для всех целей.

Согласно некоторым вариантам реализации звено лиганда представляет собой связывающийся с клетками агент, который связывается с внеклеточной мишенью на поверхности клетки. Указанный связывающийся с клетками агент может представлять собой белок, полипептид, пептид или непептидный агент. Согласно некоторым вариантам реализации связывающийся с клетками агент может представлять собой белок, полипептид или пептид. Согласно некоторым вариантам реализации связывающийся с клетками агент может представлять собой циклический полипептид. Связывающийся с клетками агент также может представлять собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела. Таким образом, согласно одному из вариантов реализации в настоящем изобретении предложен конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC).

Согласно одному из вариантов реализации антитело представляет собой моноклональное антитело, химерное антитело, гуманизованное антитело, полностью человеческое антитело или одноцепочечное антитело. Один из вариантов реализации антитела представляет собой фрагмент одного из представленных антител, имеющих биологическую активность. Примеры указанных фрагментов включают фрагменты Fab, Fab', F(ab')₂ и Fv.

Антитело может представлять собой диатело, доменное антитело (DAB) или одноцепочечное антитело.

Согласно одному из вариантов реализации антитело представляет собой моноклональное антитело.

Антитела для применения в настоящем изобретении включают антитела, описанные в документе WO 2005/082023, содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки во все полноте и для всех целей. Особенно предпочтительными являются антитела к опухолеассоциированным антигенам. Примеры указанных антигенов, известных в данной области техники, включают, но не ограничиваются ими, опухолеассоциированные антигены, представленные в WO 2005/082023 (см., например, с. 41-55).

Согласно некоторым вариантам реализации указанные конъюгаты предназначены для направленного действия на опухолевые клетки через антигены, расположенные на поверхности клетки. Антигены могут представлять собой антигены, расположенные на поверхности клетки, которые сверхэкспрессируются или экспрессируются с отклонениями по времени или атипичными клетками. Предпочтительно антиген-мишень экспрессируется только пролиферирующими клетками (предпочтительно опухолевыми клетками); тем не менее, это явление редко наблюдают на практике. В результате, антигены-мишени, как правило, выбирают на основании дифференциальной экспрессии между пролиферирующими и здоровыми тканями.

Были разработаны антитела для направленного действия на определенные опухолеассоциированные антигены, включая Crip1, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, гликопротеин NMB, CanAg, Her2 (ErbB2/Neu), CD56 (NCAM), CD70, CD79, CD138, PSCA, ПСМА (простатспецифический мембранный антиген) (PSMA), ВСМА, Е-селектин, EphB2, меланотрансферин (Melanotransferin), Muc16 и TMEFF2. Согласно любому из предложенных вариантов реализации в настоящем изобретении звено лиганда может представлять собой моноклональное антитело, которое специфически связывается с антигеном Сгур-то, антигеном CD19, антигеном CD20, антигеном CD22, антигеном CD30, антигеном CD33, гликопротеином NMB, антигеном CanAg, антигеном Her2 (ErbB2/Neu), антигеном CD56 (NCAM), CD70 антигеном, антигеном CD79, антигеном CD138, PSCA, PSMA (простатический специфический мембранный анти-

ген), ВСМА, Е-селектином, EphB2, меланотрансферинном, антигеном Muc16 или антигеном TMEFF2.

Звено лиганда связано с линкером. Согласно одному из вариантов реализации звено лиганда связано с А, входящим в состав звена линкера, если А присутствует.

Согласно одному из вариантов реализации звено лиганда связано со звеном линкера посредством простой тиоэфирной связи.

Согласно одному из вариантов реализации звено лиганда связано со звеном линкера посредством дисульфидной связи.

Согласно одному из вариантов реализации звено лиганда связано со звеном линкера посредством амидной связи.

Согласно одному из вариантов реализации звено лиганда связано со звеном линкера посредством сложноэфирной связи.

Согласно одному из вариантов реализации связывание звена лиганда и звена линкера осуществляется посредством связывания тиольной группы остатка цистеина в звене лиганда и малеимидной группы в звене линкера.

Остатки цистеина в звене лиганда могут быть доступны для взаимодействия с функциональными группами звена линкера для образования связи. Согласно другим вариантам реализации, например, когда звено лиганда представляет собой антитело, тиольные группы антитела могут участвовать в образовании межцепочечных дисульфидных связей. Указанные межцепочечные связи можно превращать в свободные тиольные группы, например, путем обработки антитела DTT до взаимодействия с функциональной группой звена линкера.

Согласно некоторым вариантам реализации остаток цистеина вводят в тяжелую или легкую цепь антитела. Положения ввода цистеина в результате реакции замещения в тяжелых или легких цепях антитела включают положения, описанные в публикации заявки US 2007/0092940 и публикации международной заявки WO 2008/070593, содержание которых включено в настоящее описание во всей полноте и для всех целей.

Способы лечения.

Соединения или конъюгаты согласно настоящему изобретению можно применять в способе терапии. Также предложен способ лечения, включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, терапевтически эффективного количества соединения формулы I или его конъюгата. Термин "терапевтически эффективное количество" означает количество, достаточное для достижения благоприятного действия для пациента. Указанное благоприятное действие может представлять собой, по меньшей мере, облегчение по меньшей мере одного симптома. Фактическое количество вводимого соединения, а также скорость и длительность введения будут зависеть от характера и степени тяжести состояния, подвергаемого лечению. Назначения для лечения, например выбор дозировки, входят в компетенцию врачей общей практики и других лечащих врачей.

Соединение или конъюгат можно вводить индивидуально или в комбинации с другими способами лечения, например одновременно или последовательно, в зависимости от состояния, подвергаемого лечению. Примеры способов лечения и терапий включают, но не ограничиваются ими, химиотерапию (введение активных агентов, включая, например, лекарственные средства), оперативное вмешательство и лучевую терапию.

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению и для применения согласно настоящему изобретению могут включать в дополнение к активному ингредиенту, т.е. к соединению формулы I или его конъюгату, фармацевтически приемлемый наполнитель, носитель, буфер, стабилизатор или другие вещества, хорошо известные специалистам в данной области техники. Указанные вещества должны быть нетоксичными и не должны снижать эффективность активного ингредиента. Конкретная природа носителя или другого вещества будет зависеть от способа введения, который может быть пероральным или представлять собой инъекцию, например, кожную, подкожную или внутривенную.

Фармацевтические композиции для перорального введения могут быть в форме таблеток, капсул, порошка или в жидкой форме. Таблетка может содержать твердый носитель или вспомогательное средство. Жидкие фармацевтические композиции, как правило, содержат жидкий носитель, такой как вода, минеральные, животные или растительные масла, минеральные или синтетические масла. В такую композицию может быть включен физиологический солевой раствор, раствор декстрозы или раствор другого сахара, или гликоли, такие как этиленгликоль, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль. Капсула может включать твердый носитель, такой как желатин.

В случае внутривенной, кожной или подкожной инъекции или инъекции в место поражения активный ингредиент должен находиться в форме водного раствора, подходящего для парентерального введения, который является апирогенным и имеет подходящие рН, изотоничность и стабильность. Специалисты в данной области техники смогут приготовить подходящие растворы с применением, например, изотонических разбавителей, таких как хлорид натрия для инъекций, раствор Рингера для инъекций, лактированный раствор Рингера для инъекций. Консерванты, стабилизаторы, буферы, антиоксиданты и/или другие добавки можно вводить при необходимости.

Соединения и конъюгаты можно применять для лечения пролиферативного заболевания и аутоим-

мунного заболевания. Термин "пролиферативное заболевание" относится к нежелательной или неконтролируемой клеточной пролиферации с избыточным содержанием клеток в организме или атипичных клеток, что представляет собой нежелательный процесс, например неопластический или гиперпластический рост *in vitro* или *in vivo*.

Примеры пролиферативных состояний включают, но не ограничиваются ими, доброкачественную, предопухолевую и злокачественную пролиферацию клеток, включая, но не ограничиваясь ими, неоплазмы и опухоли (например, гистиоцитому, глиому, астроцитому, остеому), раковые заболевания (например, рак легких, мелкоклеточный рак легких, рак желудочно-кишечного тракта, колоректальный рак, рак толстой кишки, карциному молочной железы, карциному яичников, рак простаты, рак яичек, рак печени, рак почек, рак мочевого пузыря, рак поджелудочной железы, рак мозга, саркому, остеосаркому, саркому Капоши, меланому), лейкозы, псориаз, заболевания костей, фибропролиферативные нарушения (например, соединительных тканей) и атеросклероз. Другие раковые заболевания, представляющие интерес, включают, но не ограничиваются ими, гематологические злокачественные опухоли, такие как лейкозы и лимфомы, например неходжкинскую лимфому и ее подтипы, такие как ДКВКЛ (диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома), лимфому маргинальной зоны, мантийной зоны и фолликулярную лимфому, лимфому Ходжкина, ОМЛ (острый миелобластный лейкоз) и другие раковые заболевания В- или Т-клеток.

Примеры аутоиммунных заболеваний включают следующие: ревматоидный артрит, аутоиммунные демиелинизирующие нарушения (например, рассеянный склероз, аллергический энцефаломиелит), псориаз, псориазический артрит, эндокринную офтальмопатию, увеоретинит, системную красную волчанку, тяжелую миастению, болезнь Грейвса, гломерулонефрит, аутоиммунные нарушения печени, воспалительное заболевание кишечника (например, болезнь Крона), анафилаксию, аллергические реакции, синдром Шегрена, сахарный диабет I типа, первичный билиарный цирроз, гранулематоз Вегенера, фибромиалгию, полимиозит, дерматомиозит, множественную эндокринную недостаточность, синдром Шмидта, аутоиммунный увеит, болезнь Аддисона, адреналит, тиреоидит, тиреоидит Хашимото, аутоиммунный тиреоидит, пернициозную анемию, атрофию желудка, хронический гепатит, волчаночный гепатит, атеросклероз, подострую кожную красную волчанку, гипопаратиреоз, синдром Дресслера, аутоиммунную тромбоцитопению, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру, гемолитическую анемию, вульгарную пузырчатку, пузырчатку, герпетический дерматит, алопецию Ареата, пемфигоид, склеродермию, прогрессирующий системный склероз, CREST-синдром (кальциноз, синдром Рейно, нарушение моторики пищевода, склеродактилия и телеангиэктазия), мужское и женское аутоиммунное бесплодие, анкилозирующий спондилит, язвенный колит, смешанное заболевание соединительной ткани, нодозный полиартериит, системный некротизирующий васкулит, атопический дерматит, атопический ринит, синдром Гудпасчера, болезнь Шагаса, саркоидоз, ревматическую лихорадку, астму, привычный выкидыш, антифосфолипидный синдром, "легкое фермера", мультиформную эритему, посткардиотомный синдром, синдром Кушинга, аутоиммунный хронический активный гепатит, "легкое птицевода", токсический эпидермальный некролиз, синдром Альпорта, альвеолит, аллергический альвеолит, фиброзный альвеолит, интерстициальное заболевание легких, нодозную эритему, гангренозную пиодермию, трансфузионную реакцию, артериит Такаясу, ревматоидную полимиалгию, темпоральный артериит, шистосомоз, гигантоклеточный артериит, аскариаз, аспергиллез, синдром Самптера, экзему, лимфоматоидный гранулематоз, болезнь Бехчета, синдром Каплана, болезнь Кавасаки, лихорадку денге, энцефаломиелит, эндокардит, фиброз эндокарда, эндофтальмит, стойкую возвышающуюся эритему, псориаз, эритробластоз плода, эозинофильный фасциит, синдром Шулмана, синдром Фелти, филяриоз, циклит, хронический циклит, гетерохромный циклит, циклит Фукса, нефропатию IgA, пурпуру Геноха-Шенлейна, реакцию "трансплантат против хозяина", отторжение трансплантата, кардиомиопатию, синдром Итона-Ламберта, рецидивирующий полихондрит, криоглобулинемию, макроглобулинемию Вальденстрема, синдром Эванса и аутоиммунную гонадную недостаточность.

Согласно некоторым вариантам реализации аутоиммунное заболевание представляет собой нарушение, связанное с В лимфоцитами (например, системную красную волчанку, синдром Гудпасчера, ревматоидный артрит и диабет I типа), Th1-лимфоцитами (например, ревматоидный артрит, рассеянный склероз, псориаз, синдром Шегрена, тиреоидит Хашимото, болезнь Грейвса, первичный билиарный цирроз, гранулематоз Вегенера, туберкулез или заболевание "трансплантат против хозяина") или Th2-лимфоцитами (например, атопический дерматит, системную красную волчанку, атопическую астму, риноконъюнктивит, аллергический ринит, синдром Оменна, системный склероз или хроническое заболевание "трансплантат против хозяина"). В целом, нарушения, связанные с дендритными клетками, включают нарушения, связанные с Th1-лимфоцитами и Th2-лимфоцитами. Согласно некоторым вариантам реализации аутоиммунное нарушение представляет собой нарушение иммунной системы, опосредованное Т-клетками.

Согласно некоторым вариантам реализации количество вводимого конъюгата находится в диапазоне от примерно 0,01 до примерно 10 мг/кг на дозу. Согласно некоторым вариантам реализации количество вводимого конъюгата находится в диапазоне от примерно 0,01 до примерно 5 мг/кг на дозу. Согласно некоторым вариантам реализации количество вводимого конъюгата находится в диапазоне от примерно

0,05 до примерно 5 мг/кг на дозу. Согласно некоторым вариантам реализации количество вводимого конъюгата находится в диапазоне от примерно 0,1 до примерно 5 мг/кг на дозу. Согласно некоторым вариантам реализации количество вводимого конъюгата находится в диапазоне от примерно 0,1 до примерно 4 мг/кг на дозу. Согласно некоторым вариантам реализации количество вводимого конъюгата находится в диапазоне от примерно 0,05 до примерно 3 мг/кг на дозу. Согласно некоторым вариантам реализации количество вводимого конъюгата находится в диапазоне от примерно 0,1 до примерно 3 мг/кг на дозу. Согласно некоторым вариантам реализации количество вводимого конъюгата находится в диапазоне от примерно 0,1 до примерно 2 мг/кг на дозу.

Другие формы.

Если не указано иное, предложенные выше заместители включают хорошо известные ионные формы, соли, сольваты и защищенные формы указанных заместителей. Например, ссылка на карбоновую кислоту (-COOH) также включает анионную (карбоксилатную) форму (-COO⁻), соль или сольват кислоты, а также традиционные защищенные формы. Аналогично, ссылка на аминогруппу включает протонированную форму (-N⁺HR¹R²), соль или сольват аминогруппы, например гидрохлоридную соль, а также традиционные защищенные формы аминогруппы. Аналогично, ссылка на гидроксильную группу также включает анионную форму (-O⁻), соль или сольват указанной группы, а также традиционные защищенные формы.

Соли.

Могут быть удобными или желательными получение, очистка и/или обращение с соответствующей солью активного соединения (конъюгата), например фармацевтически приемлемой солью. Примеры фармацевтически приемлемых солей описаны в Berge, et al., J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977).

Например, если соединение является анионным или содержит функциональную группу, которая может быть анионной (например, -COOH может представлять собой -COO⁻), в данном случае возможно образование соли с подходящим катионом. Примеры подходящих неорганических катионов включают, но не ограничиваются ими, ионы щелочных металлов, такие как Na⁺ и K⁺, катионы щелочноземельных металлов, такие как Ca²⁺ и Mg²⁺, и другие катионы, такие как Al³⁺. Примеры подходящих органических катионов включают, но не ограничиваются ими, ион аммония (NH₄⁺) и замещенные ионы аммония (например, NH₃R⁺, NH₂R₂⁺, NHR₃⁺, NR₄⁺). Примерами некоторых подходящих замещенных ионов аммония являются ионы, полученные из этиламина, диэтиламина, дициклогексиламина, триэтиламина, бутиламина, этилендиамина, этаноламина, диэтанолламина, пиперазина, бензиламина, фенилбензиламина, холина, меглумина и трометамина, а также из аминокислот, таких как лизин и аргинин. Примером распространенного четвертичного иона аммония является N(CH₃)₄⁺.

Если соединение является катионным или содержит функциональную группу, которая может быть катионной (например, -NH₂ может представлять собой -NH₃⁺), тогда возможно образование соли с подходящим анионом. Примеры подходящих неорганических анионов включают, но не ограничиваются ими, анионы, полученные из следующих неорганических кислот: хлороводородной, бромоводородной, йодоводородной, серной, сернистой, азотной, азотистой, фосфорной и фосфористой.

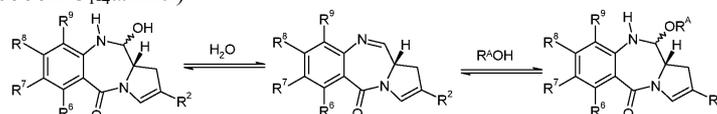
Примеры подходящих органических анионов включают, но не ограничиваются ими, анионы, полученные из следующих органических кислот: 2-ацетилоксибензойной, уксусной, аскорбиновой, аспарагиновой, бензойной, камфорсульфокислоты, коричной, лимонной, этилендиаминтетрауксусной, этандисульфокислоты, этансульфокислоты, фумаровой, глюкогептоновой, глюконовой, глутаминовой, гликолевой, гидроксималеиновой, гидроксинафталинкарбоновой, изетионовой, молочной, лактобионовой, лауриновой, малеиновой, яблочной, метансульфокислоты, муциновой, олеиновой, щавелевой, пальмитиновой, памовой, пантотеновой, фенилуксусной, фенилсульфокислоты, пропионовой, виноградной, салициловой, стеариновой, янтарной, сульфаниловой, винной, толуолсульфокислоты и валериановой. Примеры подходящих полимерных органических анионов включают, но не ограничиваются ими, анионы, полученные из следующих полимерных кислот: дубильной кислоты, карбоксиметилцеллюлозы.

Сольваты.

Могут быть удобными или желательными получение, очистка и/или обращение с соответствующим сольватом активного соединения. Термин "сольват" используют в настоящем изобретении в общепринятом значении для обозначения комплекса растворенного вещества (например, активного соединения, соли активного соединения) и растворителя. Если растворитель представляет собой воду, то сольват обычно называют гидратом, например моногидратом, дигидратом, тригидратом и т.д.

Карбиноламины.

Изобретение включает соединения, в которых присоединение растворителя проходит по иминной связи фрагмента PBD, что показано ниже, где растворитель представляет собой воду или спирт (R^AOH, где R^A представляет собой C₁₋₄алкил)



Указанные формы можно назвать карбиноламинной и простой эфирной карбиноламинной формой

PBD. Равновесие в указанных реакциях зависит от условий, в которых находятся соединения, а также от природы самого фрагмента.

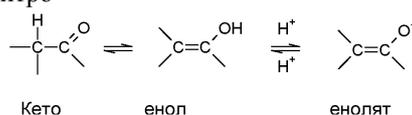
Указанные конкретные соединения можно выделить в твердом виде, например, путем лиофилизации.

Изомеры.

Конкретные соединения могут существовать в одной или более конкретных геометрических, оптических, энантиомерных, диастереомерных, эпимерных, атропоизмерных, стереоизомерных, таутомерных, конформационных или аномерных формах, включая, но не ограничиваясь ими, цис- и трансформы; E- и Z-формы; с-, t- и г-формы; эндо- и экзо-формы; R-, S- и мезоформы; D- и L-формы; d- и l-формы; (+)- и (-)-формы; кето-, -енольные и -енолятные формы; син- и антиформы; синклиальные и антиклиальные формы; α - и β -формы; аксиальные и экваториальные формы; конформации "ванна", "кресло", "твист", "конверт" и "полукресло"; а также их комбинации, которые далее в целом называют "изомерами" (или "изомерными формами").

Необходимо отметить, что за исключением описанного ниже для таутомерных форм, из термина "изомеры", используемого в настоящем документе, специально исключены структурные (или конституционные) изомеры (т.е. изомеры, имеющие различные связи между атомами, а не только различное положение атомов в пространстве). Например, ссылку на метокси группу $-\text{OCH}_3$ не следует рассматривать как ссылку на ее структурный изомер, гидроксиметильную группу $-\text{CH}_2\text{OH}$. Аналогично, ссылку на орто-хлорфенил не следует рассматривать как ссылку на его структурный изомер, метаклорфенил. Тем не менее, ссылка на класс структур вполне может включать структурные изомерные формы, входящие в указанный класс (например, C_{1-7} алкил включает n-пропил и изопропил; бутил включает n-, изо-, втор- и трет-бутил; метоксифенил включает орто-, мета- и параметоксифенил).

Указанное выше исключение не относится к таутомерным формам, например кето-, -енольным и -енолятным формам, как, например, в случае следующих таутомерных пар: кето/енол (показано ниже), имин/енамин, амид/иминоспирт, амидин/амидин, нитрозо/оксим, тиокетон/ентиол, N-нитрозо/гидроксиазо и нитро/ацинитро



Следует отметить, что в термин "изомер" специально включены соединения с замещением одного или более атомов изотопами. Например, H может представлять собой любой изотоп, включая ^1H , ^2H (D) и ^3H (T); C может представлять собой любой изотоп, включая ^{12}C , ^{13}C и ^{14}C ; O может представлять собой любой изотоп, включая ^{16}O и ^{18}O ; и т.п.

Если не указано иное, ссылка на конкретное соединение включает все указанные изомерные формы, включая (полностью или частично) рацемические и другие смеси. Способы получения (например, асимметрический синтез) и разделения (например, фракционная кристаллизация и хроматографические методы) указанных изомерных форм или известны из уровня техники, или легкодоступны за счет известной адаптации известным образом способов, описанных в настоящем документе, или известных способов.

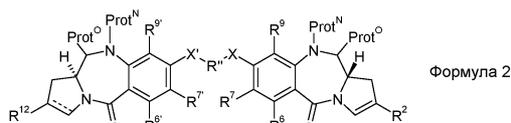
Общие способы синтеза.

Синтез соединений PBD широко представлен в следующих источниках, содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки во всей полноте и для всех целей:

- WO 00/12508 (с.14-30);
- WO 2005/023814 (с.3-10);
- WO 2004/043963 (с.28 и 29) и
- WO 2005/085251 (с.30-39).

Способ синтеза.

Конъюгаты согласно настоящему изобретению, где R^{10} и R^{11} образуют двойную азотуглеродную связь между атомами азота и углерода, к которым они присоединены, можно синтезировать из соединения формулы 2

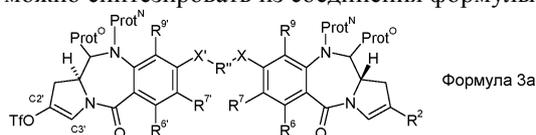


где R^2 , R^6 , R^7 , R^9 , R^6 , R^7 , R^9 , R^{12} , X , X^1 и R^{11} являются такими, как определено для соединений формулы I, Prot^{N} представляет собой защитную группу атома азота для проведения синтеза, и Prot^{O} представляет собой защищенную кислородсодержащую группу для проведения синтеза или оксогруппу, путем снятия защиты иминной связи при помощи стандартных методов.

Получаемое соединение может быть в карбиноламинной форме или простой эфирной карбиноламинной форме в зависимости от используемых растворителей. Например, если Prot^{N} представляет собой Troc, а Prot^{O} представляет собой защитную группу атома кислорода для проведения синтеза, то снятие

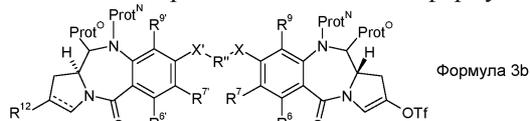
защиты проводят с применением пары Cd/Pb с получением соединения формулы (I). Если Prot^N представляет собой SEM или аналогичную группу, и Prot^O представляет собой оксогруппу, тогда оксогруппу можно удалить путем восстановления, которое приводит к образованию промежуточного защищенного карбиноламина, который затем можно обработать для удаления SEM-защитной группы, с последующим удалением воды. Восстановление соединения формулы 2 можно проводить, например, при помощи супергидрида или тетраборгидрида лития, в то же время подходящим способом удаления SEM-защитной группы является обработка силикагелем.

Соединения формулы 2 можно синтезировать из соединения формулы 3a



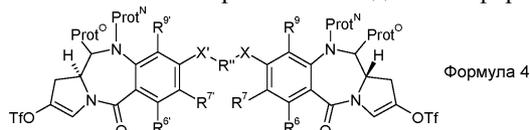
где R², R⁶, R⁷, R⁹, R^{6'}, R^{7'}, R^{9'}, X, X' и R'' являются такими, как определено для соединений формулы 2, путем сочетания с металлорганическим производным, содержащим R¹², например с борорганическим производным. Борорганическое производное может представлять собой боронат или бороновую кислоту.

Соединения формулы 2 можно синтезировать из соединения формулы 3b



где R¹², R⁶, R⁷, R⁹, R^{6'}, R^{7'}, R^{9'}, X, X' и R'' являются такими, как определено для соединений формулы 2, путем сочетания с металлорганическим производным, содержащим R², например с борорганическим производным. Борорганическое производное может представлять собой боронат или бороновую кислоту.

Соединения формул 3a и 3b можно синтезировать из соединения формулы 4



где R², R⁶, R⁷, R⁹, R^{6'}, R^{7'}, R^{9'}, X, X' и R'' являются такими, как определено для соединений формулы 2, путем сочетания примерно с одним эквивалентом (например, от 0,9 или 1 до 1,1 или 1,2) металлорганического производного, например борорганического производного, содержащего R² или R¹².

Сочетание, описанное выше, как правило, проводят в присутствии палладиевого катализатора, например Pd(PPh₃)₄, Pd(OCOCH₃)₂, PdCl₂ или Pd₂(dba)₃. Реакцию сочетания можно проводить в обычных условиях, но также можно проводить в условиях микроволнового излучения.

Две стадии реакции сочетания, как правило, проводят последовательно. Их можно проводить с проведением или без проведения очистки между двумя стадиями. Если очистку не проводят, то две стадии можно проводить в одном реакционном сосуде. Проведение очистки обычно требуется после второй стадии реакции сочетания. Очистку соединения от нежелательных побочных продуктов можно проводить путем колоночной хроматографии или ион-обменного разделения.

Синтез соединений формулы 4, где Prot^O представляет собой оксогруппу, а Prot^N представляет собой SEM, подробно описан в документе WO 00/12508, содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки во всей полноте и для всех целей. В частности, в настоящем описании приведена ссылка на схему 7 на с.24, где предложенное выше соединение обозначено как промежуточное вещество P. Этот способ синтеза также описан в WO 2004/043963, содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки во всей полноте и для всех целей. Дополнительную ссылку можно делать на синтез соединений 8a и 8b в WO 2010/043880 (с.36-45), содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки во всей полноте и для всех целей.

Синтез соединений формулы 4, где Prot^O представляет собой защищенную кислородсодержащую группу, описан в документе WO 2005/085251, в котором описан синтез, включенный в настоящее описание посредством ссылки.

Соединения формулы I, где R¹⁰ и R^{10'} представляют собой H, и R¹¹ и R^{11'} представляют собой SO₂M, можно синтезировать из соединений формулы I, где R¹⁰ и R¹¹ образуют двойную азот-углеродную связь между атомами азота и углерода, к которым они присоединены, путем присоединения подходящей бисульфитной соли или сульфатной соли и последующей стадии соответствующей очистки. Дополнительные способы описаны в документе GB 2053894, содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки.

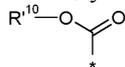
Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, в частности, R¹² содержит заместитель, представляющий собой OH или CO₂H, в указанных выше способах может понадобиться добавление металлорганического производного R¹², в котором замещающая группа защищена. Например, если R¹² содержит CO₂H, может быть предпочтительным присоединение соединения, в котором карбоксигруппа защищена в виде сложной эфирной группы (например, C₁₋₄алкиловый сложный эфир) и затем снятие за-

щиты с указанной карбоксигруппы на поздней стадии синтеза. Защита может быть снята с помощью добавленной части линкерной группы для получения линкера лекарственного соединения. Заместитель OH можно защитить с помощью фенольных защитных групп, известных в данной области техники.

Защитные группы атома азота для проведения синтеза.

Защитные группы азота для проведения синтеза хорошо известны в данной области техники. В настоящем изобретении особенно важны карбаматные защитные группы азота и гемиаминальные защитные группы азота.

Карбаматные защитные группы азота имеют следующую структуру:



где R¹⁰ представляет собой R, определенный выше. Большое число подходящих групп описано в Greene, T.W. и Wuts, G.M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Edition, John Wiley & Sons, Inc., 1999, с. 503-549, содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки.

Особенно предпочтительные защитные группы включают Troc, Teoc, Fmoc, Boc, Doc, Hoc, TcBoc, 1-Adoc и 2-Adoc.

Другими возможными группами являются нитробензилоксикарбонил (например, 4-нитробензилоксикарбонил) и 2-(фенилсульфонил)этоксикарбонил.

Защитные группы, которые можно удалить с помощью палладиевого катализа, например Alloc, не являются предпочтительными.

Гемиаминальные защитные группы азота имеют следующую структуру:



где R¹⁰ представляет собой R, определенный выше. Большое число подходящих групп описано в качестве защитных групп амидной группы в Greene, T.W. и Wuts, G.M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Edition, John Wiley & Sons, Inc., 1999, на с. 633-647, содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки. Группы, описанные в настоящем документе, можно применять для соединений для применения согласно настоящему изобретению. Указанные группы включают, но не ограничиваются ими, SEM, MOM, MTM, MEM, BOM, нитро- или метоксизамещенный BOM и Cl₃CCN₂OCH₂-.

Защищенные группы кислорода для проведения синтеза.

Защищенные группы кислорода для проведения синтеза хорошо известны в данной области техники. Большое число подходящих защитных групп кислорода описано в Greene, T.W. и Wuts, G.M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Edition, John Wiley & Sons, Inc., 1999, на с. 23-200, содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки во всей полноте и для всех целей.

Особенно важные классы таких групп включают простые силильные эфиры, простые метиловые эфиры, простые алкильные эфиры, простые бензиловые эфиры, сложные эфиры, ацетаты, бензоаты, карбонаты и сульфаты.

Предпочтительные защитные группы атома кислорода включают ацетаты, TBS и THP.

Синтез конъюгатов лекарственного вещества.

Конъюгаты, содержащие димеры PBD, описанные в настоящем документе, могут быть получены с использованием знаний специалиста в данной области техники в комбинации с приведенным в настоящем документе описанием. Например, линкеры описаны в патентах США №№ 6214345 и 7498298, а также WO 2009/0117531, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки во всей полноте и для всех целей. Другие линкеры могут быть получены согласно ссылкам, приведенным в настоящем документе, или методом, известным специалисту в данной области техники.

Лекарственные соединения, связанные с линкером, могут быть получены согласно способам, известным в данной области техники, в комбинации с приведенным в настоящем документе описанием. Например, связывание заместителей X на основе аминов (звено лекарственного соединения димера PDB) с активными группами звеньев линкера можно осуществить согласно способам, в целом, описанным в патентах США №№ 6214345 и 7498298 и WO 2009-0117531, а также известны специалисту в данной области техники. Некоторые примеры приведены ниже.

Антитела могут быть конъюгированы с лекарственными соединениями, связанными с линкером, как описано в Doronina et al., *Nature Biotechnology*, 2003, 21, 778-784. Вкратце, антитела (4-5 мг/мл) в PBS, содержащем 50 нМ бората натрия при pH 7,4 восстанавливают гидрохлоридом трис(карбоксиэтил)фосфина (ТСЕП) при 37°C. Протекание реакции, в результате которой восстанавливаются межпочечные дисульфиды, контролируют путем взаимодействия с 5,5'-дитиобис-(2-нитробензойной кислотой) и оставляют до достижения требуемого уровня тиолов/mAb. Затем восстановленное антитело охлаждают до 0°C и алкилируют 1,5 экв. малеимидного лекарственного соединения, связанного с линкером, на тиол антитела. Через 1 ч реакцию гасят путем добавления 5 экв. N-ацетилцистеина. Гашеное лекарственное соединение, связанное с линкером, удаляют с помощью фильтрации в геле через колонку PD-10. Затем ADC стерильно фильтровали через 0,22 мкм шприцевой

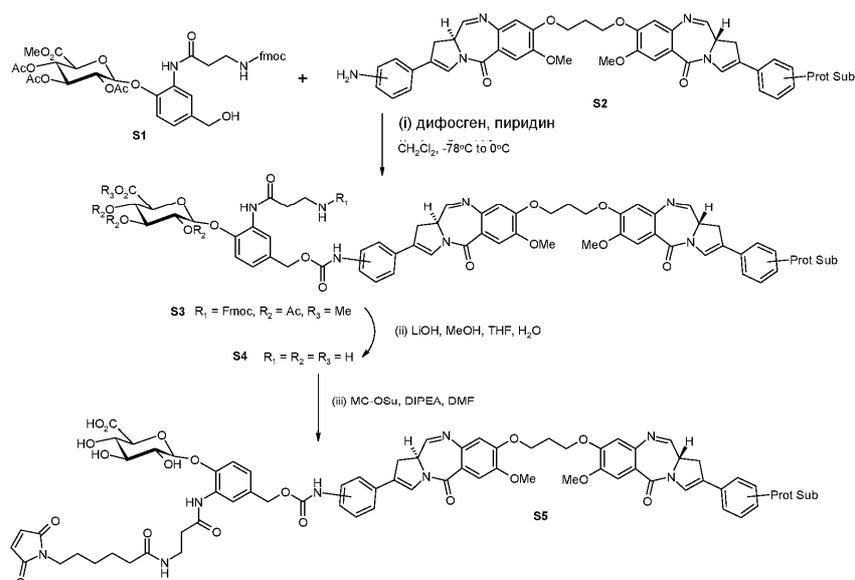
фильтр. Концентрация белка может быть определена с помощью спектрального анализа при 280 и 329 нм соответственно с поправкой на поглощение лекарственного соединения при 280 нм. Эксклюзионную хроматографию можно использовать для определения чрезмерной агрегации антител, и RP-ВЭЖХ (обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография) можно использовать для определения содержания оставшегося NAC-гашеного лекарственного соединения, связанного с линкером.

Антитела с введенными остатками цистеина можно конъюгировать с соединениями линкер-лекарственное соединение как описано в международной публикации на патент WO 2008/070593, содержание которой включено в настоящее описание посредством ссылки во всей полноте и для всех целей. Антитела, содержащие введенный остаток цистеина в основной цепи, полностью восстанавливают путем добавления 10 экв. TCEP и 1 mM ЭДТА и доводя pH до 7,4 с помощью 1 M Трис-буфера (pH 9,0). После 1 ч инкубации при 37°C реакционную смесь охлаждают до 22°C и добавляют 30 экв. дегидроаскорбиновой кислоты для селективного повторного окисления исходных дисульфидов, сохраняя введенный цистеин в восстановленном состоянии. pH доводят до 6,5 с помощью 1 M Трис буфера (pH 3,7) и реакцию оставляют протекать в течение 1 ч при 22°C. Затем pH раствора опять повышают до 7,4 путем добавления 1 M Трис буфера (pH 9,0). 3,5 экв. линкера лекарственного соединения PBD в ДМСО помещают в подходящий контейнер для разбавления пропиленгликолем до добавления к реакционной смеси. Для сохранения растворимости линкера лекарственного соединения PBD само антитело сначала разбавляют пропиленгликолем до конечной концентрации 33% (например, если раствор антитела имел реакционный объем 60 мл, добавляют 30 мл пропиленгликоля). Такой же объем пропиленгликоля (30 мл в данном примере) добавляют к линкеру лекарственного соединения PBD в качестве разбавителя. После перемешивания раствор линкера лекарственного соединения PBD в пропиленгликоле добавляют к раствору антитела для проведения конъюгации; конечная концентрация пропиленгликоля составляла 50%. Реакцию оставляют протекать в течение 30 мин и затем гасят путем добавления 5 экв. N-ацетилцистеина. ADC очищают с помощью ультрафильтрации через 30 kD мембрану (следует отметить, что концентрацию пропиленгликоля, используемого в реакции, можно уменьшить для любого конкретного PBD, поскольку он только решает проблему сохранения растворимости линкера лекарственного соединения в водной среде).

Для соединений линкер-лекарственное соединение на основе галогенацетамида конъюгацию можно проводить в целом следующим образом. К раствору восстановленных и повторно окисленных антител (содержащих введенные цистеины в основную цепь) в 10 mM Трис (pH 7,4), 50 mM NaCl и 2 mM DTPA добавляют 0,5 объемов пропиленгликоля. 10 mM раствор соединения линкер-лекарственное соединение на основе галогенацетамида в диметилацетамиде получают непосредственно перед конъюгацией. Эквивалентное количество пропиленгликоля, добавленного к раствору антитела, добавляют к 6-кратному молярному избытку соединения линкер-лекарственное соединение. Разбавленный раствор линкер-лекарственное соединение добавляют к раствору антитела и pH доводят до 8-8,5 с использованием 1 M Трис (pH 9). Реакцию конъюгации проводят в течение 45 мин при 37°C. Конъюгацию контролируют по восстановлению и денатурированию обращенно-фазовой PLRP-S хроматографии. Избыток соединения линкер-лекарственное соединение удаляют с помощью смолы Quadrasil MP и буфер заменяют на 10 mM Трис (pH 7,4), 50 mM NaCl и 5% пропиленгликоля с использованием колонки для обессоливания PD-10.

Примеры схем синтеза линкеров лекарственного соединения.

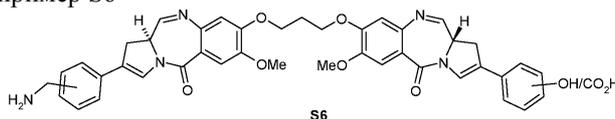
Следующие схемы являются иллюстративными способами синтеза линкеров лекарственного соединения - димер PBD показан с конкретными заместителями и димерными связями, однако они могут варьироваться с рамках объема настоящего изобретения.



где Prot Sub относится либо к OH, либо CO₂H фенильным замещающим группам или их защищенным версиям. Защиту можно установить посредством реакций, проводимых для введения связывающего звена, и можно снимать в ходе синтеза, когда это необходимо. Согласно некоторым вариантам реализации защиту устанавливают на стадии (i), но удаляют либо до, либо после стадии (ii). Согласно другим вариантам реализации устанавливают на стадии (i), но удаляют после стадии (iii).

Промежуточное вещество глюкоронидного линкера S1 (ссылка: Jeffrey et al., Bioconjugate Chemistry, 2006, 17, 831-840) можно обработать дифосгеном в дихлорметане при -78°C с получением хлорформиата глюкоронида, который затем подвергают взаимодействию с димером PBD S2, растворенным в CH₂Cl₂ путем добавления по каплям. Нагревание реакционной смеси до 0°C в течение 2 ч с последующей экстракцией приводит к получению соединения S3. Обработка раствора S3 в соответствующей смеси растворителей MeOH, тетрагидрофурана и воды (охлажденной до 0°C) моногидратом гидроксида лития в течение 4 ч с последующим взаимодействием с ледяной уксусной кислотой приводит к получению соединения S4. Добавление сложного эфира малеимидакапроила и NHS к раствору S4 в ДМФА с последующим добавлением диизопропилэтиламина и перемешиваем при комнатной температуре в атмосфере азота в течение 2 ч приводит к получению требуемого линкера лекарственного соединения S5.

Данный подход можно также использовать с димерами PBD, содержащими алифатические амины, такие как бензиламин, например S6



Способы по примерам 2 и 3 можно использовать для большого количества димеров PBD согласно настоящему изобретению для введения пептидных линкеров.

Дополнительные предпочтительные варианты реализации.

Предложенные ниже предпочтительные варианты реализации можно применять ко всем аспектам изобретения, описанным выше, или они могут относиться к одному аспекту. Предпочтительные варианты реализации можно объединять в любой комбинации.

Согласно некоторым вариантам реализации R⁶, R⁷, R⁹, R¹⁰, R¹¹ и Y' предпочтительно являются такими же, как R⁶, R⁷, R⁹, R¹⁰, R¹¹ и Y соответственно.

Линкер в димере.

Y и Y' предпочтительно представляют собой O.

R'' предпочтительно представляет собой C₃-алкиленовую группу, не содержащую заместителей. Более предпочтительно R'' представляет собой C₃, C₅ или C₇ алкилен. Более предпочтительно R'' представляет собой C₃ или C₅ алкилен.

R⁶-R⁹.

R⁹ предпочтительно представляет собой H.

R⁶ предпочтительно выбран из H, OH, OR, SH, NH₂, нитрогруппы и галогена, более предпочтительно из H или галогена и более предпочтительно представляет собой H.

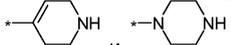
R⁷ предпочтительно выбран из H, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR' и галогена и более предпочтительно независимо выбран из H, OH и OR, где R предпочтительно выбран из необязательно замещенных C₁₋₇-алкильной, C₃₋₁₀-гетероциклической и C₅₋₁₀-арильной групп. Более предпочтительно R может представлять собой C₁₋₄-алкильную группу, которая может быть замещенной или незамещенной. Заместитель,

представляющий интерес, представляет собой $C_{5,6}$ арильную группу (например, фенил). Особенно предпочтительными заместителями в положении 7 являются OMe и OCH_2Ph . Другие важные заместители представляют собой диметиламино (т.е. $-NMe_2$); $-(OC_2H_4)_qOMe$, где q составляет от 0 до 2; азотсодержащие C_6 гетероциклы, в том числе морфолино, пиперидинил и N-метилпиперазинил.

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

R^2 .

А в R^2 может представлять собой фенильную группу или $C_{5,7}$ гетероарильную группу, например фуранил, тиофенил и пиридил. Согласно некоторым вариантам реализации А предпочтительно представляет собой фенил. Согласно другим вариантам реализации А предпочтительно представляет собой тиофенил, например тиофен-2-ил и тиофен-3-ил.

Х представляет собой группу, выбранную из NHR^N , где R^N выбран из группы, включающей Н и C_{1-4} алкил, . Согласно некоторым вариантам реализации Х может предпочтительно представлять собой NHR^N . Х может предпочтительно представлять собой NHMe, NHEt и NH_2 и может более предпочтительно представлять собой NH_2 .

Q^2 -Х может быть на любом из доступных атомов в кольце $C_{5,7}$ арильной группы, но предпочтительно на атоме в кольце, который не расположен рядом со связью с остатком соединения, т.е. предпочтительно находится в β - или γ -положении относительно связи с остатком соединения. Следовательно, когда $C_{5,7}$ арильная группа (А) представляет собой фенил, заместитель (Q^2 -Х), то заместитель предпочтительно находится в мета- или пара-положении и более предпочтительно в пара-положении.

Согласно некоторым вариантам реализации Q^1 представляет собой одинарную связь. Согласно указанным вариантам реализации Q^2 выбран из одинарной связи и $-Z-(CH_2)_n-$, где Z выбран из одинарной связи, O, S и NH и составляет от 1 до 3. Согласно некоторым вариантам реализации Q^2 представляет собой одинарную связь. Согласно другим вариантам реализации Q^2 представляет собой $-Z-(CH_2)_n-$. Согласно указанным вариантам реализации Z может представлять собой O или S и n может представлять собой 1 или n может представлять собой 2. Согласно другим указанным вариантам реализации Z может представлять собой одинарную связь и n может представлять собой 1.

Согласно другим вариантам реализации Q^1 представляет собой $-CH=CH-$.

Согласно некоторым вариантам реализации R^2 может представлять собой $-A-CH_2-X$ и $-A-X$.

Согласно указанным вариантам реализации Х может предпочтительно представлять собой NH_2 .

R^{12} .

R^{12} может представлять собой $C_{5,7}$ арильную группу. $C_{5,7}$ арильная группа может представлять собой фенильную группу или $C_{5,7}$ гетероарильную группу, например фуранил, тиофенил и пиридил. Согласно некоторым вариантам реализации R^{12} предпочтительно представляет собой фенил. Согласно другим вариантам реализации R^{12} предпочтительно представляет собой тиофенил, например тиофен-2-ил и тиофен-3-ил.

R^{12} может представлять собой C_{8-10} арил, например хинолинильную или изохинолинильную группу. Хинолинильная или изохинолинильная группа может быть связана с ядром PBD через любой доступный атом кольца. Например, хинолинил может представлять собой хинолин-2-ил, хинолин-3-ил, хинолин-4-ил, хинолин-5-ил, хинолин-6-ил, хинолин-7-ил и хинолин-8-ил. Среди указанных групп хинолин-3-ил и хинолин-6-ил могут быть предпочтительными. Изохинолинил может представлять собой изохинолин-1-ил, изохинолин-3-ил, изохинолин-4-ил, изохинолин-5-ил, изохинолин-6-ил, изохинолин-7-ил и изохинолин-8-ил. Среди указанных групп изохинолин-3-ил и изохинолин-6-ил могут быть предпочтительными.

R^{12} содержит заместитель, выбранный из OH, CO_2H , CO_2R^O , где R^O выбран из C_{1-4} алкила. Указанный заместитель может быть в любом положении.

Когда R^{12} представляет собой $C_{5,7}$ арильную группу, то единственный заместитель предпочтительно расположен у атома кольца, который не расположен рядом со связью с остатком соединения, т.е. предпочтительно находится в β - или γ -положении относительно связи с остатком соединения. Таким образом, если $C_{5,7}$ арильная группа представляет собой фенил, то заместитель предпочтительно находится в мета- или пара-положении и более предпочтительно в пара-положении.

Когда R^{12} представляет собой C_{8-10} арильную группу, например хинолинил или изохинолинил, он может содержать любое число заместителей в любом положении хинолинового или изохинолинового колец. R^O предпочтительно выбран из C_{1-2} алкила, т.е. метила и этила.

Группы R^{12} .

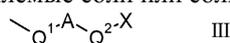
Особенно предпочтительные замещенные группы R^{12} включают, но не ограничиваются ими, 4-гидроксифенил, 3-гидроксифенил, 4-карбоксифенил, 3-карбоксифенил, 4-метилоксикарбонилфенил, 3-метилоксикарбонилфенил, 4-этилоксикарбонилфенил и 4-этилоксикарбонилфенил.

М и z.

Предпочтительно М и М' представляют собой одновалентные фармацевтически приемлемые катионы и более предпочтительно Na^+ .

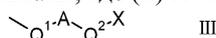
z предпочтительно представляет собой 3.

Соответственно соединения согласно настоящему изобретению включают, например, соединения формулы I или их фармацевтически приемлемые соли или сольваты, где (i) R² имеет формулу III



где A представляет собой фенильную группу, X представляет собой NHR^N, где R^N выбран из группы, включающей H и C₁₋₄насыщенный алкил, Q¹ представляет собой одинарную связь, и остальные заместители такие, как описано в настоящем документе.

Соединения согласно настоящему изобретению включают, например, соединения формулы I или их фармацевтически приемлемые соли или сольваты, где (ii) R² имеет формулу III



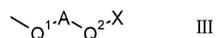
где A представляет собой фенильную группу, X представляет собой NHR^N, где R^N выбран из группы, включающей H и C₁₋₄насыщенный алкил, Q¹ представляет собой одинарную связь, Q² выбран из одинарной связи и -Z-(CH₂)_n-, где Z выбран из одинарной связи и n составляет от 1 до 3; и остальные заместители такие, как описано в настоящем документе.

(iii) Соединения согласно настоящему изобретению включают, например, соединения формулы I или их фармацевтически приемлемые соли или сольваты, где R¹² представляет собой фенильную группу, замещенную группой, выбранной из CO₂H, CO₂R^O, где R^O выбран из насыщенного C₁₋₄алкила; и остальные заместители такие, как описано в настоящем документе.

(iv) Соединения согласно настоящему изобретению включают, например, соединения формулы I или их фармацевтически приемлемые соли или сольваты, где R¹² представляет собой фенильную группу, замещенную группой, выбранной из CO₂H, CO₂R^O, где R^O выбран из метила или этила; и остальные заместители такие, как описано в настоящем документе.

(v) Соединения согласно настоящему изобретению включают, например, соединения формулы I или их фармацевтически приемлемые соли или сольваты, где

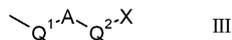
R² имеет формулу III



где A представляет собой фенильную группу, X представляет собой NHR^N, где R^N выбран из группы, включающей H и C₁₋₄насыщенный алкил, Q¹ представляет собой одинарную связь, Q² выбран из одинарной связи и -Z-(CH₂)_n-, где Z выбран из одинарной связи и n составляет от 1 до 3; R¹² представляет собой фенильную группу, замещенную группой, выбранной из OH, CO₂H, CO₂R^O, где R^O выбран из C₁₋₄насыщенного алкила; и остальные заместители такие, как описано в настоящем документе.

(vi) Соединения согласно настоящему изобретению включают, например, соединения формулы I или их фармацевтически приемлемые соли или сольваты, где

R² имеет формулу III



где A представляет собой фенильную группу, X представляет собой NHR^N, где R^N выбран из группы, включающей H и C₁₋₄насыщенный алкил, Q¹ представляет собой одинарную связь, Q² выбран из одинарной связи и -Z-(CH₂)_n-, где Z выбран из одинарной связи и n составляет от 1 до 3; R¹² представляет собой фенильную группу, замещенную группой, выбранной из CO₂H, CO₂R^O, где R^O выбран из метила или этила; и остальные заместители такие, как описано в настоящем документе.

Предпочтительные соединения согласно настоящему изобретению включают любое их описанных соединений (i)-(vi), где:

(a) замещающая группа на R¹² находится в мета- или пара- положении и более предпочтительно в пара- положении,

(b) Y и Y' представляют собой O,

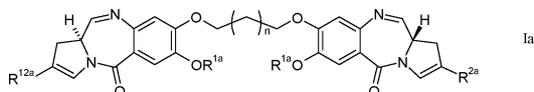
(c) Rⁿ представляет собой -(CH₂)- (CH₂)-(CH₂)- или -(CH₂)- (CH₂)-(CH₂)-(CH₂)-(CH₂)-,

(d) R¹⁰ и R¹¹ образуют связь азот-углерод между атомами азота и углерода, к которым они присоединены, и R¹⁰ и R¹¹ образуют связь азот-углерод между атомами азота и углерода, к которым они присоединены,

(e) R⁷ представляют собой метокси или этокси и R⁷ представляют собой метокси или этокси, или

(f) R⁶, R⁹, R^{6'} и R^{9'} представляют собой водород, или любая комбинация (a)-(f).

Особенно предпочтительными соединениями согласно настоящему изобретению являются соединения формулы Ia

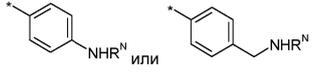


или его фармацевтически приемлемые соли или сольваты, где

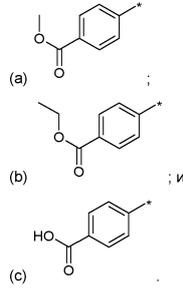
n принимает значение 1 или 3;

R^{1a} представляет собой метил или фенил;

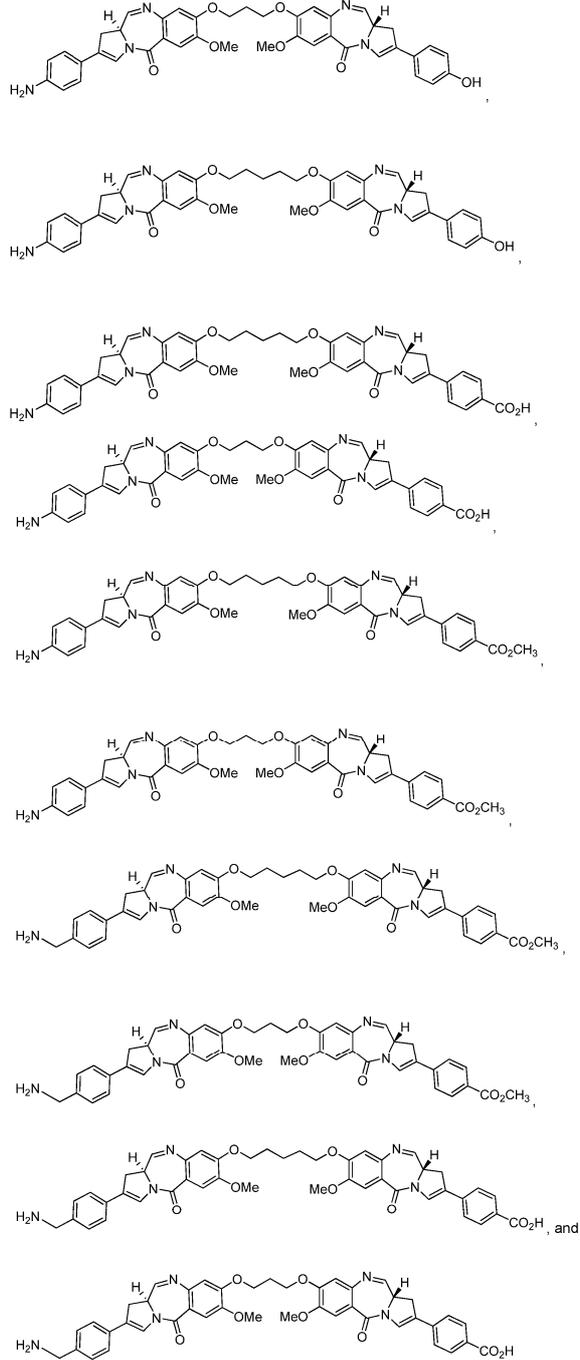
R^{2a} представляет собой



где R^N выбран из H и метила;
 R^{12a} выбран из



Особенно предпочтительные соединения включают



или их фармацевтически приемлемые соли или сольваты.
 3-й аспект.

Предпочтительные варианты, указанные выше для первого аспекта, можно применять по отношению к соединениям данного аспекта в соответствующих случаях.

Когда R¹⁰ представляет собой карбаматную защитную группу азота, он может предпочтительно представлять собой Теос, Fmoc и Tmoc и более предпочтительно представлять собой Tmoc.

Когда R¹¹ представляет собой O-Prot^O, где Prot^O представляет собой защитную группу кислорода, Prot^O может предпочтительно представлять собой TBS или THP и более предпочтительно представлять собой TBS.

Когда R¹⁰ представляет собой гемиаминальную защитную группу азота, он может предпочтительно представлять собой MOM, BOM или SEM и более предпочтительно представлять собой SEM.

Предпочтительные варианты для соединения формулы I применимы в соответствующих случаях к D в шестом аспекте изобретения. Например, в шестом аспекте димер PBD представляет собой любое из соединений формулы I или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, описанное в настоящем

документе, за исключением того, что  заменен ,  заменен , и  заменен , где волнистая линия означает место присоединения к звену линкера.

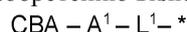
Соответственно конъюгаты согласно настоящему изобретению включают конъюгаты, имеющие следующую формулу (IV)



или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, где L представляет собой звено лиганда (т.е. нацеливающий агент), LU представляет собой звено линкера и димер PBD D представляет собой любое соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, описанные в на-

стоящем документе, за исключением того, что  заменен ,  заменен , и  заменен , где волнистая линия означает место присоединения к звену линкера.

(a) Конъюгаты согласно настоящему изобретению включают, например, конъюгаты формулы



где звездочка означает место присоединения к димеру PBD (D) или звену-спейсеру, CBA представляет собой связывающийся с клетками агент, L¹ представляет собой специфичное звено, расщепляемое под действием фермента, и A¹ представляет собой удлиняющее звено, соединяющее L¹ и связывающийся с клетками агент.

(b) Конъюгаты согласно настоящему изобретению включают, например, конъюгаты формулы



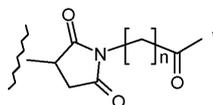
где звездочка означает место присоединения к димеру PBD (D), CBA представляет собой связывающийся с клетками агент, L¹ и A¹ представляют собой удлиняющее звено, соединяющее лекарственное соединение и связывающийся с клетками агент.

(c) Конъюгаты согласно настоящему изобретению включают, например, конъюгаты формулы



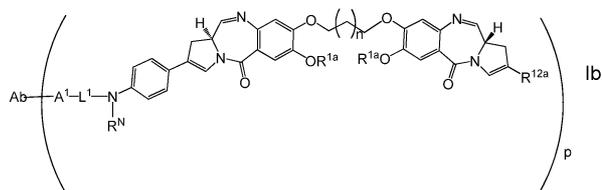
где звездочка означает место присоединения к димеру PBD (D), CBA представляет собой связывающийся с клетками агент, A¹ представляет собой удлиняющее звено, соединяющее L¹ и связывающийся с клетками агент, и L¹ представляет собой специфичное звено, расщепляемое под действием катепсина, L¹ представляет собой дипептид, L¹ представляет собой дипептид, расщепляемый под действием катепсина, или L¹ представляет собой дипептид, выбранный из -Phe-Lys-, -Val-Ala-, -Val-Lys-, -Ala-Lys- и -Val-Cit-.

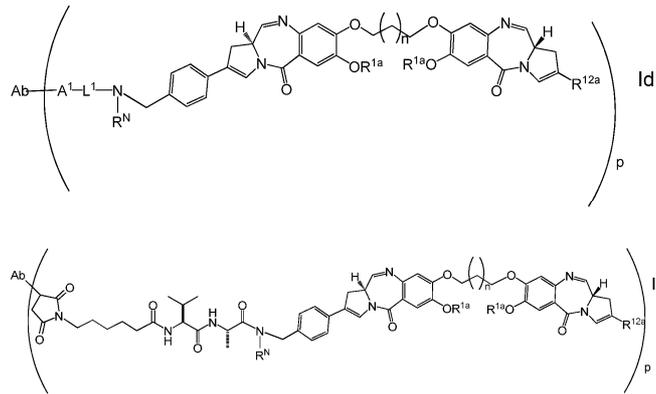
Предпочтительные конъюгаты согласно настоящему изобретению включают любые из описанных в (a)-(c), где A¹ представляет собой



где звездочка означает место присоединения к L¹ или D, волнистая линия означает место присоединения к CBA, и n принимает значения от 0 до 6 (предпочтительно n принимает значение 5).

Особенно предпочтительными конъюгатами согласно настоящему изобретению являются конъюгаты формулы Ib, Ic, Id и Ie





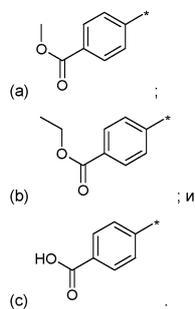
или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, где

p принимает значение от 1 до 3;

R^{1a} представляют собой метил;

R^N представляют собой H;

R^{12a} выбран из



A^1 представляет собой удлиняющее звено;

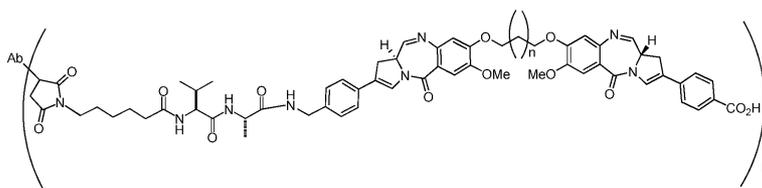
L^1 представляет собой дипептид, расщепляемый под действием катепсина;

Ab представляет собой антитело; и

p составляет от 1 до 20.

В особенно предпочтительном варианте реализации формул Ib, Ic, Id и Ie или их фармацевтически приемлемой соли или сольвата связь между антителом и звеном линкера формируется между тиольной группой остатка цистеина антитела и maleимидной группой звена линкера.

Особенно предпочтительные конъюгаты включают



или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, где n принимает значение 1 или 3.

A^1 представляет собой удлиняющее звено;

L^1 представляет собой дипептид, расщепляемый под действием катепсина;

Ab представляет собой антитело; и

r составляет от 1 до 20.

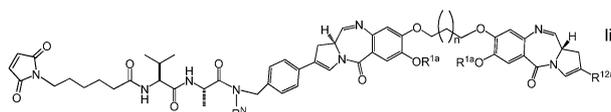
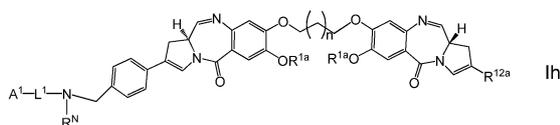
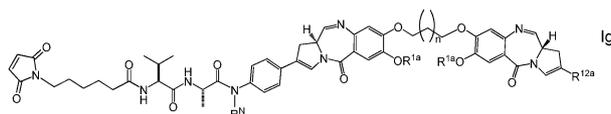
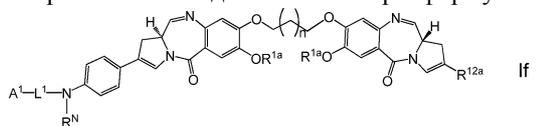
В особенно предпочтительном варианте реализации во всех предпочтительных конъюгатах связь между антителом и звеном линкера формируется между тиольной группой остатка цистеина антитела и maleимидной группой звена линкера.

В особенно предпочтительном варианте реализации во всех предпочтительных конъюгатах антитело представляет собой моноклональное антитело, которое специфически связывается с антигеном CRYPTO, антигеном CD19, антигеном CD20, антигеном CD22, антигеном CD30, антигеном CD33, гликопротеином NMB, антигеном CanAg, антигеном Her2 (ErbB2/Neu), антигеном CD56 (NCAM), антигеном CD70, антигеном CD79, антигеном CD138, PSCA, PSMA (простатический специфический мембранный антиген), BCMA, E-селектином, EphB2, меланотрансферином, антигеном Muc16 или антигеном TMEFF2.

Предпочтительные варианты для соединения формулы I применимы в соответствующих случаях к D в седьмом аспекте изобретения. Например, в седьмом аспекте димер PBD представляет собой любое из соединений формулы I или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, описанное в настоящем документе, за исключением того, что

$^*-\text{N}(\text{R}^N)\text{NH}$ заменен $^*-\text{N}(\text{R}^N)\text{N}^{\text{S}}$, $^*-\text{NH}$ заменен $^*-\text{N}(\text{R}^N)\text{N}^{\text{S}}$ и $^*-\text{NHR}^N$ заменен $^*-\text{N}(\text{R}^N)\text{N}^{\text{S}}$, где волнистая линия означает место присоединения к звену линкера.

Особенно предпочтительные лекарственные соединения-линкеры согласно настоящему изобретению представляют собой лекарственные соединения-линкеры формулы If, Ig, Ih и Ii

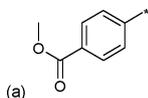


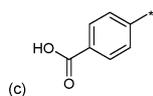
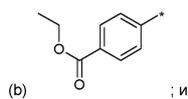
или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, где n принимает значение 1 или 3;

R^{1a} представляет собой метил или фенил;

R^N представляет собой H;

R^{12a} выбран из

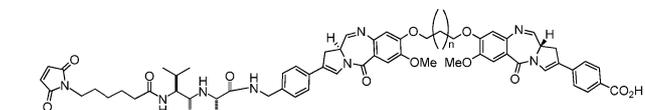
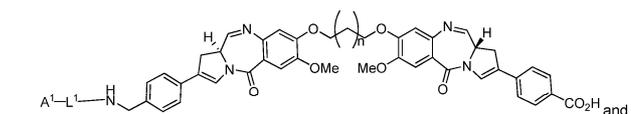
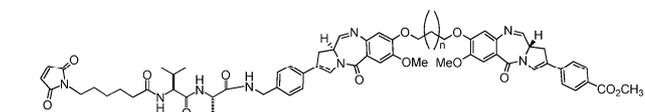
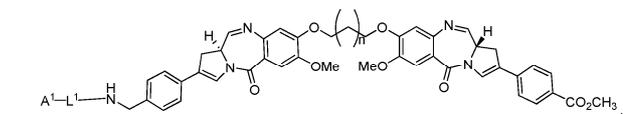
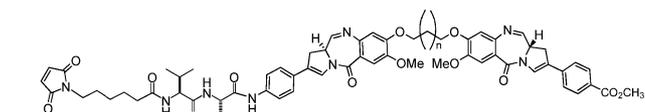
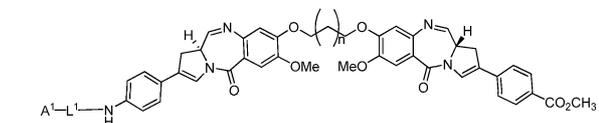
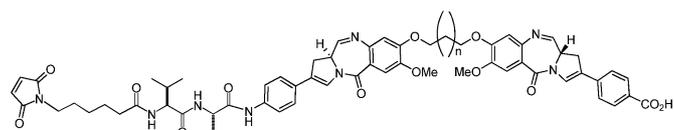
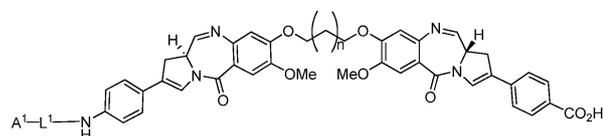
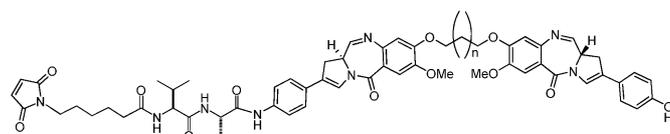
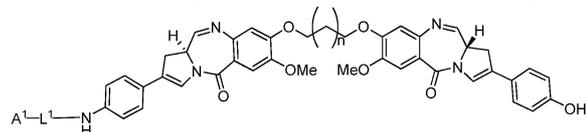




A^1 представляет собой удлиняющее звено

L^1 представляет собой дипептид, расщепляемый под действием катепсина.

Особенно предпочтительные лекарственные соединения-линкеры включают



или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, где n принимает значение 1 или 3;

A¹ представляет собой удлиняющее звено;

L¹ представляет собой дипептид, расщепляемый под действием катепсина.

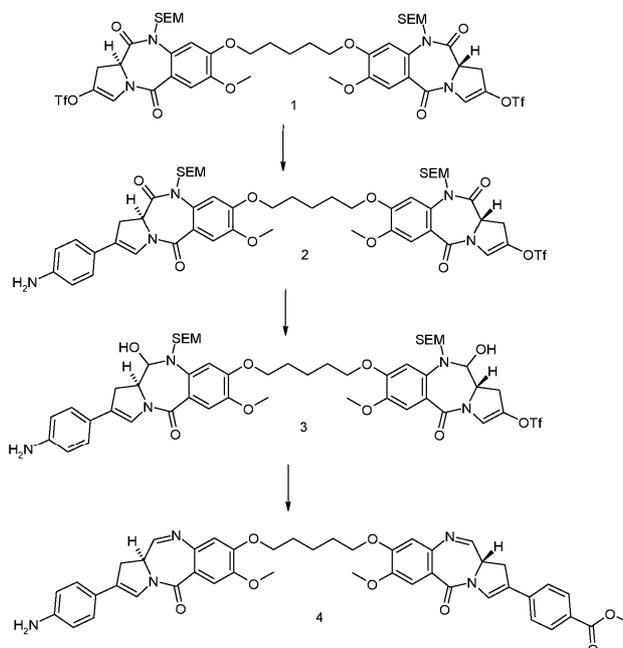
Примеры

Общие методы проведения экспериментов для примера 1.

Оптическое вращение измеряли на поляриметре ADP 220 (Bellingham Stanley Ltd.), концентрации (с) представлены в виде г/100 мл. Температуру плавления измеряли при помощи цифрового измерителя температуры плавления (Electrothermal). ИК-спектры записывали на ИК-спектрометре Perkin-Elmer Spectrum 1000 FT. Спектры ¹H и ¹³C ЯМР получали при 300 К на ЯМР-спектрометре Bruker Advance при 400 и 100 МГц соответственно. Химические сдвиги представлены относительно TMS (δ=0,0 ppm), сигналы обозначены как s (синглет), d (дублет), t (триплет), dt (двойной триплет), dd (дублет дублетов), ddd (двойной дублет дублетов) или m (мультиплет), константы спин-спинового взаимодействия даны в герцах (Гц). Данные масс-спектрометрического анализа (МС) получали на оборудовании Waters Micromass ZQ, соединенного с ВЭЖХ хроматографом Waters 2695 и детектором Waters 2996 PDA. Использовались следующие параметры системы Waters Micromass ZQ: капилляр (кВ), 3,38; конус (В), 35; экстрактор (В), 3,0; температура источника (°С), 100; температура десольватации (°С), 200; скорость потока подвижной фазы (л/ч), 50; расход десольватированного потока (л/ч), 250. Масс-спектрометрию высокого разрешения (HRMS) проводили в системе Waters Micromass QTOF Global в положительном W-режиме с использованием наконечников из борсиликатного стекла с металлическим покрытием для введения образцов в прибор. Тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили на алюминиевых пластинах с силикагелем (Merck 60, F254), а для флэш-хроматографии использовали силикагель (Merck 60, 230-400 меш ASTM). За исключением HOBt (NovaBiochem) и реагентов на твердой подложке (Argonaut), все остальные химические реактивы и растворители приобретали в Sigma-Aldrich и их применяли в поставляемом виде без дополнительной очистки. Безводные растворители получали путем перегонки в атмосфере сухого азота в присутствии соответствующего осушителя и хранили над молекулярными ситами 4Å или над натриевой проволокой. Петролейный эфир представляет собой фракцию, кипящую при 40-60°С.

Общие условия ЖХ/МС: ВЭЖХ (Waters Alliance 2695) проводили с применением подвижных фаз: воды (А) (муравьиная кислота 0,1%) и ацетонитрила (В) (муравьиная кислота 0,1%). Градиент: начальный состав - 5% В, через 1,0 мин, затем 5% В до 95% В, в течение 3 мин. Состав подвижной фазы сохраняли в течение 0,5 мин на уровне 95% В, а затем возвращали к уровню 5% В за 0,3 мин. Общее время градиентного анализа составляет 5 мин. Скорость потока: 3,0 мл/мин, 400 мкл вводили при помощи тройника с нулевым мертвым объемом в масс-спектрометр. Диапазон длин волн детектирования: 220-400 нм. Режим: диодная матрица (535 сканов). Колонка: Phenomenex® Onyx Monolithic C18 50×4,60 мм.

Пример 1.



(а) (S)-2-(4-аминофенил)-7-метокси-8-(3-((S)-7-метокси-2-(трифторметилсульфонил)-5,11-диоксо-10-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-5,10,11,11а-тетрагидро-1Н-пирроло[2,1-с][1,4]бензодиазепин-8-илокси)пентокси)-10-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1Н-пирроло[2,1-с][1,4]бензодиазепин-5,11(10Н,-11аН)дион (2).

1,1'-[[((Пентан-1,5-диил)диокси)бис-(11аS)-7-метокси-2-[[((трифторметил)сульфонил)окси]-10-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1,10,11,11а-тетрагидро-5Н-пирроло[2,1-с][1,4]-бензодиазепин-5,11-дион]](1)(соединение 8b в WO 2010/043880) (2,8 г, 2,4 ммоль, 1 экв.) добавляли к смеси карбоната натрия (388

мг, 3,66 ммоль, 1,52 экв.) и 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)анилина (509 мг, 2,32 ммоль, 0,95 экв.) в толуоле/воде/этаноле (20/10/10 мл). Реакционную колбу продували аргоном и добавляли твердый Pd(0)тетракис трифенилфосфин (84 мг, 0,072 ммоль, 0,03 экв.). Реакцию оставляли протекать в течение 2 ч при 26°C с интенсивным перемешиванием в атмосфере аргона. Смесь разделяли между этилацетатом (200 мл) и водой (100 мл). Органическую фазу промывали водой (100 мл) с последующим солевым раствором (50 мл). Органическую фазу сушили над сульфатом магния и летучие вещества удаляли с помощью ротационного испарения с последующим применением высокого вакуума. Остаток очищали с помощью флеш-хроматографии (градиент этилацетат/гексан от 30/70 до 100/0 об./об.). Несимметричный аминотрифлат (2) изолировали с 46% выходом (1,23 г). ЖХ/МС кт 3,80 мин m/z (1087,6) M+H. Получали 932 мг (33%) исходного материала и 400 мг (16%) симметричного 4-аминофенильного продукта.

(b) (S)-8-((5-(((S)-2-(4-аминофенил)-7-метокси-5-оксо-11-гидрокси-5,11а-дигидро-1Н-пирроло[2,1-с][1,4]бензодиазепин-8-ил)окси)пентил)окси)-7-метокси-5-оксо-11-гидрокси-5,11а-дигидро-1Н-пирроло[2,1-с][1,4]дизаепин-2-ил)трифторметансульфонат(3).

Аминотрифлат (2) растворяли в сухом ТГФ (15 мл) и охлаждали при -78°C (1,2 г, 1,1 ммоль, 1 экв.). Раствор супергидрида в ТГФ (1М, 3,3 мл, 3,3 ммоль, 3 экв.) медленно вводили в перемешиваемую реакционную смесь. Через 15 мин наблюдали завершение реакции. Реакционную смесь гасили водой (10 мл) и позже экстрагировали ДХМ (50 мл). Органические вещества промывали водой (100 мл), затем солевым раствором (50 мл). Органическую фазу сушили над сульфатом магния и летучие вещества удаляли с помощью ротационного испарения с последующим применением высокого вакуума. Неочищенный карбиноламин (3) (1,10 г) не очищали и использовали непосредственно на следующей стадии. ЖХ/МС кт 2,68 мин m/z (796) M+H для имина без защиты SEM (саморасщепление в кислых условиях ЖХ/МС).

(c) (S)-2-(4-аминофенил)-7-метокси-8-(5-((S)-7-метокси-2-(4-метилоксикарбонилфенил)-5-оксо-5,11а-дигидро-1Н-пирроло[2,1-с][1,4]бензодиазепин-8-илокси)пентилокси)-1Н-пирроло[2,1-с][1,4]бензодиазепин-5(11аН)-он (4).

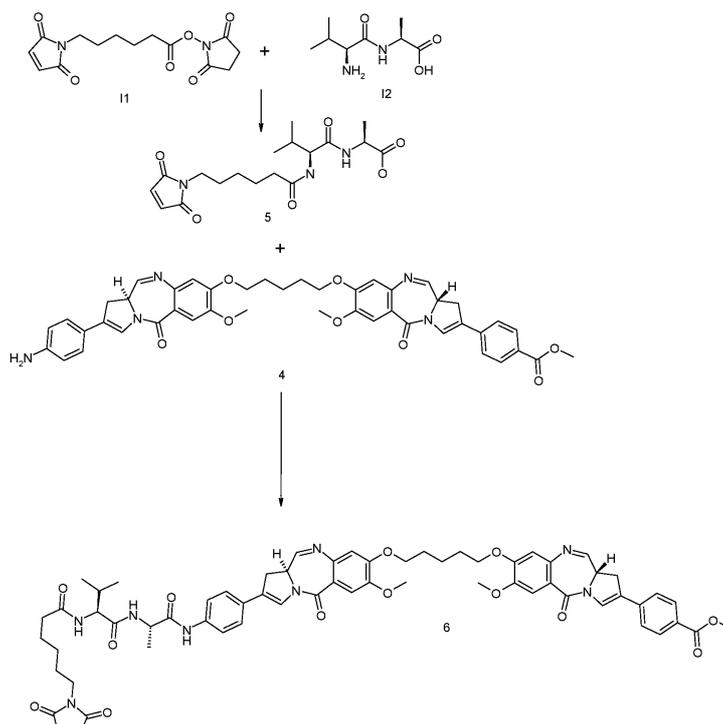
Неочищенный карбиноламинтрифлат, защищенный SEM (3), полученный на предыдущей стадии (1,10 г, 1 ммоль, 1 экв.), добавляли к смеси карбоната натрия (341 мг, 3,2 ммоль, 3,2 экв.) и 4-метоксикарбонилбороновой кислоты (286 мг, 1,6 ммоль, 1,6 экв.) в толуоле/воде/метаноле/ТГФ (10/5/5/5 мл). Реакционную колбу продували аргоном и добавляли твердый Pd(0)тетракис трифенилфосфин (35 мг, 0,030 ммоль, 0,03 экв.). Реакцию оставляли протекать в течение ночи с интенсивным перемешиванием в атмосфере аргона. Смесь разделяли между этилацетатом (200 мл) и водой (100 мл). Органическую фазу промывали водой (100 мл) с последующим промыванием солевым раствором (50 мл). Органическую фазу сушили над сульфатом магния и летучие вещества удаляли с помощью ротационного испарения с последующим применением высокого вакуума. Остаток обрабатывали ДХМ (50 мл), этанолом (140 мл), водой (70 мл) и силикагелем (100 г). Вязкую смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 3 дней. Смесь медленно фильтровали через воронку Бюхнера и остаток силикагеля промывали смесью 90/10 об./об. хлороформ/метанол (500 мл). Органическую фазу промывали водой (300 мл), солевым раствором (100 мл), сушили (сульфат магния), фильтровали и выпаривали в вакууме с получением неочищенного вещества, которое очищали с помощью флеш-хроматографии (градиент метанол/хлороформ от 0/100 до 4/96 об./об.) с выходом 200 мг (25%) димера PBD ЖХ/МС кт 2,68 мин m/z (782) M+H.

Общие методы проведения экспериментов для примеров 2-3.

Все коммерчески доступные безводные растворители применяли без дополнительной очистки. Аналитическую тонкослойную хроматографию проводили на алюминиевых пластинах с силикагелем 60 F254 (EMD Chemicals, Gibbstown, Нью-Джерси). Радиальную хроматографию проводили на приборе Chromatotron (Harris Research, Palo Alto, Калифорния). Аналитическую ВЭЖХ проводили с помощью системы подачи растворителя Varian ProStar 210, оборудованной детектором Varian ProStar 330 PDA. Образцы элюировали через колонку с обращенной фазой C12 Phenomenex Synergi 2,0 × 150 мм, 4 мкм, 80 Å. Кислая мобильная фаза состояла из ацетонитрила и воды, которые содержали 0,1% муравьиной кислоты. Соединения элюировали в линейном градиенте кислым ацетонитрилом в концентрации, составляющей от 5% через 1 мин после ввода до 95% через 11 мин, затем в изократическом режиме при концентрации ацетонитрила 95% до 15 мин (скорость потока=1,0 мл/мин). ЖХ/МС проводили на масс-спектрометре ZMD Micromass, соединенном с хроматографом ВЭЖХ HP Agilent 1100, оборудованным колонкой с обращенной фазой C12 Phenomenex Synergi 2,0×150 мм, 4 мкм, 80 Å. Кислый элюент состоял из линейного градиента концентрации ацетонитрила в 0,1%-ной водной муравьиной кислоте, составляющей от 5 до 95% в течение 10 мин, затем в изократическом режиме при концентрации ацетонитрила 95% в течение 5 мин (скорость потока=0,4 мл/мин). Препаративную ВЭЖХ проводили с помощью системы подачи растворителя Varian ProStar 210, оборудованной детектором Varian ProStar 330 PDA. Продукты очищали на колонке с обращенной фазой C12 Phenomenex Synergi 10,0×250 мм, 4 мкм, 80 Å, элюируя 0,1%-ной муравьиной кислотой в воде (растворитель А) и 0,1%-ной муравьиной кислотой в ацетонитриле (растворитель В). Способ очистки включал следующий градиент растворителя А и растворителя В: 90:10 от 0 до 5 мин; 90:10-10:90 с 5 до 80 мин; затем в изократическом режиме 10:90 в течение 5 мин.

Скорость потока составляла 4,6 мл/мин, детектирование проводили при 254 нм.

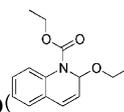
Пример 2.



(a) (S)-2-((S)-2-(6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)гексанамидо)-3-метилбутанамидо)-пропановая кислота (5).

N-(Малеимидакаприлокси)сукцинамид (1,619 г, 5,25 ммоль, 1,05 экв.) и Н-Val-Ala-ОН (0,941 г, 5 ммоль, 1 экв.) помещали в 25 мл приемную колбу с мешалкой и колбу продували азотом. Добавляли ДМФА (4,7 мл) и полученную белую суспензию перемешивали. Добавляли DIPEA (0,87 мл, 5 ммоль, 1 экв.) и смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение ночи. Смесь охлаждали на бане лед/вода и по каплям добавляли 2М HCl (3 мл, 6 ммоль). Вязкую смесь переносили в делительную воронку и реакционный сосуд промывали насыщ. NaCl (7 мл), EtOAc (10 мл), насыщ NaCl (10 мл) и EtOAc (5 мл). После отделения водной фазы ее экстрагировали дополнительным количеством EtOAc (2×15 мл). Объединенные органические экстракты промывали насыщ. NaCl (4×15 мл) до достижения в промывке pH ~3,5. Органические экстракты сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного 5 в виде белого твердого вещества (2,172 г, 114% выход неочищенного продукта). Неочищенное 5 суспендировали в теплом CH₂Cl₂ (35 мл) и фильтровали с удалением мелкого белого твердого вещества. Твердые вещества промывали дополнительным CH₂Cl₂ (3 мл). Добавляли толуол (5 мл) и смесь охлаждали на бане лед/вода с получением густой суспензии. Твердые вещества собирали фильтрованием, промывали холодной смесью CH₂Cl₂ (12 мл) и толуола (2 мл) и сушили путем продувания воздуха через образец в течение ночи с получением 5 в виде белого твердого вещества (1,327 г, 70% выход). ТСХ: R_f=0,26, 10% MeOH в CH₂Cl₂. 1H ЯМР (CDCl₃) (ppm) 0,95 (d, J=17 Гц, 3H), 0,98 (d, J=17 Гц, 3H), 1,30 (m, 2H), 1,40 (d, J=17 Гц, 3H), 1,61 (m, 4H), 2,06 (m, 1H), 2,25 (dt, J=4, 19 Гц, 2H), 3,35 (s, 1H), 3,49 (t, J=17 Гц, 2H), 4,20 (d, J=18 Гц, 1H), 4,38 (m, 1H), 6,80 (s, 2H). Аналитическая ВЭЖХ (0,1% муравьиной кислоты): t_R 9,05 мин. ЖХ-МС: t_R 11,17 мин, m/z (ES⁺) обнаружено 381,9 (M+H)⁺, m/z (ES⁻) обнаружено 379,9 (M-H)⁻.

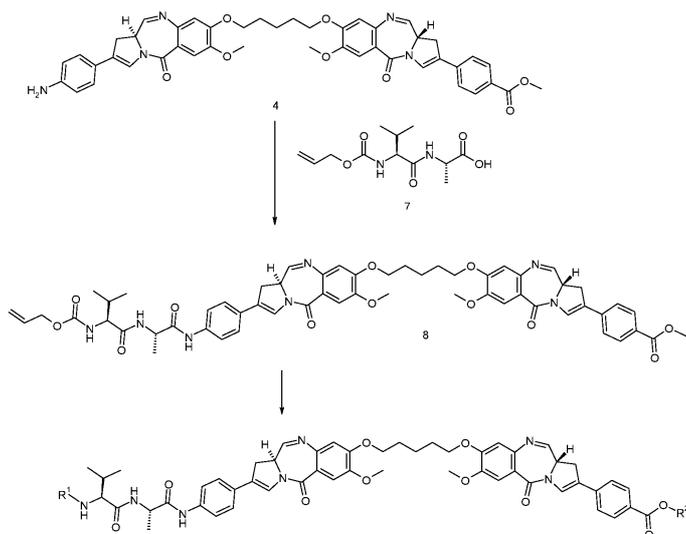
(b) Метил-4-((S)-8-((S)-2-(4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)гексанамидо)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)фенил)-7-метокси-5-оксо-5,11а-дигидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пентил)окси)-7-метокси-5-оксо-5,11а-дигидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]diazепин-2-ил)бензоат (6).



В 10-мл колбу помещали 5 (11 мг, 29 мкмоль), EEDQ (8,9 мг, 36 мкмоль) и 0,46 мл безводного CH₂Cl₂. Метанол (24 мкл) добавляли для ускорения растворения и смесь перемешивали в атмосфере азот в течение 15 мин. Затем добавляли анилин 4 (18 мг, 24 мкмоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч, после чего анализ ЖХ-МС показал конверсию в продукт. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в CH₂Cl₂ (1 мл) и очищали радиальной хроматографией на 1 мм пластине хроматрона, элюируя смесями CH₂Cl₂/CH₃OH (от 100:0 до 90:10 CH₂Cl₂/CH₃OH) с получением 6 (9,9 мг, 36%). Аналитическая ВЭЖХ: t_R 12,10 мин. ЖХ-МС: t_R 12,91 мин,

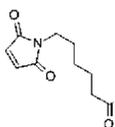
m/z (ES^+) обнаружено 1145,6 ($M+H$)⁺.

Пример 3.



9: $R^1 = H$, $R^2 = CH_3$

10: $R^1 = H$, $R^2 = H$

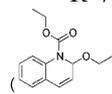


11: $R^1 = MC$ (), $R^2 = H$

Соединение 7 получали таким же образом, как и соединение 5 в примере 2(а) с использованием аллилхлороформата вместо N-(малеимидокаприлокси)сукцинамида и дихлорметана в качестве реакционного растворителя.

(а) Метил-4-((S)-8-(3-(((S)-2-(4-((S)-2-((S)-2-((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)фенил)-7-метокси-5-оксо-5,11а-дигидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пропокси)-7-метокси-5-оксо-5,11а-дигидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]diazепин-2-ил)бензоат (8)

К 7 (52 мг, 0,192 ммоль) в 5%-ной смеси метанол/дихлорметан (3 мл) при 0°C добавляли EEDQ



(47 мг, 0,193 ммоль) и смесь перемешивали в течение 15 мин до добавления 4 (50 мг, 0,064 ммоль). Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и контролировали ЖХ-МС. Смесь аспирировали на 1 мм пластине хроматрона и элюировали смесью от 1 до 3% метанол/дихлорметан. Фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали с получением 43 мг (65%) 8 в виде желтого твердого вещества: MC (ES^+) m/z 1036,87 [$M+H$]⁺.

(b) Метил-4-((S)-8-(3-(((S)-2-(4-((S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)пропанамидо)фенил)-7-метокси-5-оксо-5,11а-дигидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]diazепин-8-ил)окси)пропокси)-7-метокси-5-оксо-5,11а-дигидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]diazепин-2-ил)бензоат (9).

К раствору 8 (43 мг) в безводном дихлорметане (3 мл) добавляли Ph_3P (0,5 мг, 0,002 ммоль), пирролидин (7 мкл, 0,082 ммоль) и тетраakis палладий (1,1 мг, 0,001 ммоль). Через приблизительно 30 мин реакционную смесь аспирировали на 1 мм пластине хроматрона и элюировали 5% и затем 10% метанолом в дихлорметане. Основную фракцию собирали и концентрировали при пониженном давлении с получением 22 мг (56%) 9: MC (ES^+) m/z 952,5 [$M+H$]⁺.

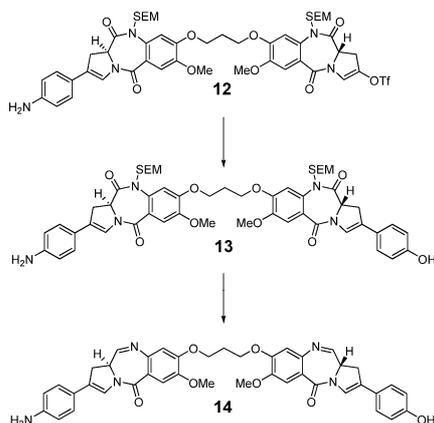
(с) 4-((S)-8-(3-(((S)-2-(4-((S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)пропанамидо)фенил)-7-метокси-5-оксо-5,11а-дигидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]diazепин-8-ил)окси)пропокси)-7-метокси-5-оксо-5,11а-дигидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]diazепин-2-ил)бензойная кислота (10).

К 9 (20 мг) в ТГФ/ CH_3OH (2 мл) добавляли раствор гидроксида лития (1 мл 0,1 М раствора). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре. Через 5 ч ЖХ-МС выявила 30% конверсию в требуемый продукт со значительным разложением. Реакционную смесь охлаждали до -80°C в течение 16 ч. ЖХ-МС показала смесь -1:1 10 и 9. Реакционную смесь нейтрализовали 0,1 N HCl (~1 мл) и концентрировали до приблизительно 1 мл. Добавляли ДМСО (1 мл) и CH_3CN (1 мл) и смесь очищали с помощью препаративной обращенно-фазовой ВЭЖХ. Фракции, содержащие продукт, объединяли, замораживали и лиофилизировали. В результате получали 1,7 мг (9%) 10 в виде желтой пленки: MC (ES^+) m/z 938 [$M+H$]⁺.

(d) 4-((S)-8-(3-(((S)-2-(4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пирроло-1-ил)гексанамидо)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)фенил)-7-метокси-5-оксо-5,11а-дигидро-1H-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пропокси)-7-метокси-5-оксо-5,11а-дигидро-1H-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-2-ил)бензойная кислота (11).

К смеси 10 (1,7 мг, 1,8 мкмоль) в ДМФА (100 мкл) добавляли DIPEA (1 мкл, 5,75 мкмоль) и N-(малеимидокаприлокси)сукцинамид (4,6 мг, 15 мкмоль). Реакцию контролировали с помощью ЖХ-МС. Через 1 ч реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, растворяли в 0,5 мл ДМСО, 0,5 мл ацетонитрила и 0,5 мл воды и очищали с помощью препаративной обращенно-фазовой ВЭЖХ. Фракции, содержащие продукт, замораживали и лиофилизировали с получением 0,2 мг (10%) 11: МС (ES⁺) m/z 1131,6 [M+H]⁺.

Пример 4.



(a) (S)-2-(4-аминофенил)-8-(3-(((S)-2-(4-гидроксифенил)-7-метокси-5,11-диоксо-10-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-5,10,11,11а-тетрагидро-1H-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пропокси)-7-метокси-10-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-5,11(10H,11аH)-дион (13).

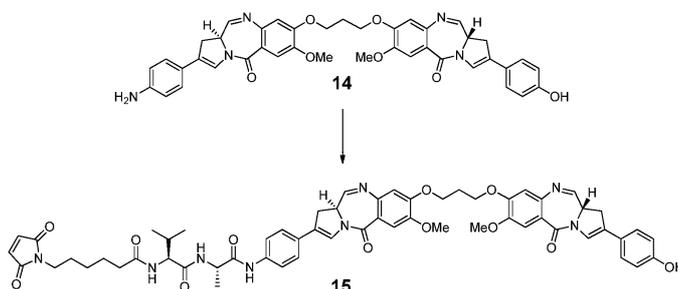
В колбу помещали анилинтрифлат 12 (соединение 9, WO 2011/130613 A1) (520 мг, 490 мкмоль, 1 экв.), растворенный в толуоле (5,4 мл), этаноле (2,7 мл) и воде (2,7 мл). К перемешанному раствору добавляли 4-гидроксифенилбороновую кислоту (88 мг, 640 мкмоль, 1,3 экв.), карбонат натрия (83 мг, 780 мкмоль, 1,6 экв.) и тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0) (23 мг, 20 мкмоль, 0,04 экв.), реакционную смесь энергично перемешивали течение ночи при комнатной температуре в атмосфере азота. Через 22 ч реакция остановилась. Добавляли дополнительное количество тетраakis(трифенилфосфин)палладия (0) (100 мг, 87 мкмоль, 0,18 экв.) и 4-гидроксифенилбороновой кислоты (88 мг, 640 мкмоль, 1,3 экв.) и реакционную смесь перемешивали при 35°C в течение дополнительных 24 ч, после чего анализ ЖХ-МС показал конверсию в продукт. Реакционную смесь концентрировали и затем разделяли между этилацетатом (100 мл) и водой (100 мл). Водный слой экстрагировали дважды этилацетатом (100 мл). Затем органический слой промывали водой (100 мл), соевым раствором (100 мл), сушили над сульфатом натрия и концентрировали досуха с получением неочищенного SEM дилактама 13. Неочищенный продукт очищали с помощью флеш-хроматографии, элюируя смесями гексанов:этилацетата (от 75:25 до 0:100), с получением чистого продукта 13 (218 мг, 44%). ЖХ-МС: t_R 11,54 мин, m/z (ES⁺) обнаружено 1004,3 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃) δ (ppm) 0,02 (s, 18H), 0,98 (m, 4H), 2,44 (m, 2H), 3,12 (m, 2H), 3,67 (m, 3H), 3,77 (m, 4H), 3,91 (m, 8H), 4,29 (t, J=5,9 Гц, 4H), 4,59 (dt, J=3,1, 10,2 Гц, 2H), 4,76 (dd, J=3,1, 10,2 Гц, 2H), 5,52 (d, J=10,2 Гц, 2H), 6,34 (bs, 1H), 6,66 (d, J=8,2 Гц, 2H), 6,83 (d, J=8,6 Гц, 2H), 7,22 (m, 4H), 7,27 (m, 6H), 7,39 (s, 2H).

(b) (S)-2-(4-аминофенил)-8-(3-(((S)-2-(4-гидроксифенил)-7-метокси-5-оксо-5,11а-дигидро-1H-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пропокси)-7-метокси-1H-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-5(11аH)-он (14).

В колбу, высушенную пламенем, помещали SEM дилактам 13 (109 мг, 109 мкмоль, 1 экв.), растворенный в безводном тетрагидрофуране (2,2 мл), и охлаждали до -78°C. Триэтилборгидрид лития (0,33 мл 1 M раствора в ТГФ, 330 мкмоль, 3 экв.) добавляли по каплям и реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона в течение 2,5 ч, после чего ЖХ показала неполную конверсию в продукт. Добавляли дополнительные 0,66 мл восстановителя и реакционную смесь перемешивали в течение еще одного часа. Реакцию гасили посредством добавления воды (1 мл) и оставляли нагреваться до комнатной температуры, затем разбавляли соевым раствором (25 мл) и экстрагировали трижды дихлорметаном (25 мл). Объединенные органические вещества промывали соевым раствором (25 мл), сушили над сульфатом натрия и выпаривали досуха. Остаток растворяли в смеси дихлорметана (2,8 мл), этанола (7,4 мл) и воды (1,0 мл), и добавляли силикагель (2,7 г). Полученную суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 4 дней. Анализ ТСХ показал конверсию иминного димера 14, после чего суспензию фильтровали на воронке из пористого стекла и силикагелевый фильтрационный остаток промывали 10%-ным метанолом в хлороформе до прекращения проявления поглощения PBD в фильтрате. В результате концентри-

рования фильтрата получали неочищенный иминный димер 14. Вещество растворяли в минимальном количестве дихлорметана и очищали радиальной хроматографией на 1 мм пластине хроматрона, элюируя смесями $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (от 100:0 до 80:20) с получением 14 (31 мг, 40%). ЖХ-МС: t_R 8,48 мин, m/z (ES^+) обнаружено 712,2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Пример 5.



6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-N-(((S)-1-(((S)-1-((4-((S)-8-(3-((S)-2-(4-гидроксифенил)-7-метокси-5-оксо-5,11а-дигидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пропокси)-7-метокси-5-оксо-5,11а-дигидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-2-ил)фенил)амино)-1-оксoproпан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)гексанамид (15).

В высушенную пламенем колбу помещали малеимидакапроил-валин-аланиновый линкер (соединение 36 примера 13 в WO 2011/130613 A1) (11 мг, 29 мкмоль, 1,5 экв.), растворенного в 0,8 мл 5%-го метанола в безводном дихлорметане. Кислоту предварительно активировали путем добавления N-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолина (9 мг, 34 мкмоль, 1,8 экв.) с последующим перемешиванием при комнатной температуре в атмосфере азота в течение 15 мин. Затем активированную кислоту добавляли в высушенную пламенем колбу, содержащую димер PBD 14 (13 мг, 19 мкмоль, 1 экв.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере азота в течение 4 ч, после чего анализ ЖХ/МС показал конверсию в продукт. Вещество разбавляли в дихлорметане и очищали радиальной хроматографией на 1 мм пластине хроматрона, элюируя смесями $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (от 100:0 до 80:20) с получением 15 (7,7 мг, 38%). ЖХ-МС: m/z (ES^+) обнаружено 1075,5 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Пример 6. Получение конъюгатов димеров PBD.

Антитела с введенными цистеинами: антитела CD70, содержащие остаток цистеина в положении 239 тяжелой цепи полностью восстанавливали путем добавления 10 экв. TCEP и 1 мМ ЭДТА и доведения pH до 7,4 при помощи 1 М буфера Tris (pH 9,0). После инкубирования в течение 1 ч при 37°C реакционную смесь охлаждали до 22°C и добавляли 30 экв. дегидроаскорбиновой кислоты для селективного окисления исходных дисульфидов при сохранении цистеина 239 в восстановленном состоянии. pH довели до 6,5 при помощи 1 М буфера Tris (pH 3,7) и реакцию проводили в течение 1 ч при 22°C. pH раствора затем снова повышали до 7,4 путем добавления 1 М буфера Tris (pH 9,0), 3,5 экв. PBD лекарственного соединения, связанного с линкером, в ДМСО помещали в подходящий контейнер для разбавления пропиленгликолем перед добавлением в реакционную смесь. Для сохранения растворимости лекарственного соединения PBD, связанного с линкером, антитело сначала разбавляли пропиленгликолем до конечной концентрации 33% (например, если раствор антитела имел объем 60 мл, то добавляли 30 мл пропиленгликоля). Тот же объем пропиленгликоля (в данном случае примерно 30 мл) затем добавляли к лекарственному соединению PBD, связанному с линкером, в качестве разбавителя. После перемешивания раствор лекарственного соединения PBD, связанного с линкером, в пропиленгликоле добавляли в раствор антитела для проведения конъюгации; конечная концентрация пропиленгликоля составляла 50%. Реакцию проводили в течение 30 мин, а затем гасили путем добавления 5 экв. N-ацетилцистеина. ADC затем очищали путем ультрафильтрации через мембрану 30 кДа (необходимо отметить, что концентрацию пропиленгликоля, применяемого в реакции, можно снизить в случае любого конкретного PBD, так как единственным назначением пропиленгликоля является сохранение лекарственного соединения, связанного с линкером, в растворенном состоянии в водной среде).

Пример 7. Определение цитотоксичности свободного лекарственного соединения *in vitro*.

Клетки, как подробно описано ниже, собирали и помещали в 96-луночные планшеты с черными стенками при плотности 10,000 клеток/луночка в 150 мкл среды. Добавляли последовательные разведения исследуемого образца (50 мкл) и инкубацию проводили в течение 92 ч при 37°C. После добавления исследуемого соединения культуры инкубировали в течение 96 ч при 37°C. В среду добавляли ресазурин (0,25 мМ, 50 мкл, Sigma, St. Louis, MO) и инкубацию продолжали в течение 4 ч. Планшеты считывали на планшет-ридере Fusion HT (Packard, Meriden, CT) с использованием длины волны возбуждения 525 нм и длины волны излучения 590 нм. Данные со всех анализов сократили с использованием GraphPad Prism Version 4 для Windows (GraphPad Software, San Diego, CA). Концентрации IC_{50} по сравнению с необработанными контрольными клетками определяли с использованием нормирования с помощью 4-параметрической кривой.

Значения IC_{50} (pM) для соединений 4 и 14.

Таблица 1

IC₅₀ в pM после 48-часовой обработки

соединение	786-O	Caki-1	HL60	HEL9217
4	50	20	8	8
14	200	400	30	50

Пример 8. Определение активности выбранных конъюгатов *in vitro*.

Цитотоксическую активность выбранных конъюгатов антитело-лекарственное средство *in vitro* определяли при помощи исследования восстановления резазурина (Sigma, St. Louis, Миссури, США) (ссылка: Doronina et al., Nature Biotechnology, 2003, 21, 778-784). Конъюгаты антитело-лекарственное соединение получали согласно описанному выше в примере 6.

Для 96-часового исследования культивируемые клетки в логарифмической фазе роста помещали на 24 ч в 96-луночные планшеты, содержащие 150 мкл RPMI 1640, содержащей 20% FBS. Проводили последовательные разбавления ADC в питательной среде до рабочей концентрации 4×; 50 мкл каждого разбавленного раствора добавляли в 96-луночные планшеты. После добавления ADC клетки инкубировали с исследуемыми конъюгатами в течение 4 дней при 37°C. Затем в каждую лунку добавляли резазурин до достижения конечной концентрации 50 мкМ, и планшеты дополнительно инкубировали в течение 4 ч при 37°C. Планшеты затем анализировали, определяя степень снижения содержания красителя на планшетном анализаторе Fusion HT (Packard Instruments, Meridien, Коннектикут, США), длины волн возбуждения и испускания составляли 530 и 590 нм соответственно. Значение IC₅₀, измеренное в трех повторностях, определяют в настоящем описании как концентрацию, которая приводит к 50% снижению роста клеток по сравнению с контрольными опытами без добавления лекарственного средства.

На таблице ниже показана цитотоксичность ADC в 96-часовом *in vitro* исследовании. ADC исследовали в отношении антиген положительных и антиген отрицательных клеточных линий.

Таблица 2

IC₅₀ в pM после 96-часовой обработки

ADC	Лекарственные соединения/Ab	786-O	Caki-1	антиген-отрицательная клеточная линия
h1F6ec-6	1,8	30	0,1	90,000
h1F6ec-11	1,8	50	30	Эффект отсутствует
h1F6ec-15	2,0	30	13	10,000

Пример 9. Определение цитотоксичности выбранных конъюгатов *in vivo*.

Все исследования проводили в соответствии с протоколом комитета по содержанию и использованию лабораторных животных в условиях, полностью одобренных ассоциацией оценки и аккредитации лабораторных исследований на животных. Сначала определяли переносимость ADC для подтверждения переносимости конъюгатов в клинически значимых дозах для ксенотрансплантатных экспериментов. Мышам BALB/c вводили возрастающие дозы ADC в PBS, содержащем 0,5 М аргинина и 0,01% Tween 20. Контролировали потерю массы и внешние признаки заболевания у мышей после обработки; мышей, у которых наблюдали потерю 20% массы тела или другие признаки заболевания, подвергали эвтаназии. Применяемое антитело CD70 представляло собой гуманизированное h1F6 (WO 2006/113909), с точечной мутацией замены серина на цистеин в положении 239. Конъюгацию к звену лекарственного соединения проводили через введенный цистеин в положении 239. В среднем 2 лекарственных соединения помещали на антитело.

Эксперименты *in vivo* терапии проводили на моделях ксенотрансплантатов у мышей, имеющих CD70⁺ почечно-клеточную карциному или неходжкинскую лимфому. Фрагменты опухолей имплантировали бестимусным мышам. Мышей случайно разбивали в исследуемые группы, средний размер опухоли в каждой группе составлял примерно 100 мм³. ADC вводили согласно указанной схеме. Определяли зависимость объема опухоли от времени, используя формулу объема (L×W²)/2. Животных подвергали эвтаназии, если объем опухоли достигал 1000 мм³. Исследование мышей, у которых наблюдали продолжительную регрессию опухоли, прекращали примерно на 100 день после введения импланта.

На фиг. 1 показаны результаты исследования лечения h1F6ec-соединение 6 в CD70⁺ почечно-клеточной карциноме (786-O) с однократной дозировкой, введенной IP (внутрибрюшинно). На этой фигуре, ✱ означает необработанные, ● означает обработанные h1F6ec-6 при 0,03 мг/кг и ○ означает обработанные h1F6ec-6 при 0,1 мг/кг.

На фиг. 2 показаны результаты исследования с использованием h1F6ec-соединения 6 в неходжкинской лимфоме (MHNPreB1) с дозированием q7dx2. На этой фигуре ✱ означает необработанные и ● означает обработанные h1F6ec-6 при 0,1 мг/кг.

Результаты исследования переносимости у мышей при номинальной нагрузке h1F6ec-6 2 лекарственных соединения/mAb продемонстрировали, что однократная доза 1 мг/кг хорошо переносилась, при

этом отсутствовала потеря массы или внешние признаки заболевания в течение 30 дней. Введение большей дозы (2,5 мг/кг) приводило к потере массы.

Значения IC_{50} (нМ) для ADC с соединением 6

ADCs	786-O раковая клеточная линия	Saki-1 раковая клеточная линия	CD70 neg раковая клеточная линия	CD70 neg раковая клеточная линия	CD70 neg раковая клеточная линия
h1F6ec-6 (1,8dr/Ab)	1	0,5	7491	2074	5327

Значения IC_{50} (нМ) для ADC с соединением 6 и соединением 11

ADCs	786-O раковая клеточная линия	Saki-1 раковая клеточная линия	CD70 neg раковая клеточная линия	CD70 neg раковая клеточная линия	CD70 neg раковая клеточная линия
h1F6ec-11 (1,8dr/Ab)	4	2	Отсутствие эффекта	7725	Макс Inh=50%
h1F6ec-6 (1,8dr/Ab)	2	0,01	7215	1415	Макс Inh=45%

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

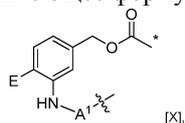
1. Конъюгат, имеющий формулу IV



или его фармацевтически приемлемая соль;

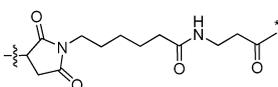
где L представляет собой звено лиганда, выбранное из группы, состоящей из полноразмерного антитела и антигенсвязывающего фрагмента полноразмерного антитела, причем указанное антитело является антителом к опухолеассоциированным антигенам;

LU представляет собой звено линкера, имеющее формулу X



где E представляет собой остаток глюкуроновой кислоты, звездочка у углерода карбонила означает место присоединения этого атома углерода к звену лекарственного соединения, и волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда, и

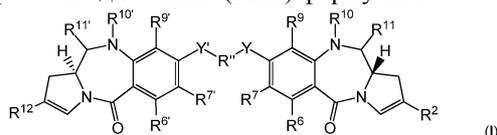
A¹ представляет собой



где звездочка означает место присоединения к атому азота формулы X, волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда;

p принимает значения от 1 до 20; и

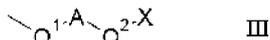
D представляет собой звено лекарственного соединения, где звено лекарственного соединения представляет собой димер пирролбензодиазепина (PBD) формулы I



где

A представляет собой фенил, где X представляет собой $^* - N(R^N) \begin{matrix} \xi \\ \zeta \end{matrix}$, где R^N выбран из группы, состоящей из H и C₁₋₄алкила, звездочка означает место присоединения к Q², и волнистая линия означает место присоединения к звену линкера; и

R² имеет формулу III



(i) Q¹ представляет собой одинарную связь, и Q² представляет собой одинарную связь, или

(ii) Q¹ представляет собой -CH=CH-, и Q² представляет собой одинарную связь; и

R¹² представляет собой фенил, имеющий заместитель, выбранный из группы, состоящей из OH, CO₂H и CO₂R⁰, где R⁰ представляет собой C₁₋₄алкил;

R⁶, R^{6'}, R⁹ и R^{9'} представляют собой H; R⁷ представляет собой группу C₁₋₄алкокси;

R¹⁰ и R¹¹ образуют азот-углеродную двойную связь между атомами азота и углерода, с которыми они связаны;

и

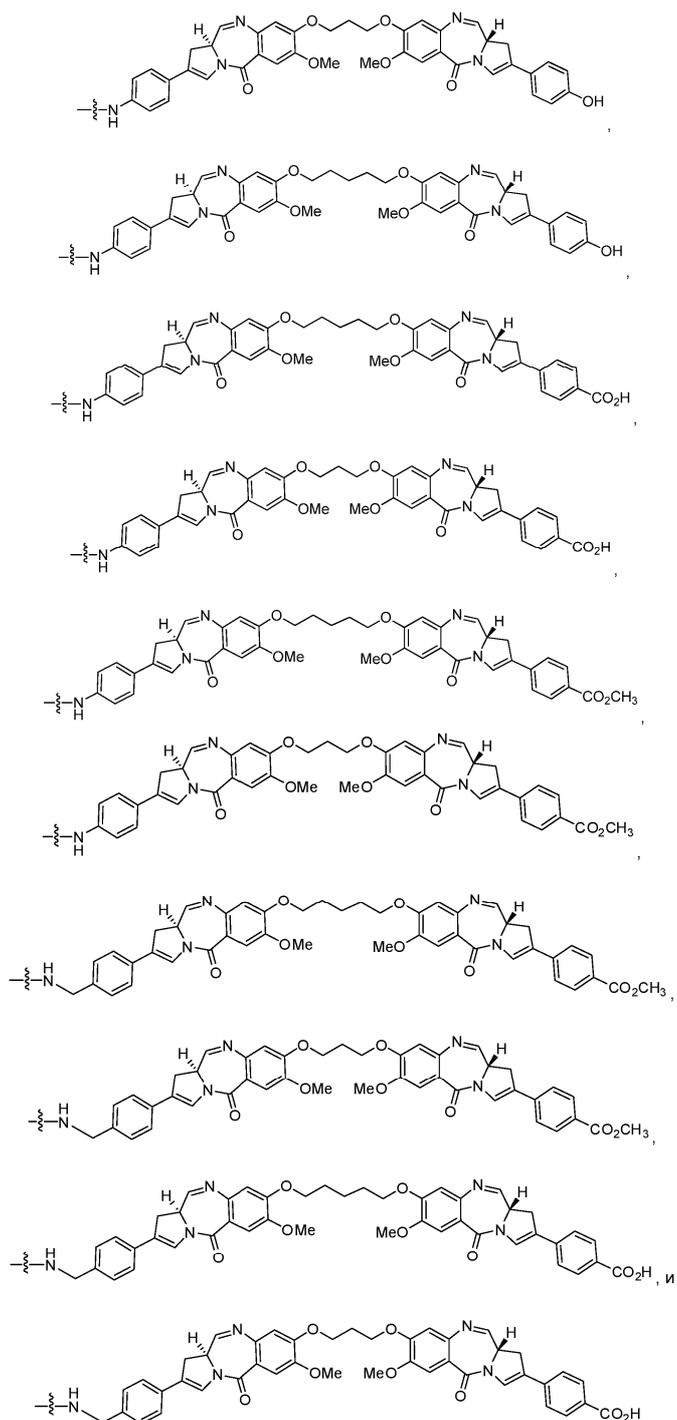
Rⁿ представляет собой C₃₋₇алкиленовую группу;

Y и Y' представляют собой O;

R⁷ выбран из той же группы, что и R⁷, и R^{10'} и R^{11'} такие же, как R¹⁰ и R¹¹; и

где LU присоединен к D через X заместитель R².

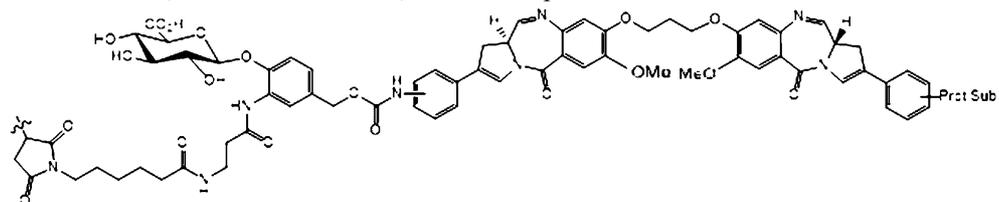
2. Конъюгат по п.1, отличающийся тем, что звено лекарственного соединения выбрано из группы, состоящей из



и их фармацевтически приемлемых солей,

где волнистая линия у атома азота означает место присоединения этого атома к LU.

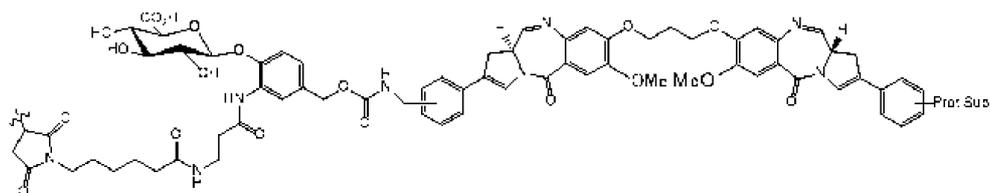
3. Конъюгат по п.1, отличающийся тем, что LU-D представляет собой



где Prot Sub представляет собой -ОН или CO₂H, и волнистая линия означает место присоединения к

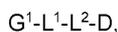
L.

4. Конъюгат по п.1, отличающийся тем, что LU-D представляет собой

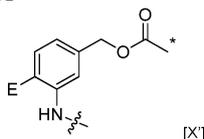


где Prot Sub представляет собой -ОН или CO₂H, и волнистая линия означает место присоединения к L.

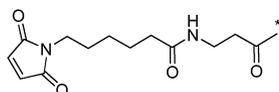
5. Соединение имеющее формулу



или его фармацевтическая соль или сольват,
где -L¹-L²- имеет структуру формулы X'



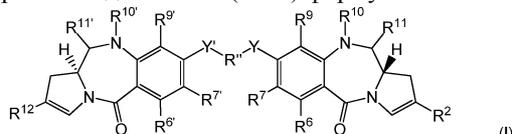
где E представляет собой остаток глюкуроновой кислоты, звездочка означает место присоединения к звену лекарственного соединения, и волнистая линия означает место присоединения к G¹, где G¹ представляет собой



где звездочка означает место присоединения к атому азота формулы X, и волнистая линия означает место присоединения к звену лиганда;

и

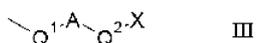
D представляет собой звено лекарственного соединения, где звено лекарственного соединения представляет собой димер пирролбензодиазепина (PBD) формулы I



где

A представляет собой фенил, где X представляет собой $\text{---N(R}^N\text{)}_5$, где R^N выбран из группы, состоящей из H и C₁₋₄алкила, звездочка означает место присоединения к Q², и волнистая линия означает место присоединения к звену линкера; и

R² имеет формулу III



(i) Q¹ представляет собой одинарную связь, и Q² представляет собой одинарную связь, или

(ii) Q¹ представляет собой -CH=CH-, и Q² представляет собой одинарную связь; и

R¹² представляет собой фенил, имеющий заместитель, выбранный из группы, состоящей из OH, CO₂H и CO₂R^O, где R^O представляет собой C₁₋₄алкил;

R⁶, R^{6'}, R⁹ и R^{9'} представляют собой H; R⁷ представляет собой группу C₁₋₄алкокси;

R¹⁰ и R¹¹ образуют азот-углеродную двойную связь между атомами азота и углерода, с которыми они связаны;

и

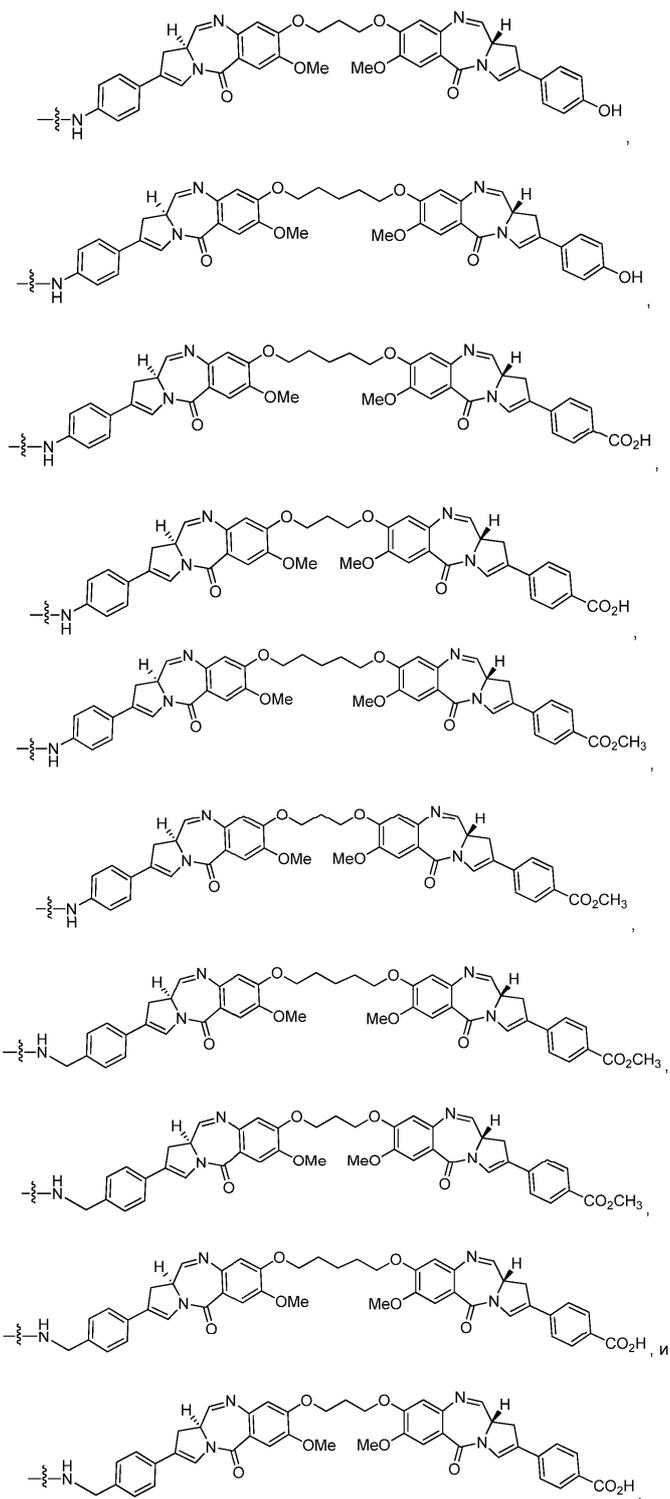
Rⁿ представляет собой группу C₃₋₇алкилен;

Y и Y' представляют собой O;

R⁷ выбран из той же группы, что и R⁷, и R¹⁰ и R¹¹ такие же, как R¹⁰ и R¹¹; и

где LU присоединен к D через X заместитель R².

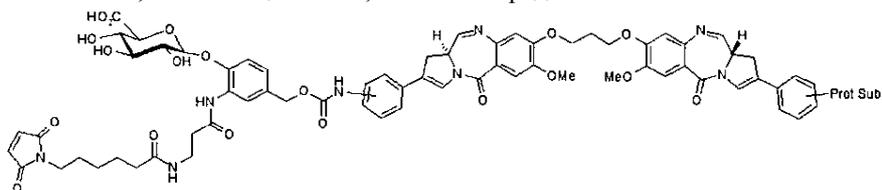
6. Соединение по п.5, отличающееся тем, что звено лекарственного соединения выбрано из группы, состоящей из



и их фармацевтически приемлемых солей,

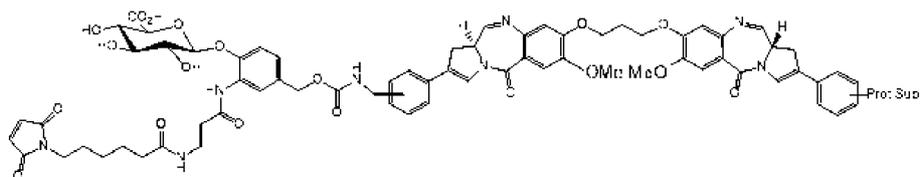
где волнистая линия у атома азота означает место присоединения указанного атома к LU.

7. Соединение по п.5, отличающееся тем, что LU-D представляет собой



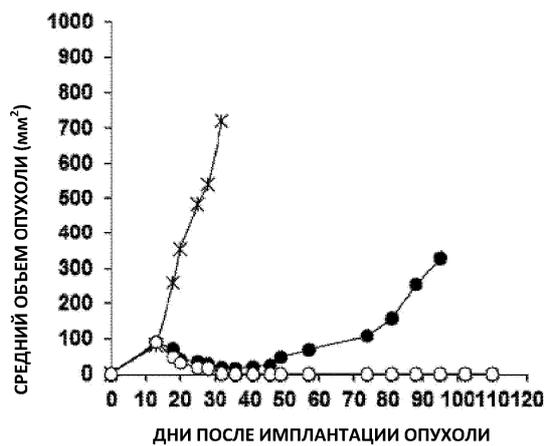
где Prot Sub представляет собой -ОН или CO_2H , предпочтительно защищенный.

8. Соединение по п.5, отличающееся тем, что LU-D представляет собой

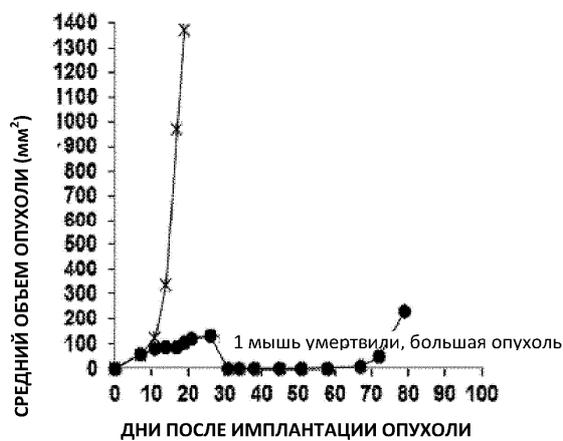


где Prot Sub представляет собой -ОН или CO_2H , предпочтительно защищенный, и волнистая линия означает место присоединения указанного атома к L.

9. Способ лечения пролиферативного заболевания, включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, терапевтически эффективного количества конъюгата по п.1.



Фиг. 1



Фиг. 2



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2