

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202092410 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.02.09

(51) Int. Cl. A61K 47/64 (2017.01)
A61K 31/4745 (2006.01)
A61K 31/513 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.04.05

(54) КОНЬЮГАТЫ КАМПТОТЕЦИНА С ПЕПТИДОМ

(31) 62/653,961

(72) Изобретатель:

(32) 2018.04.06

Джеффри Скотт, Лиски Райан, Райан
Морин, Кочран Джулия (US)

(33) US

(86) PCT/US2019/025968

(74) Представитель:

(87) WO 2019/195665 2019.10.10

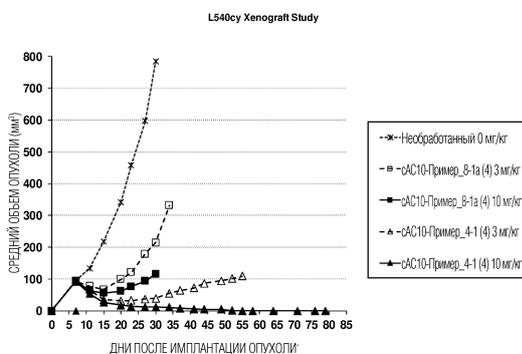
Медведев В.Н. (RU)

(71) Заявитель:

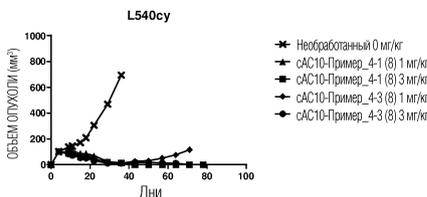
СИЭТЛ ДЖЕНЕТИКС, ИНК. (US)

(57) Настоящее изобретение относится к камптотециновым конъюгатам, соединениям камптотецин-линкер, камптотециновым соединениям, к их промежуточным соединениям и способу их получения. Также настоящее изобретение относится к способам лечения злокачественной опухоли и аутоиммунных заболеваний посредством конъюгатов, описанных в настоящем изобретении.

A



B



A1

202092410

202092410

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-564904EA/025

КОНЬЮГАТЫ КАМПТОТЕЦИНА С ПЕПТИДОМ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] По настоящей заявке испрашивается приоритет в соответствии с временной заявкой на патент США №62/653961, поданной 6 апреля 2018 г., которая полностью включена в настоящее описание посредством ссылки.

ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Настоящая заявка включает электронный перечень последовательностей в файле под названием 4500-00111_Sequence_Listing_ST25, созданном 18 июля 2019 г. и имеющем объем 14 Кбайт, который включен в настоящее описание посредством ссылки.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] Большой интерес представляет использование моноклональных антител (mAb) для направленной доставки цитотоксических средств к опухолевым клеткам. При том, что ряд различных классов лекарственных средств исследовали на предмет доставки посредством антител, только несколько классов лекарственных средств оказались достаточно активными в качестве конъюгатов “антитело-лекарственное средство”, имея при этом подходящий профиль токсичности, чтобы иметь основание для клинической разработки. Одним из представляющих интерес классов являются камптотецины.

[0004] Разработка конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC), с присоединением цитотоксического средства к антителу, обычно через линкер, включает рассмотрение множества факторов, включая наличие маркера конъюгации на лекарственном средстве для присоединения к линкеру и линкерную технологию для связывания лекарственного средства с антителом условно стабильным образом. Некоторые классы лекарственных средств, которые, как считалось, не имели соответствующих маркеров конъюгации, рассматривались в качестве непригодных для использования в качестве ADC. Хотя существует возможность модификации такого лекарственного средства, путем включения маркера конъюгации, такая модификация может отрицательно повлиять на профиль активности лекарственного средства.

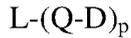
[0005] Линкеры, содержащие сложные эфиры и карбонаты, также обычно использовались для конъюгации спиртосодержащих лекарственных средств и обеспечивали получение ADC, имеющих изменчивую стабильность и профили высвобождения лекарственных средств. Неоптимальный профиль может привести к снижению активности ADC, недостаточной иммунологической специфичности конъюгата и повышенной токсичности вследствие неспецифического высвобождения лекарственного средства из конъюгата.

[0006] Следовательно, существует потребность в новых линкерных технологиях и конъюгатах, применяемых для таргетной терапии. Настоящее изобретение направлено на удовлетворение этих и других потребностей.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0007] Настоящее изобретение относится, среди прочего, к камптотециновым конъюгатам, соединениям камптотецин-линкер и камптотециновым соединениям, способам их получения и применения, а также к промежуточным соединениям, используемым в их получении. Камптотециновые конъюгаты по настоящему изобретению стабильны в кровотоке, но способны вызывать гибель клеток после высвобождения лекарственного средства из конъюгата, находящегося около или внутри опухолевых клеток.

[0008] В одном из основных вариантов осуществления изобретение относится к камптотециновому конъюгату, имеющему формулу:



или к его фармацевтически приемлемой форме, где

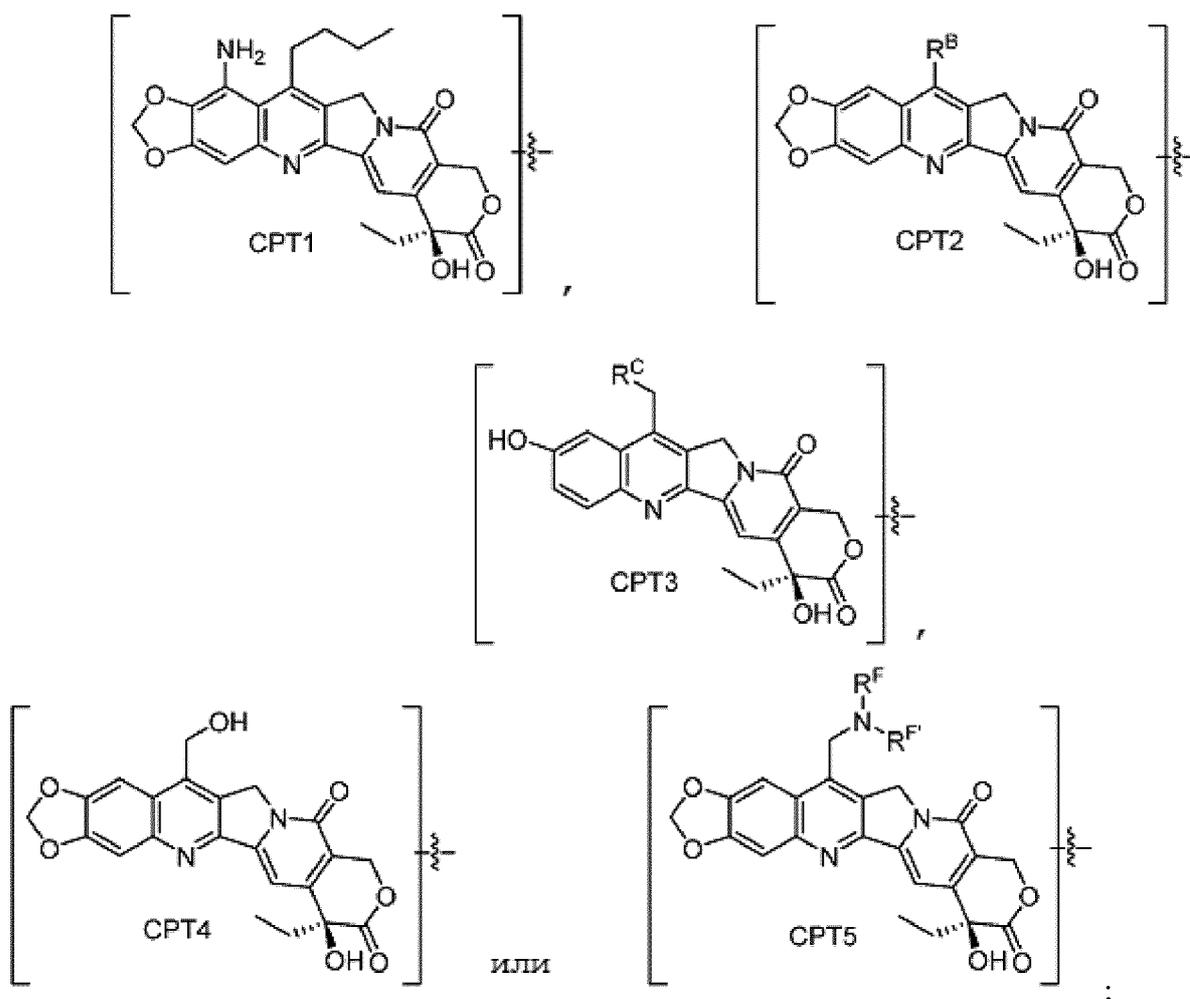
L представляет собой лигандную единицу;

Q представляет собой линкерную единицу, формула которой выбрана из группы, состоящей из:



где Z представляет собой единицу вставки, A представляет собой связь или соединительную единицу; L^P представляет собой единицу параллельного соединения; S^* представляет собой связь или разделительный агент; RL представляет собой пептид, содержащий от 2 до 8 аминокислот; и Y представляет собой спейсерную единицу;

D представляет собой группу лекарственного средства, выбранную из:



где

R^B представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из H, C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_8 галогеналкила, C_3 - C_8 циклоалкила, C_3 - C_8 циклоалкил C_1 - C_4 алкила, фенила и фенил C_1 - C_4 алкила;

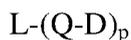
R^C представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из C_1 - C_6 алкила и C_3 - C_6 циклоалкила;

каждый R^F и $R^{F'}$ является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из H, C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_8 гидроксилалкила, C_1 - C_8 аминоалкила, C_1 - C_4 алкиламино C_1 - C_8 алкила, (C_1 - C_4 гидроксилалкил)(C_1 - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, ди(C_1 - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_4 гидроксилалкил C_1 - C_8 аминоалкила, C_2 - C_6 гетероалкила, C_1 - C_8 алкилC(O)-, C_1 - C_8 гидроксилалкилC(O)-, C_1 - C_8 аминоалкилC(O)-, C_3 - C_{10} циклоалкила, C_3 - C_{10} циклоалкил C_1 - C_4 алкила, C_3 - C_{10} гетероциклоалкила, C_3 - C_{10} гетероциклоалкил C_1 - C_4 алкила, фенила, фенил C_1 - C_4 алкила, дифенил C_1 - C_4 алкила, гетероарила и гетероарил C_1 - C_4 алкила; или R^F и $R^{F'}$ объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен, с образованием 5-, 6- или 7-членного кольца, имеющего от 0 до 3 заместителей, выбранных из галогена, C_1 - C_4 алкила, OH, OC $_1$ - C_4 алкила, NH $_2$, NHC $_1$ - C_4 алкила и N(C_1 - C_4 алкил) $_2$;

и где циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные фрагменты R^B , R^C , R^F и $R^{F'}$ замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1 - C_4 алкила, OH , OC_1 - C_4 алкила, NH_2 , NHC_1 - C_4 алкила и $N(C_1$ - C_4 алкил) $_2$; и p равно от приблизительно 1 до приблизительно 16;

где Q присоединен через любую из гидроксильных или аминогрупп, присутствующих на CPT1, CPT2, CPT3, CPT4 или CPT5.

[0009] В другом основном варианте осуществления изобретение относится к камптотециновому конъюгату, имеющему формулу:



или к его фармацевтически приемлемой соли, где

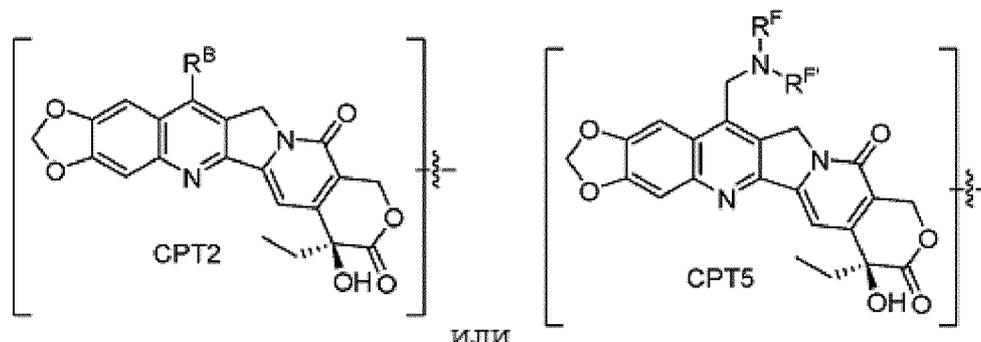
L представляет собой лигандную единицу;

Q представляет собой линкерную единицу, имеющую формулу, выбранную из группы, состоящей из:



где Z представляет собой единицу вставки, A представляет собой соединительную единицу; L^P представляет собой единицу параллельного соединения; S^* представляет собой связь или разделительный агент; RL представляет собой пептид, содержащий от 2 до 8 аминокислот; и Y представляет собой спейсерную единицу;

D представляет собой группу лекарственного средства, выбранную из группы, состоящей из:



где

R^B представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из $-H$, $-(C_1$ - $C_4)$ алкил- OH , C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_8 галогеналкила, C_3 - C_8 циклоалкила, C_3 - C_8 циклоалкил C_1 - C_4 алкила, фенила и фенил C_1 - C_4 алкила;

каждый R^F и $R^{F'}$ является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из H , C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_8 гидроксиалкила, C_1 - C_8 аминоалкила, C_1 - C_4 алкиламино C_1 - C_8 алкила, $(C_1$ - C_4 гидроксиалкил) $(C_1$ - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, ди $(C_1$ - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_4 гидроксиалкил C_1 - C_8 аминоалкила, C_2 - C_6 гетероалкила, C_1 - C_8 алкил $C(O)-$, C_1 - C_8 гидроксиалкил $C(O)-$, C_1 - C_8 аминоалкил $C(O)-$, C_3 - C_{10} циклоалкила, C_3 - C_{10} циклоалкил C_1 - C_4 алкила, C_3 - C_{10} гетероциклоалкила, C_3 - C_{10} гетероциклоалкил C_1 - C_4 алкила, фенила, фенил C_1 - C_4 алкила, дифенил C_1 - C_4 алкила, гетероарила и гетероарил C_1 - C_4 алкила; или R^F и $R^{F'}$ объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен, с образованием 5-, 6- или 7-

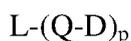
членного кольца, имеющего от 0 до 3 заместителей, выбранных из галогена, C₁-C₄ алкила, OH, OC₁-C₄ алкила, NH₂, NHC₁-C₄ алкила и N(C₁-C₄ алкил)₂;

и где циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные части R^B, R^C, R^F и R^{F'} замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C₁-C₄ алкила, OH, OC₁-C₄ алкила, NH₂, NHC₁-C₄ алкила и N(C₁-C₄ алкил)₂; и

p равно от приблизительно 1 до приблизительно 16;

где Q присоединен через любую из гидроксильных или аминогрупп, присутствующих на CPT2 или CPT5.

[0010] В еще одном основном варианте осуществления изобретение относится к камптотециновому конъюгату, имеющему формулу:



или к его фармацевтически приемлемой соли, где

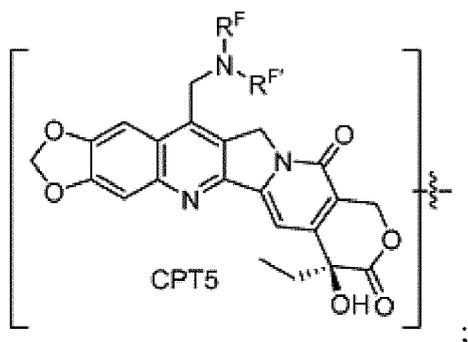
L представляет собой лигандную единицу;

Q представляет собой линкерную единицу, имеющую формулу, выбранную из группы, состоящей из:



где Z представляет собой единицу вставки, A представляет собой соединительную единицу; L^P представляет собой единицу параллельного соединения; S* представляет собой связь или разделительный агент; RL представляет собой пептид, содержащий от 2 до 8 аминокислот; и Y представляет собой спейсерную единицу;

D представляет собой группу лекарственного средства, имеющую следующую структурную формулу:



где

каждый R^F и R^{F'} является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из H, C₁-C₈ алкила, C₁-C₈ гидроксильного алкила, C₁-C₈ аминоалкила, C₁-C₄ алкиламиноC₁-C₈ алкила, (C₁-C₄ гидроксильного алкил)(C₁-C₄ алкил)аминоC₁-C₈ алкила, ди(C₁-C₄ алкил)аминоC₁-C₈ алкила, C₁-C₄ гидроксильного алкилC₁-C₈ аминоалкила, C₂-C₆ гетероалкила, C₁-C₈ алкилC(O)-, C₁-C₈ гидроксильного алкилC(O)-, C₁-C₈ аминоалкилC(O)-, C₃-C₁₀ циклоалкила, C₃-C₁₀циклоалкилC₁-C₄ алкила, C₃-C₁₀ гетероциклоалкила, C₃-C₁₀ гетероциклоалкилC₁-C₄ алкила, фенила, фенилC₁-C₄ алкила, дифенилC₁-C₄ алкила, гетероарила и гетероарилC₁-C₄ алкил; или R^F и R^{F'} объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен, с образованием 5-, 6- или 7-

членного кольца, имеющего от 0 до 3 заместителей, выбранных из галогена, C₁-C₄ алкила, OH, OC₁-C₄ алкила, NH₂, NHC₁-C₄ алкила и N(C₁-C₄ алкил)₂;

и где циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные фрагменты R^B, R^C, R^F и R^{F'} замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C₁-C₄ алкила, OH, OC₁-C₄ алкила, NH₂, NHC₁-C₄ алкила и N(C₁-C₄ алкил)₂; и

p равно от приблизительно 1 до приблизительно 16;

где Q присоединен через любую из гидроксильных или аминогрупп, присутствующих на CPT5.

[0011] Другими основными вариантами осуществления, как указано выше, являются соединения камптотецин-линкер, используемые в качестве промежуточных продуктов для получения конъюгатов камптотецин-линкер, причем соединение камптотецин-линкер состоит из камптотецина (D) и линкерной единицы (Q), где линкерная единица состоит из предшественника единицы вставки (Z'), способного образовывать ковалентную связь с нацеливающим лигандом, который обеспечивает лигандную единицу, и высвобождаемого линкера (RL), который представляет собой пептид, содержащий от 2 до 8 аминокислот.

[0012] В другом аспекте, изобретение относится к способам лечения злокачественной опухоли, включающим введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, камптотецинового конъюгата, описанного в настоящем документе.

[0013] В другом аспекте, изобретение относится к способам лечения злокачественной опухоли с использованием соединений камптотецин-линкер или камптотецинов, описанных в настоящем описании.

[0014] В другом аспекте, изобретение относится к наборам, содержащим камптотециновый конъюгат, описанный в настоящем описании.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0015] На **фигурах 1A и 1B** показан график среднего объема опухоли для модели подкожного ксенотрансплантата лимфомы Ходжкина (клетки L540cy) у мышей, в котором сравнивается активность пептидных камптотециновых ADC.

[0016] На **фигуре 2** показан эффект пептидных камптотециновых ADC на средний объем опухоли для модели подкожного ксенотрансплантата почечно-клеточного рака (клетки 786-O) у мышей.

[0017] На **фигурах 3A-3C** показаны результаты модели подкожного ксенотрансплантата опухоли анапластической крупноклеточной лимфомы с клетками неканонического фенотипа Karpas 299/Karpas299-BVR.

[0018] На **фигурах 4A-4D** показана активность CD30-направленных камптотециновых ADC в DelBVR модели.

[0019] На **фигурах 5A и 5B** показана активность CD30-направленных камптотециновых ADC и сравнение с брентуксимаб ведином в DelBVR модели.

[0020] На **фигуре 6** показаны активности CD30-направленных камптотециновых ADC в Karpas 299 модели при однократном и повторном дозировании.

[0021] На **фигурах 7А и 7В** показана активность CD30-направленных камптотециновых ADC в L428 модели при однократном и повторном дозировании.

[0022] На **фигуре 8** показана активность CD30-направленных камптотециновых ADC в модели DEL-15 с использованием различных доз.

[0023] На **фигуре 9** показана активность CD30-направленных камптотециновых ADC в L82 модели.

[0024] На **фигуре 10** показаны результаты исследования стабильности ADC в плазме мышей.

[0025] На **фигуре 11** показан фармакокинетический профиль ADC IgG mAb и IgG-камптотецин у крыс линии Sprague-Dawley.

[0026] На **фигуре 12** показаны результаты анализа захвата ADC клетками Купфера.

[0027] На **фигуре 13** показаны результаты гидрофобной хроматографии с неконъюгированным моноклональным антителом сAC10 и CD30-направленными камптотециновыми ADC.

[0028] На **фигурах 14А и 14В** показывают результаты высвобождения лекарственного средства *in vitro* из CD30-направленных камптотециновых ADC в клеточной линии ALCL Karpas 299 и клеточной линии HL L540cy соответственно.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Определения

[0029] Если не указано иное, следующие термины и фразы, используемые в настоящем описании, имеют следующие значения. В случае, когда в настоящем описании используются товарные наименования, товарное наименование включает состав продукта, лекарственное средство-дженерик и активный фармацевтический ингредиент(ы) продукта с товарным наименованием, если иное не указано в контексте.

[0030] Используемый в настоящем описании термин “антитело” используется в самом широком смысле и конкретно охватывает интактные моноклональные антитела, поликлональные антитела, моноспецифические антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела) и фрагменты антител, которые проявляют желаемую биологическую активность. Нативная форма антитела представляет собой тетрамер и состоит из двух идентичных пар цепей иммуноглобулина, причем каждая пара имеет одну легкую цепь и одну тяжелую цепь. В каждой паре переменные области легкой и тяжелой цепей (VL и VH) вместе в первую очередь отвечают за связывание с антигеном. Переменные домены легкой и тяжелой цепи состоят из каркасной области, прерванной тремя гиперпеременными участками, также называемыми “определяющими комплементарность областями” или “CDR”. Константные области могут распознаваться иммунной системой и взаимодействовать с ней. (см., например, Janeway et al., 2001, Immunol. Biology, 5th Ed., Garland Publishing, New York). Антитело может быть любого типа (например, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA), класса (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подкласса. Антитело может происходить из любого подходящего вида. В некоторых вариантах осуществления, антитело имеет человеческое или мышиное

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

[0031] Термин “моноклональное антитело”, используемый в настоящем описании, относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, т.е. отдельные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными, за исключением возможных встречающихся в естественных условиях мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела являются высокоспецифичными, направленными против одной области детерминанты. Определение “моноклональное” указывает на природу антитела как получаемого из по существу гомогенной популяции антител, при этом не требуется, чтобы оно было создано каким-либо конкретным методом.

[0032] “Интактное антитело” представляет собой антитело, которое включает антигенсвязывающую переменную область, а также константный домен легкой цепи (C_L) и константные домены тяжелой цепи, C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} и C_{H4} , в зависимости от класса антител. Константные домены могут иметь нативную последовательность константных доменов (например, нативные последовательности константных доменов иммуноглобулина человека) или варианты их аминокислотных последовательностей.

[0033] “Фрагмент антитела” включает часть интактного антитела, содержащую его антигенсвязывающую или переменную область. Примеры фрагментов антитела включают фрагменты Fab, Fab', F(ab')₂ и Fv антитела, триатела, тетратела, линейные антитела, одноцепочечные молекулы антитела, scFv, scFv-Fc, мультиспецифичные фрагменты антитела, образованные из фрагмента(ов) антитела, фрагмент(ы), продуцируемый(е) библиотекой экспрессии Fab, или эпитопсвязывающие фрагменты любого из вышеуказанного, которые иммуноспецифически связываются с антигеном-мишенью (например, антигеном злокачественной клетки, вирусным антигеном или микробным антигеном).

[0034] “Антиген” представляет собой вещество, с которым специфически связывается антитело.

[0035] Термины “специфическое связывание” и “специфически связывается” означают, что антитело или производное антитела будет связываться высокоселективным образом с соответствующим эпитопом антигена-мишени, а не со множеством других антигенов. Обычно антитело или производное антитела связывается с аффинностью составляющей по меньшей мере около 1×10^{-7} М, и предпочтительно 10^{-8} М - 10^{-9} М, 10^{-10} М, 10^{-11} М или 10^{-12} М, и связывается с заранее установленным антигеном с аффинностью, которая по меньшей мере в два раза больше по сравнению с его аффинностью в отношении связывания с неспецифическим антигеном (например, бычьим сывороточным альбумином (BSA), казеином), отличным от заранее установленного антигена или близкородственного антигена.

[0036] Термин “ингибировать” или “ингибирование” означает уменьшать на измеримую величину или полностью предотвращать.

[0037] Термин “терапевтически эффективное количество” относится к количеству конъюгата, эффективному для лечения заболевания или нарушения у млекопитающего. В случае злокачественной опухоли, терапевтически эффективное количество конъюгата может снизить количество злокачественных клеток; уменьшить размер опухоли; подавлять (т.е. замедлять до некоторой степени и предпочтительно останавливать) инфильтрацию злокачественных клеток в периферические органы; подавлять (то есть до некоторой степени замедлять и предпочтительно останавливать) метастазирование опухоли; подавлять до некоторой степени рост опухоли; и/или облегчить до некоторой степени один или несколько симптомов, связанных со злокачественной опухолью. В той степени, в которой лекарство может подавлять рост и/или уничтожать существующие злокачественные клетки, оно может быть цитостатическим и/или цитотоксическим. Для лечения злокачественной опухоли эффективность может быть определена, например, путем оценки времени до прогрессирования заболевания (ТТР) и/или определения скорости ответа (RR).

[0038] Термин “существенный” или “в значительной степени” относится к большинству, т.е. >50% популяции, смеси или образца, предпочтительно более 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% популяции.

[0039] Термин “цитотоксическая активность” относится к уничтожающему клетки эффекту лекарственного средства или камптотецинового конъюгата или внутриклеточного метаболита камптотецинового конъюгата. Цитотоксическая активность может быть выражена в виде значения IC_{50} , которое равно концентрации (молярной или массовой) на единицу объема, при которой выживает половина клеток.

[0040] Термин “цитостатическая активность” относится к антипролиферативному эффекту лекарственного средства или камптотецинового конъюгата или внутриклеточного метаболита камптотецинового конъюгата.

[0041] Используемый в настоящем описании термин “цитотоксическое средство” относится к веществу, которое обладает цитотоксической активностью и вызывает разрушение клеток. Термин предназначен для включения химиотерапевтических средств и токсинов, таких как низкомолекулярные токсины или ферментативно активные токсины бактериального, грибкового, растительного или животного происхождения, включая их синтетические аналоги и производные.

[0042] Используемый в настоящем описании термин “цитостатическое средство” относится к веществу, которое ингибирует функцию клеток, включая рост или размножение клеток. Цитостатические средства включают ингибиторы, такие как ингибиторы белка, например ингибиторы ферментов. Цитостатические средства обладают цитостатической активностью.

[0043] Термины “злокачественная опухоль” и “злокачественный” относятся или описывают физиологическое состояние или расстройство у млекопитающих, которое

обычно характеризуется нерегулируемым ростом клеток. “Опухоль” включает одну или несколько злокачественных клеток.

[0044] Используемый в настоящем описании термин “аутоиммунное заболевание” относится к заболеванию или расстройству, возникающему из собственных тканей или белков субъекта и направленных против них.

[0045] Используемый в настоящем описании термин “пациент” относится к субъекту, которому вводят камптотециновый конъюгат по настоящему изобретению. Пациент включает, но ими не ограничиваясь, человека, крысу, мышь, морскую свинку, нечеловекообразного примата, свинью, козу, корову, лошадь, собаку, кошку, птицу и домашнюю птицу. Обычно пациентом является крыса, мышь, собака, человек или нечеловекообразный примат, более типично человек.

[0046] Термины “лечить” или “лечение”, если иное не указано в контексте, относятся к терапевтическому лечению и профилактике, целью которых является подавление или замедление (уменьшение) нежелательных физиологических изменений или расстройств, таких как развитие или распространение злокачественной опухоли. Для целей настоящего изобретения, благоприятные или желаемые клинические результаты включают, без ограничения, облегчение симптомов, минимизацию степени заболевания, стабилизированное (то есть не ухудшающееся) состояние заболевания, задержку или замедление прогрессирования заболевания, улучшение или облегчение болезненного состояния и ремиссию (частичную или полную), неважно может ли это быть обнаружено или нет. “Лечение” также может означать продление выживаемости по сравнению с ожидаемой выживаемостью в случае, если лечение не проводится. Субъекты, нуждающиеся в лечении, включают тех, кто уже имеет состояние или расстройство, а также тех, кто склонен к этому состоянию или расстройству.

[0047] В контексте злокачественной опухоли, термин “лечение” включает любой или все из следующих эффектов: уничтожение опухолевых клеток; ингибирование роста опухолевых клеток, злокачественных клеток или опухоли; ингибирование репликации опухолевых клеток или злокачественных клеток, уменьшение общей опухолевой нагрузки или уменьшение количества злокачественных клеток и уменьшение интенсивности одного или нескольких симптомов, связанных с заболеванием.

[0048] В контексте аутоиммунного заболевания, термин “лечение” включает любой или все из следующих эффектов: ингибирование репликации клеток, ассоциированных с аутоиммунным болезненным состоянием, включая, но ими не ограничиваясь, клетки, которые продуцируют аутоиммунные антитела, уменьшение нагрузки аутоиммунными антителами и уменьшение интенсивности одного или нескольких симптомов аутоиммунного заболевания.

[0049] Используемый в настоящем описании термин “фармацевтически приемлемая форма” относится к форме описываемого соединения, включая, но ими не ограничиваясь, фармацевтически приемлемые соли, сложные эфиры, гидраты, сольваты, полиморфы, изомеры, пролекарства и их изотопно-меченные производные. В одном из

вариантов осуществления, “фармацевтически приемлемая форма” включает, но ими не ограничиваясь, фармацевтически приемлемые соли, сложные эфиры, пролекарства и их изотопно-меченые производные. В некоторых вариантах осуществления, “фармацевтически приемлемая форма” включает, но ими не ограничиваясь, фармацевтически приемлемые изомеры и стереоизомеры, пролекарства и их изотопно-меченые производные.

[0050] В некоторых вариантах осуществления, фармацевтически приемлемая форма представляет собой фармацевтически приемлемую соль. Используемый в настоящем описании термин “фармацевтически приемлемая соль” относится к фармацевтически приемлемым органическим или неорганическим солям соединения (например, лекарственное средство, лекарственное средство-линкер или камптотециновый конъюгат). В некоторых аспектах соединение может содержать, по меньшей мере, одну аминогруппу, и, соответственно, с аминогруппой могут быть образованы соли присоединения кислоты. Примеры солей включают, но ими не ограничиваются, сульфат, трифторацетат, цитрат, ацетат, оксалат, хлорид, бромид, йодид, нитрат, бисульфат, фосфат, кислый фосфат, изоникотинат, лактат, салицилат, кислый цитрат, тартрат, олеат, таннат, пантотенат, битартрат, аскорбат, сукцинат, малеат, гентизинат, фумарат, глюконат, глюкуронат, сахарат, формиат, бензоат, глутамат, метансульфонат, этансульфонат, бензолсульфонат, пара-толуолсульфонат и памоат (то есть 1,1'-метиленис-(2-гидрокси-3-нафтоат)). Фармацевтически приемлемая соль может охватывать включение других молекул, таких как ацетатный ион, сукцинатный ион или другой противоион. Противоион может представлять собой любую органическую или неорганическую группу, которая стабилизирует заряд исходного соединения. Кроме того, фармацевтически приемлемая соль может иметь более одного загруженного атома в своей структуре. В случаях множества загруженных атомов, фармацевтически приемлемая соль может иметь множество противоионов. Поэтому, фармацевтически приемлемая соль может иметь один или более загруженных атомов и/или один или более противоионов.

[0051] Линкерная единица представляет собой бифункциональную группу, которая связывает камптотетин с лигандной единицей в камптотециновом конъюгате. Линкерные единицы по настоящему изобретению имеют несколько компонентов (например, единица вставки, которая в некоторых вариантах осуществления будет иметь основную группу; соединительную единицу, которая может присутствовать или отсутствовать; единицу параллельного соединения, которая также может присутствовать или отсутствовать; пептидную отделяемую связывающую группу; и спейсерную единицу, которая также может присутствовать или отсутствовать).

[0052] Используемый в настоящем описании термин “PEG группа”, представляет собой органический фрагмент, состоящий из повторяющихся этиленокси субъединиц (PEG или PEG-субъединицы), и может быть полидисперсной, монодисперсной или дискретной (т.е. имеющей дискретное количество этиленокси субъединиц). Полидисперсные ПЭГ представляют собой гетерогенную смесь молекул с различными

размерами и молекулярными массами, тогда как монодисперсные ПЭГ, как правило, очищают из гетерогенных смесей и, следовательно, имеют одну длину цепи и молекулярную массу. Предпочтительные ПЭГ группы включают дискретные ПЭГ, соединения, которые синтезируются поэтапно, а не посредством процесса полимеризации. Дискретные ПЭГ представляют одну молекулу с определенной и специфической длиной цепи.

[0053] ПЭГ группа по изобретению включает одну или несколько полиэтиленгликолевых цепей, каждая из которых состоит из одной или нескольких этиленокси субъединиц, ковалентно связанных друг с другом. Полиэтиленгликолевые цепи могут быть связаны вместе, например, с формированием линейной, разветвленной или звездообразной конфигурации. Как правило, по крайней мере одна из полиэтиленгликолевых цепей, перед включением в камптотециновый конъюгат, дериватизируется на одном конце алкильного фрагмента, замещенного электрофильной группой для ковалентного присоединения к карбаматному азоту метилен карбаматной группы (т.е. представляет собой пример R). Обычно концевая этиленокси субъединица в каждой полиэтиленгликолевой цепи, не участвующая в ковалентном присоединении к оставшейся части линкерной единицы, модифицируется с помощью ПЭГ блокирующей группы, как правило, необязательно замещенного алкила, такого как $-\text{CH}_3$, CH_2CH_3 или $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$. Предпочтительная ПЭГ группа имеет одну полиэтиленгликолевую цепь с 2-24 субъединицами $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, ковалентно последовательно присоединенными и заканчивающимися на одном конце ПЭГ блокирующей группой.

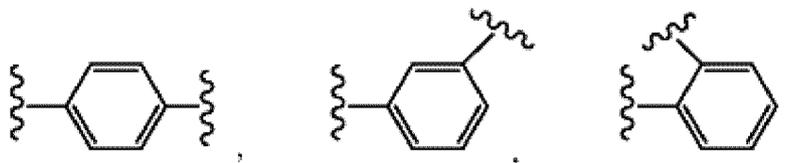
[0054] Если не указано иное, термин “алкил” сам по себе или как часть другого термина относится к замещенному или незамещенному прямому или разветвленному, насыщенному или ненасыщенному углеводороду, имеющему указанное число атомов углерода (например, “ $-\text{C}_1\text{-C}_8$ алкил” или “ $-\text{C}_1\text{-C}_{10}$ ” алкил относится к алкильной группе, имеющей от 1 до 8 или от 1 до 10 атомов углерода соответственно). Когда количество атомов углерода не указано, алкильная группа содержит от 1 до 8 атомов углерода. Типичные “ $-\text{C}_1\text{-C}_8$ алкильные” группы с прямой цепью включают, но ими не ограничиваются, -метил, -этил, -н-пропил, -н-бутил, -н-пентил, -н-гексил, -н-гептил и -н-октил; в то время как разветвленные $-\text{C}_3\text{-C}_8$ алкилы включают, но ими не ограничиваются, -изопропил, -втор-бутил, -изобутил, -трет-бутил, -изопентил и -2-метилбутил; ненасыщенные $-\text{C}_2\text{-C}_8$ -алкилы включают, но ими не ограничиваются, -винил, -аллил, -1-бутенил, -2-бутенил, -изобутиленил, -1-пентенил, -2-пентенил, -3-метил-1-бутенил, -2-метил-2-бутенил, -2,3-диметил-2-бутенил, -1-гексил, 2-гексил, -3-гексил, -ацетиленил, -пропинил, -1-бутинил, -2-бутинил, -1-пентинил, -2-пентинил и -3-метил-1-бутинил. в некоторых случаях алкильная группа незамещена. Алкильная группа может быть замещена одной или несколькими группами. В других аспектах алкильная группа будет насыщенной.

[0055] Если не указано иное, “алкилен” сам по себе как часть другого термина относится к замещенному или незамещенному насыщенному, разветвленному или

линейному углеводородному радикалу или циклическому углеводородному радикалу с определенным числом атомов углерода, обычно 1-10 атомов углерода, и имеющему два одновалентных радикальных центра, образованных удалением двух атомов водорода от одного и того же или двух разных атомов углерода исходного алкана. Типичные алкиленовые радикалы включают, но ими не ограничиваются: метилен ($-\text{CH}_2-$), 1,2-этилен ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 1,3-пропилен ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 1,4-бутилен ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$) и тому подобное. В предпочтительных аспектах, алкилен представляет собой углеводород с разветвленной или прямой цепью (т.е. он не является циклическим углеводородом).

[0056] Если не указано иное, “арил”, сам по себе или как часть другого термина, означает замещенный или незамещенный одновалентный карбоциклический ароматический углеводородный радикал с определенным числом атомов углерода, обычно 6-20 атомов углерода, полученный путем удаления одного атома водорода от одиночного атома углерода из исходной ароматической кольцевой системы. Некоторые арильные группы представлены в иллюстративных структурах как “Ar”. Типичные арильные группы включают, но ими не ограничиваются, радикалы, полученные из бензола, замещенного бензола, нафталина, антрацена, бифенила и тому подобное. Типичной арильной группой является фенильная группа.

[0057] Если не указано иное, “арилен”, сам по себе или как часть другого термина, представляет собой арильную группу, как определено выше, которая имеет две ковалентные связи (т.е. двухвалентная) и может находиться в орто-, мета- или пара-ориентации, как показано в следующих структурах, с фенилом в качестве иллюстративной группы:



[0058] Если не указано иное, “гетероцикл C_3-C_8 ”, сам по себе или как часть другого термина, относится к одновалентной замещенной или незамещенной ароматической или неароматической моноциклической или бициклической кольцевой системе, содержащей от 3 до 8 атомов углерода (также называемые членами кольца) и от одного до четырех гетероатомных членов кольца, независимо выбранных из N, O, P или S, и полученных удалением одного атома водорода от кольцевого атома из исходной кольцевой системы. Один или несколько атомов N, S или P в гетероцикле могут быть окислены. Кольцо, которое включает гетероатом, может быть ароматическим или неароматическим. Гетероциклы, в которых все кольцевые атомы вовлечены в ароматичность, называются гетероариллами, в противном случае называются гетерокарбоциклами. Если не указано иное, гетероцикл присоединен к своей боковой группе у любого гетероатома или атома углерода, что обеспечивает стабильную структуру. Как таковой гетероарил может быть связан через ароматический углерод своей ароматической кольцевой системы,

называемый С-связанным гетероарилом, или через атом азота, несоединенный двойной связью (т.е. не =N-), в своей ароматической кольцевой системе, которую называют N-связанным гетероарилом. Таким образом, азотсодержащие гетероциклы могут быть С-связанными или N-связанными и включать пиррольные фрагменты, такие как пиррол-1-ил (N-связанный) и пиррол-3-ил (С-связанный), и имидазольные фрагменты, такие как имидазол-1-ил и имидазол-3-ил (оба N-связанные), а также имидазол-2-ильный, имидазол-4-ильный и имидазол-5-ильный фрагменты (каждый из которых является С-связанным).

[0059] Если не указано иное, “С₃-С₈ гетероарил” представляет собой ароматический С₃-С₈ гетероцикл, в котором нижний индекс обозначает общее количество атомов углерода в циклической кольцевой системе гетероцикла или общее количество ароматических атомов углерода в ароматической кольцевой системе гетероарила и не подразумевает размер кольцевой системы или наличие или отсутствие конденсации колец. Типичные примеры гетероцикла С₃-С₈ включают, но ими не ограничиваются, пирролидинил, азетидинил, пиперидинил, морфолинил, тетрагидрофуранил, тетрагидропиранил, бензофуранил, бензотиофен, индолил, бензофуранил, бензотиофен, индолил, бензопиразолил, пирролил, тиофенил (тиофен), фуранил, тиазолил, имидазолил, пиразолил, пиримидинил, пиридинил, пиразинил, пиридазинил, изотиазолил и изоксазолил. Если указан явно, размер кольцевой системы гетероцикла или гетероарила обозначается общим количеством атомов в кольце. Например, обозначение в виде 5- или 6-членного гетероарила указывает на общее количество ароматических атомов (т.е. 5 или 6) в гетероароматической кольцевой системе гетероарила, но не подразумевает количество ароматических гетероатомов или ароматических атомов углерода в этой кольцевой системе. Конденсированные гетероарилы явно указаны или подразумеваются контекстом как таковым и обычно обозначаются количеством ароматических атомов в каждом ароматическом кольце, которые конденсируются вместе с образованием конденсированной гетероароматической кольцевой системы. Например, 5,6-членный гетероарил представляет собой ароматическое 5-членное кольцо, конденсированное с ароматическим 6-членным кольцом, в котором одно или оба кольца имеют ароматический(ие) гетероатом(ы) или где гетероатом является общим для двух колец.

[0060] Гетероцикл, конденсированный с арилом или гетероарилом таким образом, что гетероцикл остается неароматическим и является частью более крупной структуры посредством присоединения к неароматической части конденсированной кольцевой системы, является примером необязательно замещенного гетероцикла, в котором гетероцикл замещен путем конденсирования кольца с арилом или гетероарилом. Аналогичным образом, арил или гетероарил, конденсированный с гетероциклом или карбоциклом, который является частью более крупной структуры посредством присоединения к ароматической части конденсированной кольцевой системы, является примером необязательно замещенного арила или гетероцикла, в котором арил или гетероцикл замещен путем конденсирования кольца с гетероциклом или карбоциклом.

[0061] Если не указано иное, “C₃-C₈ гетероцикло” сам по себе или как часть другого термина относится к C₃-C₈ гетероциклу, определенному выше, в котором один из атомов водорода гетероцикла заменен связью (т.е. является двухвалентным). Если не указано иное, “C₃-C₈ гетероарилен” сам по себе или как часть другого термина относится к C₃-C₈ гетероарильной группе, определенной выше, в которой один из атомов водорода гетероарильной группы заменен связью (т.е. является двухвалентной).

[0062] Если не указано иное, “C₃-C₈ карбоцикл”, сам по себе или как часть другого термина, представляет собой 3-, 4-, 5-, 6-, 7- или 8-членное одновалентное замещенное или незамещенное, насыщенное или ненасыщенное неароматическое моноциклическое или бициклическое карбоциклическое кольцо, образованное удалением одного атома водорода от кольцевого атома из исходной кольцевой системы. Типичные -C₃-C₈ карбоциклы включают, но ими не ограничиваются, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклопентадиенил, циклогексил, циклогексенил, 1,3-циклогексадиенил, 1,4-циклогексадиенил, циклогептил, 1,3-циклогептадиенил, 1,3,5-циклогептатриенил, циклооктил и циклооктадиенил.

[0063] Если не указано иное, “C₃-C₈ карбоцикло”, сам по себе или как часть другого термина, относится к C₃-C₈ карбоциклической группе, определенной выше, в которой один из атомов водорода карбоциклической группы заменен связью (т.е. является двухвалентной).

[0064] Если не указано иное, термин “гетероалкил”, сам по себе или в сочетании с другим термином, означает, если не указано иное, стабильный углеводород с прямой или разветвленной цепью или их сочетанием, полностью насыщенный или содержащий от 1 до 3 степеней ненасыщенности, состоящий из указанного количества атомов углерода и от одного до десяти, предпочтительно от одного до трех, гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, Si и S, и где атомы азота и серы необязательно могут быть окислены, и гетероатом азота может необязательно быть кватернизованным. Гетероатом(ы) O, N и S могут находиться в любом внутреннем положении гетероалкильной группы или в положении, в котором алкильная группа присоединена к остальной части молекулы. Гетероатом Si может находиться в любом положении гетероалкильной группы, включая положение, в котором алкильная группа присоединена к остальной части молекулы. Примеры включают -CH₂-CH₂-O-CH₃, -CH₂-CH₂-NH-CH₃, -CH₂-CH₂-N(CH₃)-CH₃, -CH₂-S-CH₂-CH₃, -CH₂-CH₂-S(O)-CH₃, -NH-CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₂-CH₃, -CH₂-CH₂-S(O)₂-CH₃, -CH=CH-O-CH₃, -Si(CH₃)₃, -CH₂-CH=N-O-CH₃ и -CH=CH-N(CH₃)-CH₃. До двух гетероатомов могут быть последовательными, например, -CH₂-NH-OCH₃ и -CH₂-O-Si(CH₃)₃. Обычно C₁ - C₄ гетероалкил или гетероалкилен содержит от 1 до 4 атомов углерода и 1 или 2 гетероатома, и C₁ - C₃ гетероалкил или гетероалкилен имеет от 1 до 3 атомов углерода и 1 или 2 гетероатома. В некоторых аспектах гетероалкил или гетероалкилен являются насыщенными.

[0065] Если не указано иное, термин “гетероалкилен”, сам по себе или в сочетании с другим термином, означает двухвалентную группу, полученную из гетероалкила (как

описано выше), например $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ и $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$. В случае гетероалкиленовых групп, гетероатомы могут также занимать любой или оба конца цепи. Кроме того, в случае алкиленовых и гетероалкиленовых связывающих групп, ориентация связывающей группы не предполагается.

[0066] Если не указано иное, “аминоалкил”, сам по себе или в сочетании с другим термином, означает гетероалкил, в котором алкильная часть, как определено в настоящем описании, замещена аминами, алкиламинами, диалкиламинами или циклоалкиламинами группой. Типичные неограничивающие аминоалкилы представляют собой $-\text{CH}_2\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_3$ и $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ и, кроме того, включают разветвленные молекулы, такие как $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{NH}_2$ и $-\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{NH}_2$ в (R)- или (S)- конфигурации. Альтернативно, аминоалкил представляет собой алкильный фрагмент, группу или заместитель, определенный в настоящем описании, где атом углерода в состоянии sp^3 , отличный от углерода радикала, заменен аминами- или алкиламинами фрагментом, в котором его азот в состоянии sp^3 заменяет углерод в состоянии sp^3 в алкиле при условии, что остается, по крайней мере, один углерод в состоянии sp^3 . При ссылке на аминоалкильный фрагмент в качестве заместителя более крупной структуры или другого фрагмента, аминоалкил ковалентно присоединен к структуре или фрагменту через углеродный радикал алкильного фрагмента аминоалкила.

[0067] Если не указано иное, “алкиламино” и “циклоалкиламино”, сами по себе или в сочетании с другим термином, означают алкильный или циклоалкильный радикал, описанный в настоящем описании, где углерод радикала алкильного или циклоалкильного радикала заменен радикалом азота, при условии, остается, по крайней мере, один углерод в состоянии sp^3 . В тех случаях, когда алкиламино замещен на своем атоме азота другим алкильным фрагментом, полученный замещенный радикал в некоторых случаях называют диалкиламино-фрагментом, группой или заместителем, где алкильные фрагменты, замещающие азот, выбраны независимо. Типичные и неограничивающие аминами, алкиламинами и диалкиламинами заместители включают заместители, имеющие структуру $-\text{N}(\text{R}')_2$, где R' в этих примерах независимо выбран из водорода или C_{1-6} алкила, обычно водорода или метила, тогда как в циклоалкиламинах, которые включены в гетероциклоалкилы, оба R' вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют гетероциклическое кольцо. В случае, когда оба R' представляют собой водород или алкил, фрагмент в некоторых случаях описывается как первичная аминогруппа и группа третичного амина соответственно. В случае, когда один R' представляет собой водород, а другой представляет собой алкил, тогда фрагмент в некоторых случаях описывается как вторичная аминогруппа. Первичные и вторичные алкиламинофрагменты более реакционноспособны как нуклеофилы по отношению к карбонилсодержащим электрофильным центрам, тогда как третичные амины являются более основными.

[0068] “Замещенный алкил” и “замещенный арил” означают алкил и арил, соответственно, в которых один или несколько атомов водорода, обычно один, каждый независимо замещен заместителем. Типичные заместители включают, но ими не

ограничиваются, $-X$, $-R'$, $-OH$, $-OR'$, $-SR'$, $-N(R')_2$, $-N(R')_3$, $=NR'$, $-CX_3$, $-CN$, $-NO_2$, $-NR'C(=O)R'$, $-C(=O)R'$, $-C(=O)N(R')_2$, $-S(=O)_2R'$, $-S(=O)_2NR'$, $-S(=O)R'$, $-OP(=O)(OR')_2$, $-P(=O)(OR')_2$, $-PO_3^-$, PO_3H_2 , $-C(=O)R'$, $-C(=S)R'$, $-CO_2R'$, $-CO_2^-$, $-C(=S)OR'$, $-C(=O)SR'$, $-C(=S)SR'$, $-C(=O)N(R')_2$, $-C(=S)N(R')_2$ и $-C(=NR)N(R')_2$, где каждый X независимо выбран из группы, состоящей из галогена: $-F$, $-Cl$, $-Br$ и $-I$; и где каждый R' независимо выбран из группы, состоящей из $-H$, $-C_1-C_{20}$ -алкила, $-C_6-C_{20}$ -арила, $-C_3-C_{14}$ -гетероцикла, защитной группы и фрагмента пролекарства.

[0069] Более типично заместители выбраны из группы, состоящей из $-X$, $-R'$, $-OH$, $-OR'$, $-SR'$, $-N(R')_2$, $-N(R')_3$, $=NR'$, $-NR'C(=O)R'$, $-C(=O)R'$, $-C(=O)N(R')_2$, $-S(=O)_2R'$, $-S(=O)_2NR'$, $-S(=O)R'$, $-C(=O)R'$, $-C(=S)R'$, $-C(=O)N(R')_2$, $-C(=S)N(R')_2$ и $-C(=NR)N(R')_2$, где каждый X независимо выбран из группы, состоящей из $-F$ и $-Cl$, или выбран из группы, состоящей из $-X$, $-R'$, $-OH$, $-OR'$, $-N(R')_2$, $-N(R')_3$, $-NR'C(=O)R'$, $-C(=O)N(R')_2$, $-S(=O)_2R'$, $-S(=O)_2NR'$, $-S(=O)R'$, $-C(=O)R'$, $-C(=O)N(R')_2$, $-C(=NR)N(R')_2$, защитной группы и фрагмента пролекарства, где каждый X представляет собой $-F$; и где каждый R' независимо выбран из группы, состоящей из водорода, $-C_1-C_{20}$ -алкила, $-C_6-C_{20}$ -арила, $-C_3-C_{14}$ -гетероцикла, защитной группы и фрагмента пролекарства. В некоторых аспектах, алкильный заместитель выбран из группы, состоящей из $-N(R')_2$, $-N(R')_3$ и $-C(=NR)N(R')_2$, где R' выбран из группы, состоящей из водорода и $-C_1-C_{20}$ алкила. В других аспектах, алкил замещен рядом этиленокси фрагментов для определения ПЭГ группы. Группы алкилен, карбоцикл, карбоцикло, арилен, гетероалкил, гетероалкилен, гетероцикл, гетероцикло, гетероарил и гетероарилен, описанные выше, также могут быть замещены аналогичным образом.

[0070] Используемый в настоящем описании термин “защитная группа” означает часть, которая предотвращает или снижает способность атома или функциональной группы, с которой она связана, участвовать в нежелательных взаимодействиях. Типичные защитные группы для атомов или функциональных групп описаны в Greene (1999), “Protective Groups In Organic Synthesis, 3rd Ed.”, Wiley Interscience. В некоторых случаях используются защитные группы для гетероатомов, таких как кислород, сера и азот, чтобы минимизировать или избежать их нежелательных взаимодействий с электрофильными соединениями. В других случаях защитная группа используется для уменьшения или устранения нуклеофильности и/или основности незащищенного гетероатома. Неограничивающие примеры защищенного кислорода представлены в виде $-OR^{PR}$, где R^{PR} представляет собой защитную группу для гидроксила, где гидроксил обычно защищен в виде сложного эфира (например, ацетата, пропионата или бензоата). Другие защитные группы для гидроксила избегают влияния в отношении нуклеофильности металлоорганических реагентов или других высокоосновных реагентов, где гидроксил обычно защищен в виде сложного эфира, включая алкиловые или гетероциклоалкиловые эфиры (например, метиловый или тетрагидропираниловый эфиры), алкоксиметиловые эфиры (например, метоксиметиловый или этоксиметиловые эфиры), необязательно замещенные ариловые эфиры и силиловые эфиры (например, триметилсилил (TMS),

триэтилсилил (TES), трет-бутилдифенилсилил (TBDPS), трет-бутилдиметилсилил (TBS/TBDMS), триизопропилсилил (TIPS) и [2-(триметилсилил) этокси]метилсилил (SEM)). Азотзащитные группы включают группы для первичных или вторичных аминов, как в $-NHR^{PR}$ или $-N(R^{PR})_2$, где, по крайней мере, один из RPR представляет собой защитную группу для атома азота, или оба R^{PR} вместе представляют защитную группу.

[0071] Защитная группа является подходящей, когда она способна предотвратить или устранять нежелательные побочные реакции или преждевременную потерю защитной группы в реакционных условиях, необходимых для осуществления желаемого химического превращения в другом месте молекулы, а также во время очистки вновь образованной молекулы, когда это необходимо, и ее можно удалить в условиях, которые не оказывают пагубного влияния на структуру или стереохимическую целостность этой вновь образованной молекулы. В качестве примера, но не ограничения, подходящая защитная группа может включать группы, описанные ранее для защиты функциональных групп. В некоторых случаях подходящей защитной группой является защитная группа, используемая в реакциях конденсации пептидов.

[0072] “Ароматический спирт”, сам по себе или часть более крупной структуры, относится к ароматической кольцевой системе, замещенной гидроксильной функциональной группой -ОН. Таким образом, ароматический спирт относится к любому арильному, гетероарильному, ариленовому и гетероариленовому фрагменту, описанному в настоящем описании, имеющему гидроксильную функциональную группу, связанную с ароматическим углеродом его ароматической кольцевой системы. Ароматический спирт может быть частью более крупного фрагмента, например, когда его ароматическая кольцевая система является заместителем этого фрагмента, или может быть встроен в более крупный фрагмент путем конденсации колец, и может быть необязательно замещен фрагментами, описанными в настоящем описании, включая один или несколько других гидроксильных заместителей. Фенольный спирт представляет собой ароматический спирт, имеющий фенольную группу в качестве ароматического кольца.

[0073] “Алифатический спирт”, сам по себе или часть более крупной структуры, относится к фрагменту, имеющему неароматический углерод, связанный с гидроксильной функциональной группой -ОН. Гидрокси-несущий углерод может быть незамещенным (например, метиловый спирт) или может иметь один, два или три необязательно замещенных разветвленных или неразветвленных алкильных заместителя для определения первичного спирта или вторичного или третичного алифатического спирта с линейной или циклической структурой. В случае, когда он является частью более крупной структуры, спирт может быть заместителем этой структуры путем связывания через углерод, несущий гидроксильную группу, через углерод алкила или другого фрагмента, описанного в настоящем описании, с этим гидроксил-несущим углеродом или через заместитель в этом алкиле или другом фрагменте. Алифатический спирт предполагает неароматическую циклическую структуру (то есть необязательно замещенные карбоциклы и

гетерокарбоциклы), в которой функциональная группа гидроксидов связана с неароматическим углеродом его циклической кольцевой системы.

[0074] Используемый в настоящем описании “арилалкил” или “гетероарилалкил” означает заместитель, фрагмент или группу, в которых арильный фрагмент связан с алкильным фрагментом, т.е. арил-алкил-, где алкильная и арильная группы имеют указанные выше значения, например, $C_6H_5-CH_2-$ или $C_6H_5-CH(CH_3)CH_2-$. Арилалкил или гетероарилалкил связан с более крупной структурой или фрагментом через sp^3 атом углерода его алкильного фрагмента.

[0075] Используемая в настоящем описании “электроноакцепторная группа (EWG)” означает функциональную группу или электроотрицательный атом, который отводит электронную плотность от атома, с которым он связан, индуктивно и/или через резонанс, в зависимости от того, что является более доминирующим (т.е. функциональная группа или атом могут быть отводить электроны индуктивно, но в целом могут принимать электроны посредством резонанса), и стремится стабилизировать анионы или богатые электронами фрагменты. Электроноакцепторный эффект обычно передается индуктивно, хотя и в ослабленной форме, другим атомам, присоединенным к связанному атому, у которого электроноакцепторная группа (EWG) осуществляет отвод электронов, таким образом оказывая влияние на электрофильность более удаленного реактивного центра. Типичные электроноакцепторные группы включают, но ими не ограничиваются: $-C(=O)$, $-CN$, $-NO_2$, $-CX_3$, $-X$, $-C(=O)OR'$, $-C(=O)N(R')_2$, $-C(=O)R'$, $-C(=O)X$, $-S(=O)_2R'$, $-S(=O)_2OR'$, $-S(=O)_2NHR'$, $-S(=O)_2N(R')_2$, $-P(=O)(OR')_2$, $-P(=O)(CH_3)NHR'$, $-NO$, $-N(R')_3^+$, где X представляет собой $-F$, $-Br$, $-Cl$ или $-I$, и R' в некоторых аспектах, в каждом случае, независимо выбран из группы, состоящей из водорода и C_{1-6} алкила, и некоторых O -связанных фрагментов, описанных в настоящем описании, таких как ацилокси.

[0076] Типичные EWG могут также включать арильные группы (например, фенил) в зависимости от замещения и определенных гетероарильных групп (например, пиридина). Таким образом, термин “электроноакцепторные группы” также включает арилы или гетероарилы, которые дополнительно замещены электроноакцепторными группами. Обычно электроноакцепторные группы на арилах или гетероарилах представляют собой $-CN$, $-NO_2$, $-CX_3$ и $-X$, где независимо выбранный X представляет собой галоген, обычно $-F$ или $-Cl$. В зависимости от их заместителей, алкильный фрагмент также может быть электроноакцепторной группой.

[0077] “Способность к уходу группы” относится к способности содержащего спирт, тиол, амин или амид соединения, соответствующего камптотецину в камптотециновом конъюгате, высвободиться из конъюгата в качестве свободного лекарственного средства после активации процесса саморасщепления в конъюгате. Это высвобождение может быть изменяемым без помощи метиленкарбаматного звена, к которому присоединен его камптотецин (т.е. когда камптотецин непосредственно присоединен к саморасщепляющемуся фрагменту и не имеет промежуточного метиленкарбаматного звена). Хорошими уходящими группами обычно являются слабые

основания, и чем более кислая функциональная группа, которая удаляется из таких конъюгатов, тем слабее основание конъюгата. Таким образом, способность к уходу группы свободного лекарственного средства, содержащего спирт, тиол, амин или амид, от камптотецина будет связана со значением pK_a функциональной группы лекарственного средства, которая удаляется из конъюгата в тех случаях, когда метиленкарбаматное звено (т.е. в котором камптотецин непосредственно присоединен к саморасщепляющемуся фрагменту) не используется. Таким образом, более низкое значение pK_a для этой функциональной группы повысит ее способность удаляться. Хотя другие факторы могут способствовать высвобождению свободного лекарственного средства из конъюгатов без помощи метиленкарбаматного звена, как правило, лекарственное средство, имеющее функциональную группу с более низким значением pK_a , обычно будет лучшей уходящей группой, чем лекарственное средство, присоединенное через функциональную группу с более высоким значением pK_a . Другой фактор заключается в том, что функциональная группа, имеющая слишком низкое значение pK_a , может привести к неприемлемому профилю активности вследствие преждевременной потери камптотецина в результате самопроизвольного гидролиза. Для конъюгатов, в которых присутствует метиленкарбаматное звено, при саморасщеплении образуется обычная функциональная группа (т.е. карбаминовая кислота), имеющая значение pK_a , которое позволяет эффективно высвобождать свободное лекарственное средство без неприемлемой потери камптотецина.

[0078] Используемый в настоящем описании “сукцинимидный фрагмент” относится к органическому фрагменту, состоящему из сукцинимидной кольцевой системы, которая присутствует в одном типе единицы вставки (Z), которая обычно дополнительно состоит из алкиленсодержащего фрагмента, связанного с атомом азота имида этой кольцевой системы. Сукцинимидный фрагмент обычно образуется в результате присоединения по Махаэлю сульфгидрильной группы лигандной единицы к малеимидной кольцевой системе предшественника единицы вставки (Z'). Таким образом, сукцинимидный фрагмент состоит из тиозамещенной сукцинимидной кольцевой системы, и, когда он присутствует в камптотециновом конъюгате, его имидный азот замещен оставшейся частью линкерной единицы камптотецинового конъюгата и необязательно замещен заместителем(заместителями), которые присутствовали на малеимидной кольцевой системе Z' .

[0079] Используемый в настоящем описании “кислотно-амидный фрагмент” относится к янтарной кислоте, имеющей амидный заместитель, который происходит от тиозамещенной сукцинимидной кольцевой системы сукцинимидного фрагмента, претерпевшего разрыв одной из своих связей карбонил-азот в результате гидролиза. Гидролиз, приводящий к образованию фрагмента янтарная кислота-амид, обеспечивает линкерную единицу, с меньшей вероятностью преждевременной потери лигандной единицы, с которой она связана, за счет удаления антителио-тиозаместитель. Ожидается, что гидролиз сукцинимидной кольцевой системы тиозамещенного сукцинимидного

фрагмента приведет к получению региохимических изомеров кислотнo-амидных фрагментов, которые обусловлены различиями в реакционной способности двух карбонильных атомов углерода сукцинимидной кольцевой системы, обусловленной, по крайней мере частично, любым присутствующим заместителем в малеимидной кольцевой системе предшественника единицы вставки и тиозаместителем, введенным посредством нацеливающего лиганда.

[0080] Используемый в настоящем описании термин “пролекарство” относится к менее биологически активному или неактивному соединению, которое трансформируется в организме в более биологически активное соединение посредством химического или биологического процесса (т.е. химической реакции или ферментативной биотрансформации). Обычно биологически активное соединение становится менее биологически активным (т.е. превращается в пролекарство) путем химической модификации соединения пролекарственным фрагментом. В некоторых аспектах пролекарство представляет собой пролекарство типа II, которое биоактивируется вне клеток, например, в пищеварительных жидкостях или в системе кровообращения организма, например, в крови. Типичными пролекарствами являются сложные эфиры и β -D-глюкопиранозиды.

[0081] Во многих случаях совокупность конъюгатов, линкеров и компонентов, описанных в настоящем описании, будет относиться к реактивным группам. “Реакционноспособная группа” или RG представляет собой группу, которая содержит реакционноспособный участок (RS), который способен образовывать связь либо с компонентами линкерной единицы (то есть, A, W, Y), либо с камптотецином D. RS представляет собой реакционноспособный участок в реакционноспособной группе (RG). Реакционноспособные группы включают сульфгидрильные группы для образования дисульфидных связей или тиоэфирных связей, альдегидные, кетоновые или гидразиновые группы для образования гидразоновых связей, карбоксильные или аминогруппы для образования пептидных связей, карбоксильные или гидроксильные группы для образования сложноэфирных связей, сульфоновые кислоты для образования сульфонамидных связей, спирты для образования карбаматных связей и амины для образования сульфонамидных связей или карбаматных связей. В следующей таблице представлены реакционноспособные группы, реакционноспособные участки и типичные функциональные группы, которые могут образовываться после реакции реакционноспособного участка. Таблица не является исчерпывающей. Специалист в данной области поймет, что указанные в таблице участки R' и R'' фактически представляют собой любой органический фрагмент (например, алкильную группу, арильную группу, гетероарильную группу или замещенную алкильную, арильную или гетероарильную группу), который совместим с образованием связи, предусмотренным преобразованием RG в одну из типичных функциональных групп. Также будет понятно, что, применительно к вариантам осуществления настоящего изобретения, R' может представлять один или несколько компонентов самостабилизирующегося линкера или

необязательного вторичного линкера, в зависимости от ситуации, и R'' может представлять один или несколько компонентов необязательного вторичного линкера, камптотецина, стабилизирующей группы или группы обнаружения, в зависимости от ситуации.

RG	RS	Типичные функциональные группы
1) R'-SH	-S-	R'-S-R'' R'-S-S-R''
2) R'-C(=O)OH	-C(=O)-	R'-C(=O)NH-R''
3) R'-C(=O)ONHS	-C(=O)-	R'-C(=O)NH-R''
4) R'S(=O) ₂ -OH	-S(=O) ₂ -	R'S(=O) ₂ NH-R''
5) R'-CH ₂ -X (X представляет собой Br, I, Cl)	-CH ₂ -	R'-CH ₂ -S-R''
6) R'-NH ₂	-N-	R'-NHC(=O)R''

[0082] Изотопно-меченные соединения также входят в объем настоящего изобретения. Используемый в настоящем описании термин “изотопно меченное соединение” или “изотопное производное” относится к описанному в настоящем описании соединению, включая его фармацевтические соли и пролекарства, каждое из которых описано в настоящем описании, в котором один или несколько атомов заменены атомом, имеющим атомную массу или массовое число отличается от атомной массы или массового числа, обычно встречающегося в природе. Примеры изотопов, которые могут быть включены в описанные в настоящем описании соединения, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, фтора и хлора, такие как ²H, ³H, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁸O, ¹⁷O, ³¹P, ³²P, ³⁵S, ¹⁸F и ³⁶Cl соответственно.

[0083] Благодаря изотопной маркировке описанных в настоящем описании соединений, соединения могут использоваться в исследованиях распределения лекарственного средства и/или субстратов в тканях. Соединения, меченные тритием (³H) и углеродом-14 (¹⁴C), в частности предпочтительны вследствие простоты их получения и обнаружения. Кроме того, замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий (²H), может дать определенные терапевтические преимущества, обусловленные большей метаболической стабильностью, например увеличенным периодом полужизни *in vivo* или уменьшенными требованиями к дозированию, и, следовательно, может быть предпочтительным в некоторых случаях. Изотопно-меченные соединения, описанные в настоящем описании, включая их фармацевтические соли, сложные эфиры и пролекарства, могут быть получены любыми способами, известными в данной области. Положительные эффекты могут быть также получены от замены обычно распространенного ¹²C на ¹³C. (См. WO 2007/005643, WO 2007/005644, WO 2007/016361 и WO 2007/016431)

[0084] Например, дейтерий (2H) может быть включен в соединение, описанное в настоящем описании, с целью управления окислительным метаболизмом соединения посредством первичного кинетического изотопного эффекта. Первичный кинетический изотопный эффект представляет собой изменение скорости химического взаимодействия, которое возникает в результате обмена изотопными ядрами, что, в свою очередь, вызвано изменением энергии основного состояния, необходимой для образования ковалентной связи после этого изотопного обмена. Обмен более тяжелым изотопом обычно приводит к снижению энергии основного состояния химической связи и, таким образом, вызывает снижение скорости в разрыве связи, ограничивающей скорость. Если разрыв связи происходит в или рядом с областью седловой точки вдоль координаты многоцелевой реакции, соотношения распределения продуктов могут быть существенно изменены. Для дополнительной информации: если дейтерий связан с атомом углерода в незаменяемом положении, различия в скорости $k_M/k_D=2-7$ являются типичными. Если эту разницу скоростей успешно применить к описанному в настоящем описании соединению, которое подвержено окислению, профиль этого соединения *in vivo* может быть радикально изменен, что приведет к улучшенным фармакокинетическим свойствам.

[0085] При обнаружении и разработке терапевтических средств, специалист в данной области может оптимизировать фармакокинетические параметры с сохранением желаемых свойств *in vitro*. Разумно предположить, что многие соединения с плохими фармакокинетическими профилями подвержены окислительному метаболизму. Доступные в настоящее время микросомальные анализы печени *in vitro* предоставляют ценную информацию о ходе окислительного метаболизма этого типа, что, в свою очередь, позволяет рационально конструировать дейтерированные соединения, описанные в настоящем описании, с улучшенной стабильностью благодаря устойчивости к такому окислительному метаболизму. Таким образом, достигаются значительные улучшения фармакокинетических профилей соединений, описанных в настоящем описании, и их можно количественно выразить в единицах увеличения периода полужизни *in vivo* ($t/2$), концентрации при максимальном терапевтическом эффекте (C_{\max}), площади под кривой зависимости доза-эффект. (AUC) и F ; и в единицах уменьшения клиренса, дозы и затрат на материалы.

[0086] Следующие данные предназначены для иллюстрации вышеописанного: соединение, которое имеет несколько потенциальных участков воздействия окислительного метаболизма, например бензильные атомы водорода и атомы водорода, связанные с атомом азота, получают в виде ряда аналогов, в которых различные сочетания атомов водорода заменены атомами дейтерия, так что некоторые, большинство или все эти атомы водорода были заменены атомами дейтерия. Определение периода полужизни позволяет эффективно и точно определить степень улучшения устойчивости к окислительному метаболизму. Таким образом, определено, что период полураспада исходного соединения может быть увеличен до 100% в результате дейтерий-водородного обмена этого типа.

[0087] Дейтерий-водородный обмен в описанном в настоящем описании соединении также можно использовать для достижения предпочтительной модификации спектра метаболитов исходного соединения с целью уменьшения или устранения нежелательных токсичных метаболитов. Например, если токсичный метаболит возникает в результате окислительного расщепления связи углерод-водород (СН), можно разумно предположить, что дейтерированный аналог значительно уменьшит или устранил выработку нежелательного метаболита, даже если конкретное окисление не является стадией, определяющей скорость реакции. Дополнительную информацию о современном уровне техники в отношении дейтерий-водородного обмена можно найти, например, в Hanzlik et al., J. Org. Chem. **55**, 3992-3997, 1990, Reider et al., J. Org. Chem. **52**, 3326-3334, 1987, Foster, Adv. Drug Res. **14**, 1-40, 1985, Gillette et al, Biochemistry **33**(10) 2927-2937, 1994, и Jarman et al. Carcinogenesis **16**(4), 683-688, 1993.

[0088] Сочетание заместителей и переменных, описанных в настоящем изобретении, представляет собой только те сочетания, которые приводят к образованию стабильных соединений. Термин “стабильный”, используемый в настоящем описании, относится к соединениям, которые обладают стабильностью, достаточной для обеспечения производства, и которые поддерживают целостность соединения в течение достаточного периода времени, чтобы быть применимыми для целей, подробно описанных в настоящем описании (например, терапевтического или профилактического введения субъекту).

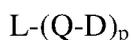
[0089] Соединения по настоящему изобретению, после их получения, предпочтительно выделяют и очищают для получения композиции, содержащей количество по массе, равное или превышающее 95% (“практически чистую”), которую затем применяют или придают ей лекарственную форму, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, соединения по настоящему изобретению имеют чистоту больше, чем 99%.

Варианты осуществления

[0090] Ниже описан ряд вариантов осуществления изобретения, которые не подразумевают ограничение объема изобретения, за которыми следует более подробное описание компонентов, составляющих конъюгаты. Специалист в данной области поймет, что каждый из идентифицированных конъюгатов и любой из их выбранных вариантов осуществления подразумевает включение полного спектра каждого компонента и линкера.

Камптотециновые конъюгаты

[0091] В одном из аспектов, изобретение относится к камптотециновым конъюгатам, имеющим формулу:



или к их фармацевтически приемлемой форме, где

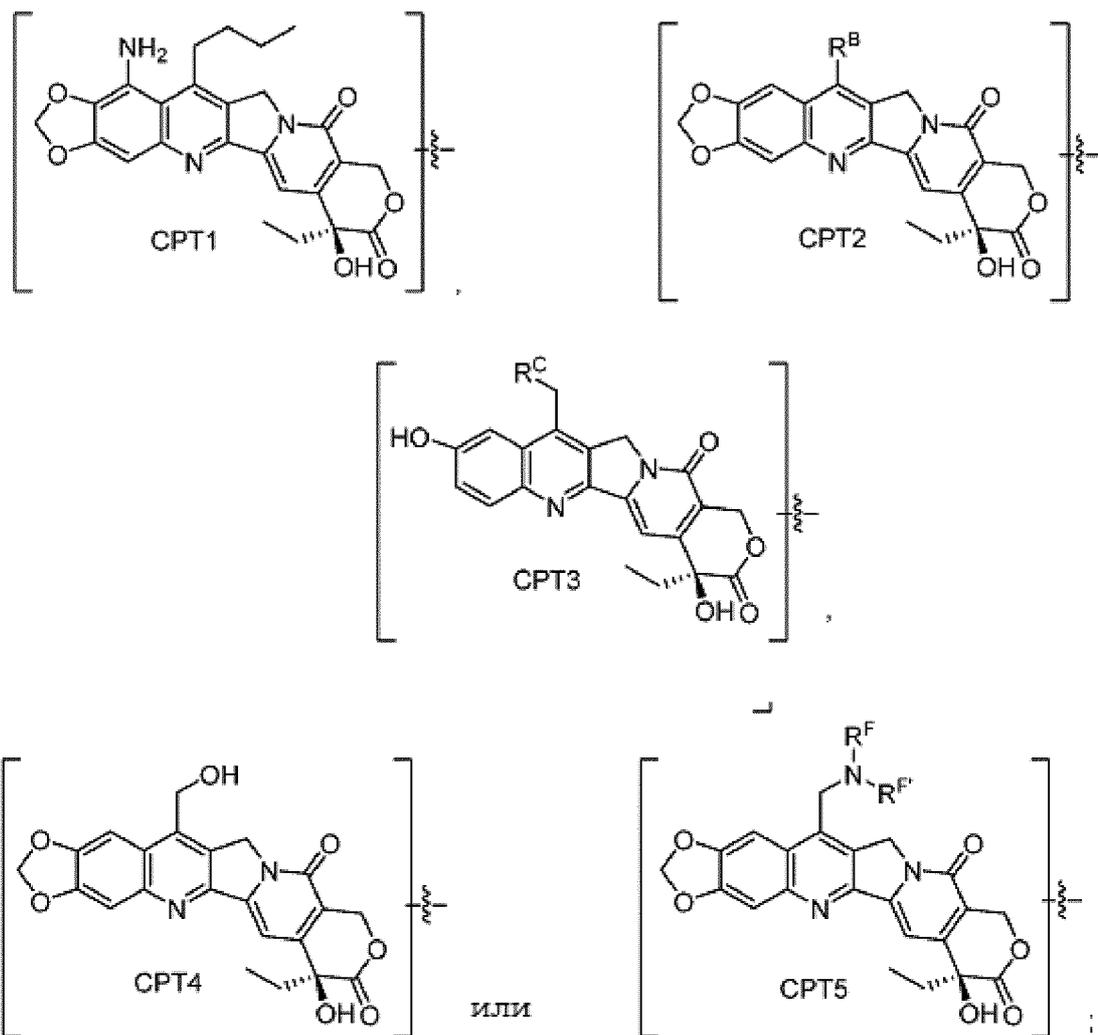
L представляет собой лигандную единицу;

Q представляет собой линкерную единицу, имеющую формулу, выбранную из группы, состоящей из:



где Z представляет собой единицу вставки, A представляет собой соединительную единицу; L^P представляет собой единицу параллельного соединения; S^* представляет собой связь или разделительный агент; RL представляет собой пептид, содержащий от 2 до 8 аминокислот; и Y представляет собой спейсерную единицу;

D представляет собой группу лекарственного средства, выбранную из:



где

R^B представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из H, C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_8 галогеналкила, C_3 - C_8 циклоалкила, C_3 - C_8 циклоалкил C_1 - C_4 алкила, фенила и фенил C_1 - C_4 алкила;

R^C представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из C_1 - C_6 алкила и C_3 - C_6 циклоалкила;

каждый R^F и R^G является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из H, C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_8 гидроксилалкила, C_1 - C_8 аминоалкила, C_1 - C_4 алкиламино C_1 - C_8 алкила, (C_1 - C_4 гидроксилалкил)(C_1 - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, ди(C_1 - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила,

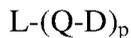
C_1-C_4 гидроксилалкил C_1-C_8 аминоалкила, C_2-C_6 гетероалкила, C_1-C_8 алкил $C(O)-$, C_1-C_8 гидроксилалкил $C(O)-$, C_1-C_8 аминоалкил $C(O)-$, C_3-C_{10} циклоалкила, C_3-C_{10} циклоалкил C_1-C_4 алкила, C_3-C_{10} гетероциклоалкила, C_3-C_{10} гетероциклоалкил C_1-C_4 алкила, фенила, фенил C_1-C_4 алкила, дифенил C_1-C_4 алкила, гетероарила и гетероарил C_1-C_4 алкила; или R^F и $R^{F'}$ объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен, с образованием 5-, 6- или 7-членного кольца, имеющего от 0 до 3 заместителей, выбранных из галогена, C_1-C_4 алкила, OH , OC_1-C_4 алкила, NH_2 , NHC_1-C_4 алкила и $N(C_1-C_4$ алкил) $_2$;

и где циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные фрагменты R^B , R^C , R^F и $R^{F'}$ замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1-C_4 алкила, OH , OC_1-C_4 алкила, NH_2 , NHC_1-C_4 алкила и $N(C_1-C_4$ алкил) $_2$; и

p равно от приблизительно 1 до приблизительно 16;

где Q присоединен через любую из гидроксильных или аминогрупп, присутствующих на CPT1, CPT2, CPT3, CPT4 или CPT5.

[0092] В другом аспекте, изобретение относится к камптотециновым конъюгатам, имеющие формулу:



или к их фармацевтически приемлемой форме, где

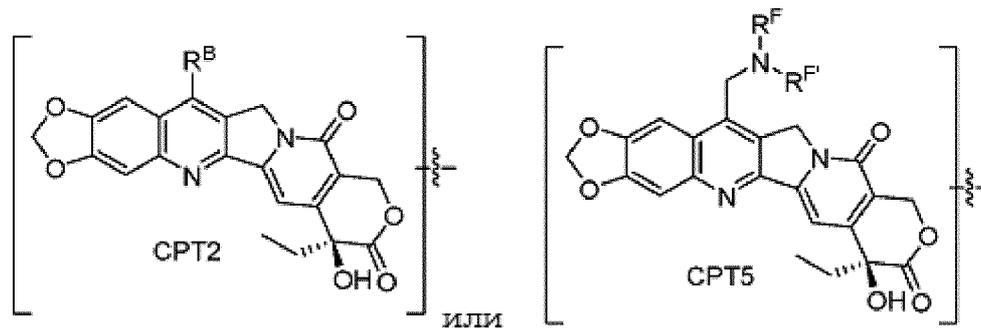
L представляет собой лигандную единицу;

Q представляет собой линкерную единицу, имеющую формулу, выбранную из группы, состоящей из:



где Z представляет собой единицу вставки, A представляет собой соединительную единицу; L^P представляет собой единицу параллельного соединения; S^* представляет собой связь или разделительный агент; RL представляет собой пептид, содержащий от 2 до 8 аминокислот; и Y представляет собой спейсерную единицу;

D представляет собой группу лекарственного средства, выбранную из:



где

R^B представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из $-H$, $-(C_1-C_4)$ алкил- OH , C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 галогеналкила, C_3-C_8 циклоалкила, C_3-C_8 циклоалкил C_1-C_4 алкила, фенила и фенил C_1-C_4 алкила;

каждый R^F и $R^{F'}$ является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из H , C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 гидроксилалкила, C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_4 алкиламино C_1-C_8 алкила,

(C₁-C₄ гидроксилалкил)(C₁-C₄ алкил)аминоC₁-C₈ алкила, ди(C₁-C₄ алкил)аминоC₁-C₈ алкила, C₁-C₄ гидроксилалкилC₁-C₈ аминоалкила, C₂-C₆ гетероалкила, C₁-C₈ алкилC(O)-, C₁-C₈ гидроксилалкилC(O)-, C₁-C₈ аминоалкилC(O)-, C₃-C₁₀ циклоалкил, C₃-C₁₀циклоалкилC₁-C₄ алкила, C₃-C₁₀ гетероциклоалкила, C₃-C₁₀ гетероциклоалкилC₁-C₄ алкила, фенила, фенилC₁-C₄ алкила, дифенилC₁-C₄ алкила, гетероарила и гетероарилC₁-C₄ алкила; или R^F и R^F объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен, с образованием 5-, 6- или 7-членного кольца, имеющего от 0 до 3 заместителей, выбранных из галогена, C₁-C₄ алкила, OH, OC₁-C₄ алкила, NH₂, NHC₁-C₄ алкила и N(C₁-C₄ алкил)₂;

и где циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные фрагменты R^B, R^F и R^F замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C₁-C₄ алкила, OH, OC₁-C₄ алкила, NH₂, NHC₁-C₄ алкила и N(C₁-C₄ алкил)₂; и

p равно от приблизительно 1 до приблизительно 16;

где Q присоединен через любую из гидроксильных или аминогрупп, присутствующих на CPT2 или CPT5.

[0093] В еще одном аспекте изобретение относится к камптотециновым конъюгатам, имеющим формулу:



или к их фармацевтически приемлемой форме, где

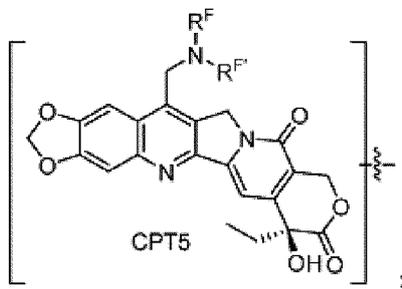
L представляет собой лигандную единицу;

Q представляет собой линкерную единицу, имеющую формулу, выбранную из группы, состоящей из:



где Z представляет собой единицу вставки, A представляет собой соединительную единицу; L^P представляет собой единицу параллельного соединения; S* представляет собой связь или разделительный агент; RL представляет собой пептид, содержащий от 2 до 8 аминокислот; и Y представляет собой спейсерную единицу;

D представляет собой группу лекарственного средства, имеющую следующую структурную формулу:



где

каждый R^F и R^F является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из H, C₁-C₈ алкила, C₁-C₈ гидроксилалкила, C₁-C₈ аминоалкила, C₁-C₄ алкиламиноC₁-C₈ алкила, (C₁-C₄ гидроксилалкил)(C₁-C₄ алкил)аминоC₁-C₈ алкила, ди(C₁-C₄ алкил)аминоC₁-C₈ алкила, C₁-C₄ гидроксилалкилC₁-C₈ аминоалкила, C₂-C₆ гетероалкила, C₁-C₈ алкилC(O)-, C₁-C₈

гидроксиалкилC(O)-, C₁-C₈ аминоалкилC(O)-, C₃-C₁₀ циклоалкила, C₃-C₁₀циклоалкилC₁-C₄ алкила, C₃-C₁₀ гетероциклоалкила, C₃-C₁₀ гетероциклоалкилC₁-C₄ алкила, фенила, фенилC₁-C₄ алкила, дифенилC₁-C₄ алкила, гетероарила и гетероарилC₁-C₄ алкила; или R^F и R^{F'} объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен, с образованием 5-, 6- или 7-членного кольца, имеющего от 0 до 3 заместителей, выбранных из галогена, C₁-C₄ алкила, OH, OC₁-C₄ алкила, NH₂, NHC₁-C₄ алкила и N(C₁-C₄ алкил)₂;

и где циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные фрагменты R^F и R^{F'} замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C₁-C₄ алкила, OH, OC₁-C₄ алкила, NH₂, NHC₁-C₄ алкила и N(C₁-C₄ алкил)₂; и

r равно от приблизительно 1 до приблизительно 16;

где Q присоединен через любую из гидроксильных или аминогрупп, присутствующих на CPT5.

[0094] В одной группе вариантов осуществления, D имеет формулу CPT5.

[0095] В одной группе вариантов осуществления, D имеет формулу CPT2.

[0096] В одной группе вариантов осуществления, D имеет формулу CPT3.

[0097] В одной группе вариантов осуществления, D имеет формулу CPT4.

[0098] В одной группе вариантов осуществления, D имеет формулу CPT1.

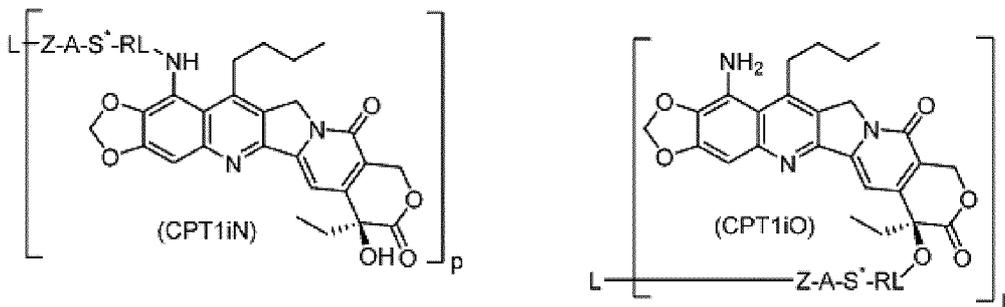
[0099] В некоторых вариантах осуществления, фармацевтически приемлемая форма представляет собой фармацевтически приемлемую соль.

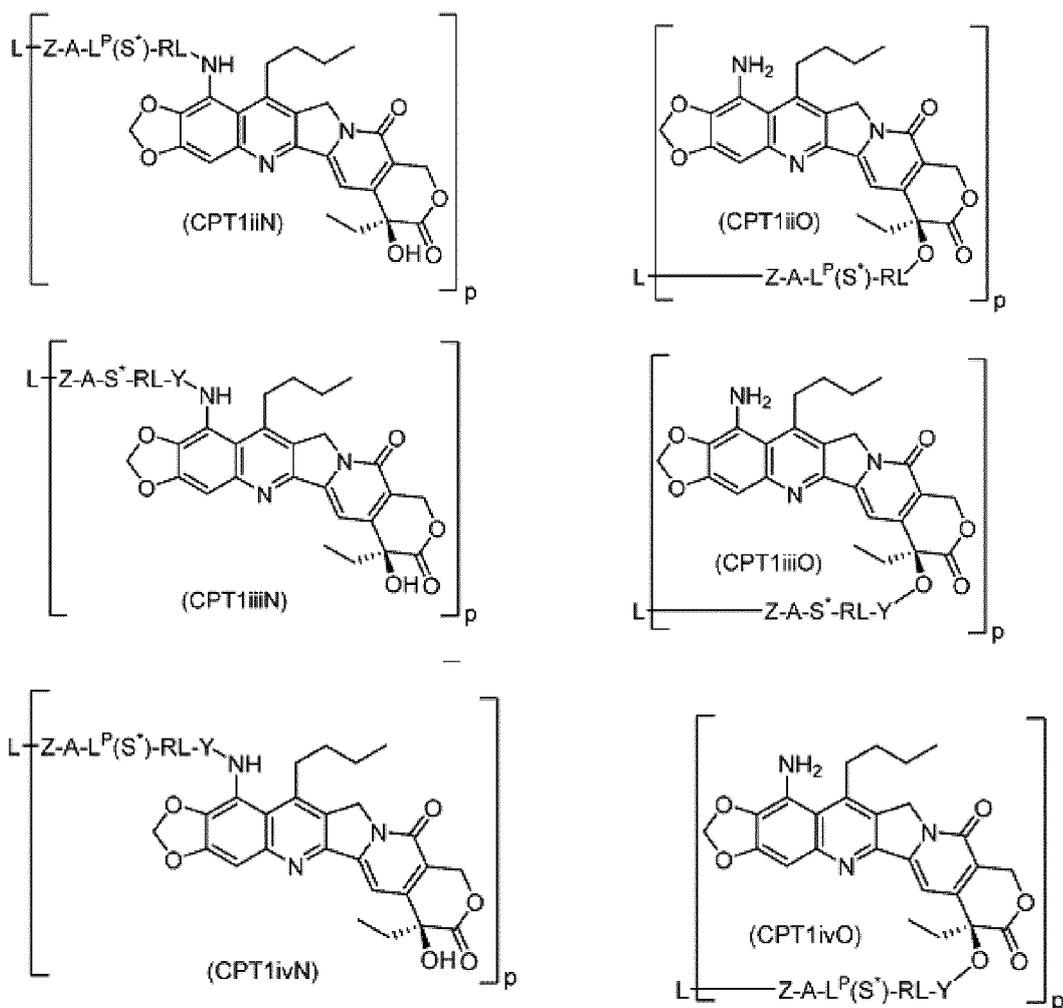
[0100] В одной группе вариантов осуществления, Q имеет формулу, выбранную из группы, состоящей из:

-Z-A-S^{*}-RL- и -Z-A-S^{*}-RL-Y-.

[0101] В другой группе вариантов осуществления, Q имеет формулу, выбранную из группы, состоящей из: -Z-A- L^P(S^{*})-RL- и -Z-A- L^P(S^{*})-RL-Y-.

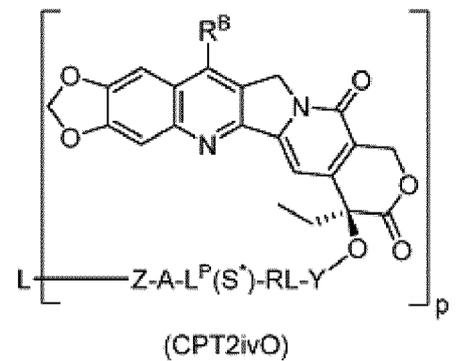
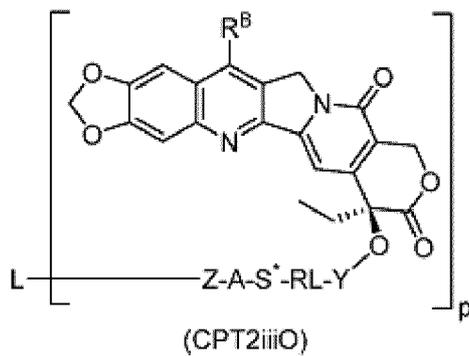
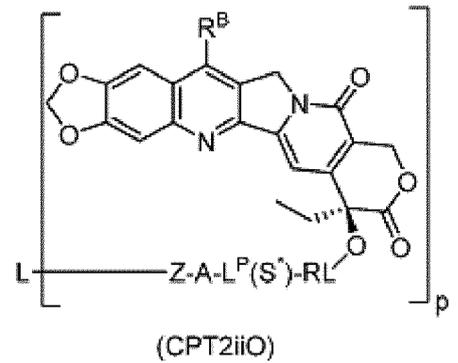
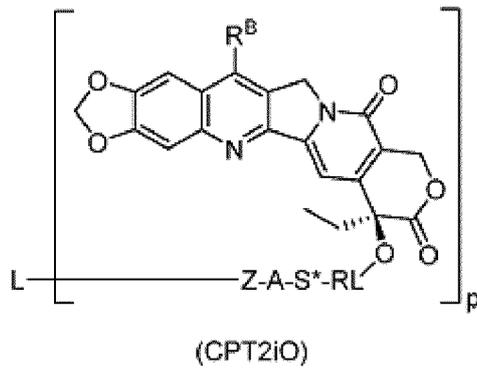
[0102] В одной группе вариантов осуществления, камптотециновые конъюгаты включают группу лекарственного средства, имеющую формулу CPT1, и представлены формулой, выбранной из:





где группы L , Z , A , S^* , L^P , RL и Y имеют значения, указанные выше и в любом из вариантов осуществления, конкретно описанных в настоящем описании.

В другой группе вариантов осуществления, камптотециновые конъюгаты содержат группу лекарственного средства, имеющую формулу CPT2, и представлены формулой, выбранной из:



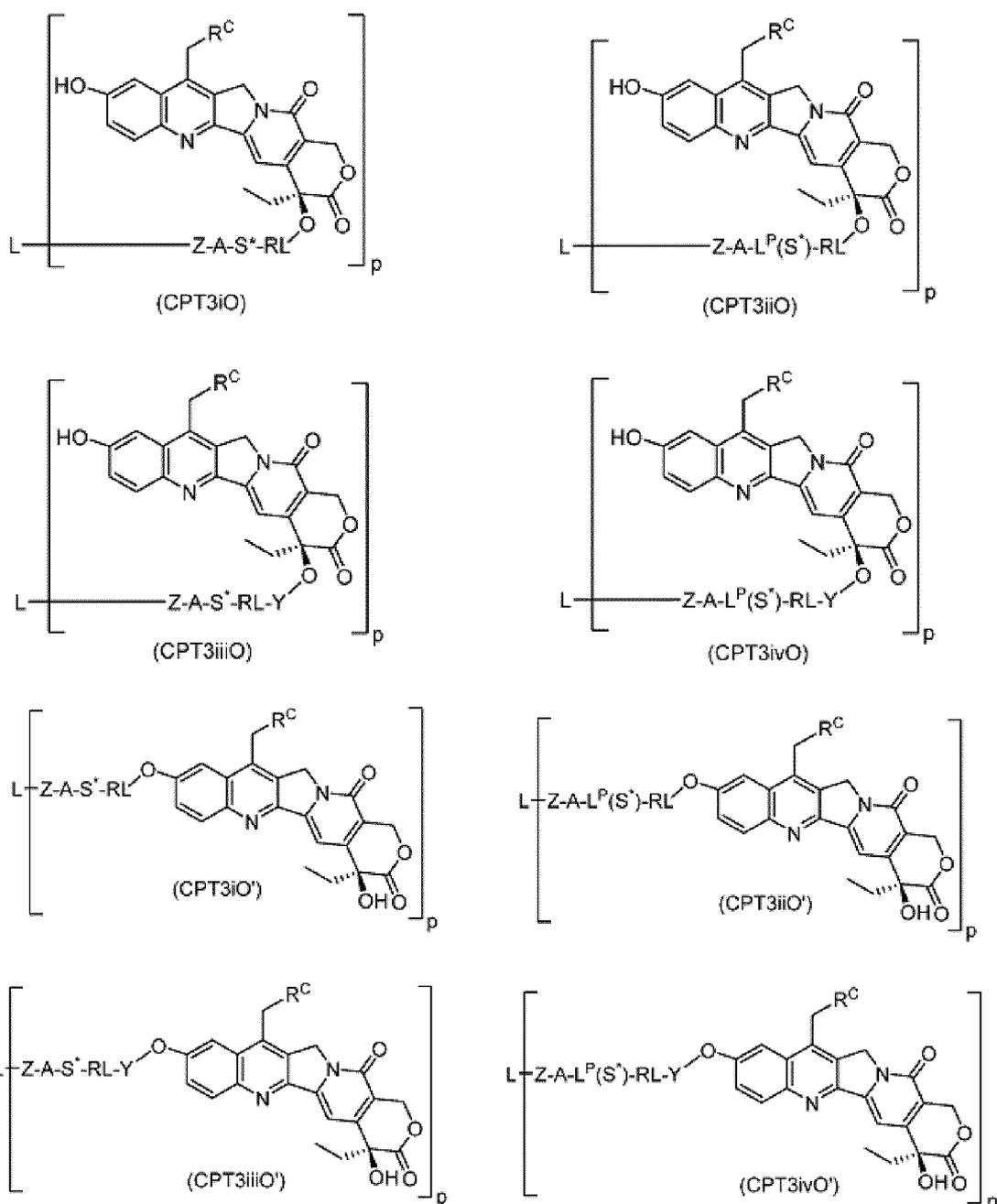
где группы L, Z, A, S*, LP, RL и Y имеют значения, указанные выше и в любом из вариантов осуществления, конкретно описанных в настоящем описании.

[0104] В одной группе вариантов осуществления, R^B представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из H, C₁-C₈ алкила и C₁-C₈ галогеналкила.

[0105] В одной группе вариантов осуществления, R^B представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из C₃-C₈ циклоалкила, C₃-C₈циклоалкилC₁-C₄ алкила, фенила и фенилC₁-C₄ алкила, и где циклоалкильный и фенильный фрагменты R^B замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C₁-C₄ алкила, OH, OC₁-C₄ алкила, NH₂, NHC₁-C₄ алкила и N(C₁-C₄ алкил)₂.

[0106] В другой группе вариантов осуществления, R^B представляет собой H, метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, пентил, изопентил, 1-этилпропил или гексил. В других вариантах осуществления, R^B представляет собой хлорметил или бромметил. В других вариантах осуществления, R^B представляет собой фенил или галогензамещенный фенил. В других вариантах осуществления, R^B представляет собой фенил или фторфенил.

[0107] В другой группе вариантов осуществления, камптотециновые конъюгаты включают группу лекарственного средства, имеющую формулу CPT3, и представлены формулой, выбранной из:

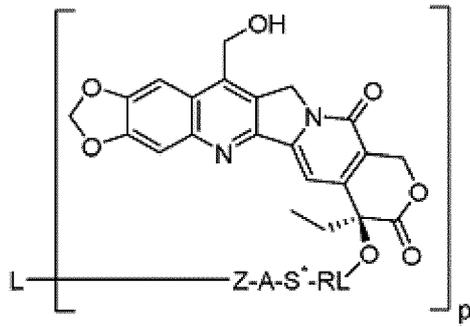


где группы L, Z, A, S*, L^P, RL и Y имеют значения, указанные выше и в любом из вариантов осуществления, конкретно описанных в настоящем описании.

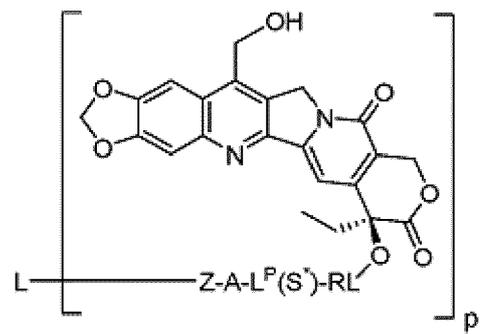
[0108] В одной группе вариантов осуществления, R^C представляет собой C₁-C₆ алкил. В некоторых вариантах осуществления, R^C представляет собой метил.

[0109] В одной группе вариантов осуществления, R^C представляет собой C₃-C₆ циклоалкил.

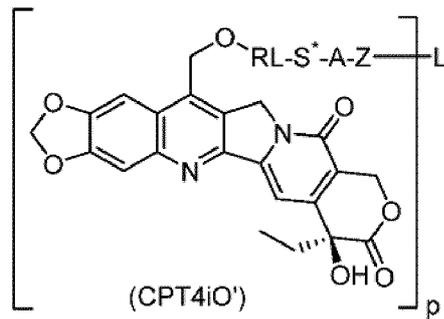
[0110] В другой группе вариантов осуществления, камптотециновые конъюгаты содержат единицу лекарственного средства, имеющую формулу CPT4 и представленную формулой, выбранной из:



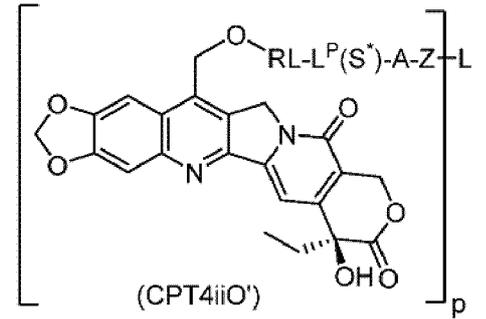
(CPT4iO)



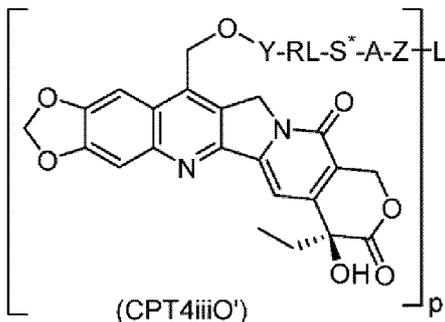
(CPT4iiO)



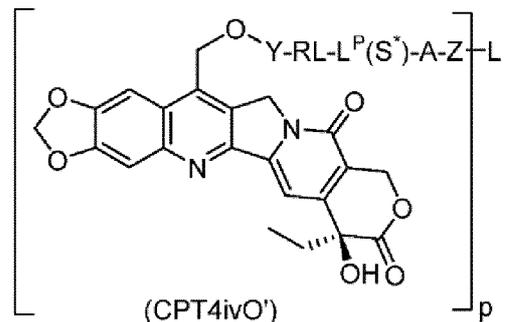
(CPT4iO')



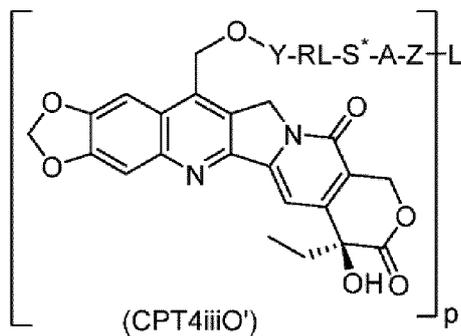
(CPT4iiO')



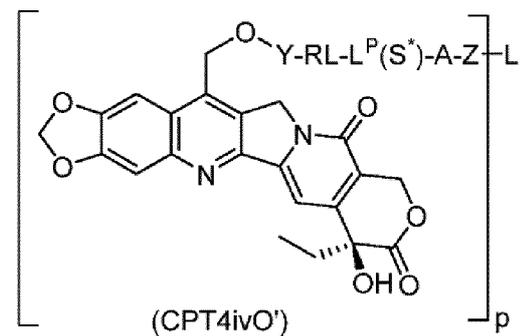
(CPT4iiiO')



(CPT4ivO')



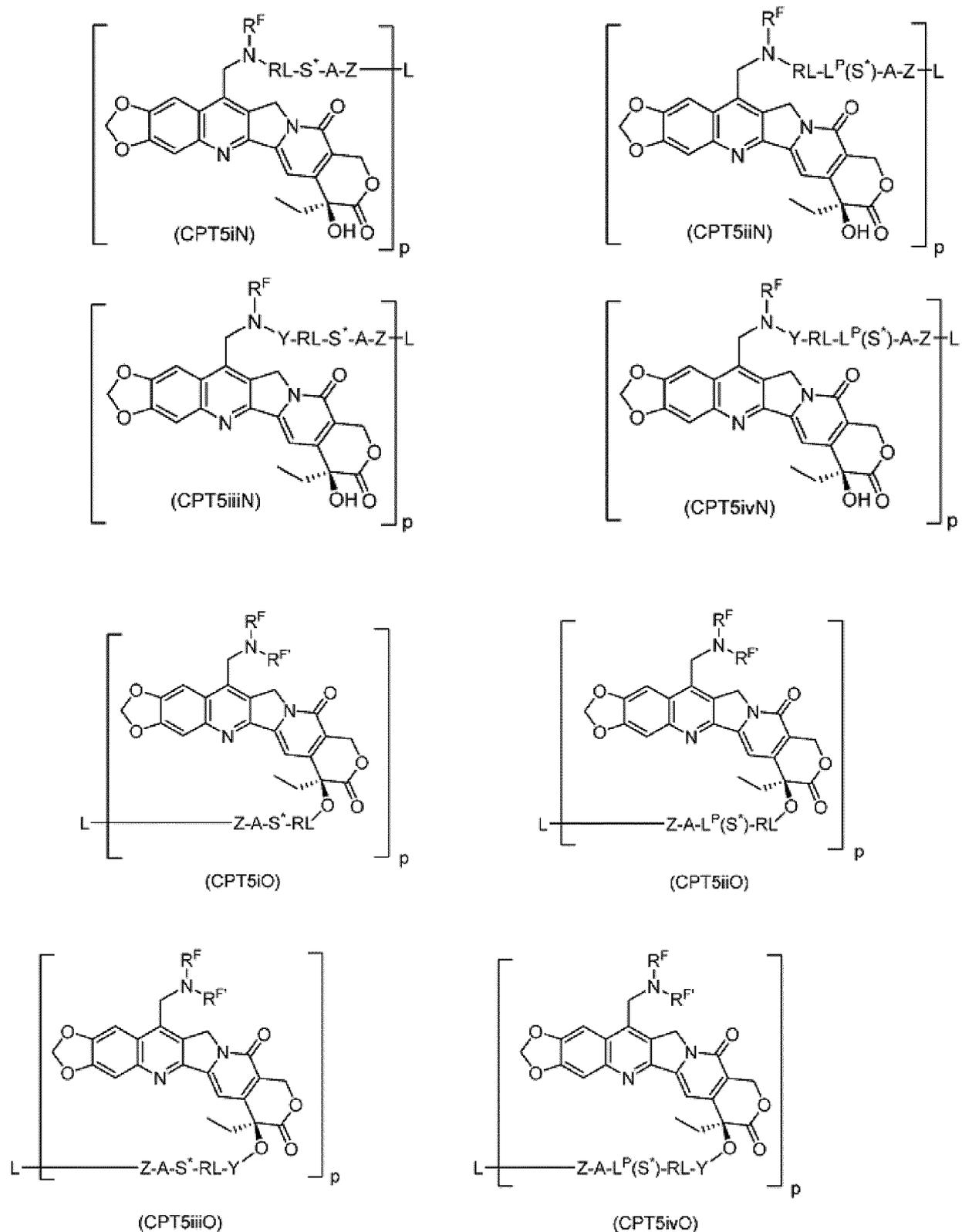
(CPT4iiiO'')



(CPT4ivO'')

где группы L, Z, A, S*, L^P, RL и Y имеют значения, указанные выше и в любом из вариантов осуществления, конкретно описанных в настоящем описании.

[0111] В другой группе вариантов осуществления, камптотециновые конъюгаты содержат единицу лекарственного средства, имеющую формулу CPT5 и представленную формулой, выбранной из:



где группы L, Z, A, S^{*}, L^P, RL и Y имеют значения, указанные выше и в любом из вариантов осуществления, конкретно описанных в настоящем описании.

[0112] В одной группе вариантов осуществления, как R^F, так и R^{F'} представляют собой H.

[0113] В одной группе вариантов осуществления по меньшей мере один из R^F и $R^{F'}$ является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 гидроксиалкила, C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_4 алкиламино C_1-C_8 алкила, $(C_1-C_4$ гидроксиалкил) $(C_1-C_4$ алкил)амино C_1-C_8 алкила, ди $(C_1-C_4$ алкил)амино C_1-C_8 алкила, C_1-C_4 гидроксиалкил C_1-C_8 аминоалкила, C_2-C_6 гетероалкила, C_1-C_8 алкил $C(O)-$, C_1-C_8 гидроксиалкил $C(O)-$ и C_1-C_8 аминоалкил $C(O)-$.

[0114] В одной группе вариантов осуществления, каждый R^F и $R^{F'}$ является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 гидроксиалкила, C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_4 алкиламино C_1-C_8 алкила, $(C_1-C_4$ гидроксиалкил) $(C_1-C_4$ алкил)амино C_1-C_8 алкила, ди $(C_1-C_4$ алкил)амино C_1-C_8 алкила, C_1-C_4 гидроксиалкил C_1-C_8 аминоалкила, C_2-C_6 гетероалкила, C_1-C_8 алкил $C(O)-$, C_1-C_8 гидроксиалкил $C(O)-$ и C_1-C_8 аминоалкил $C(O)-$.

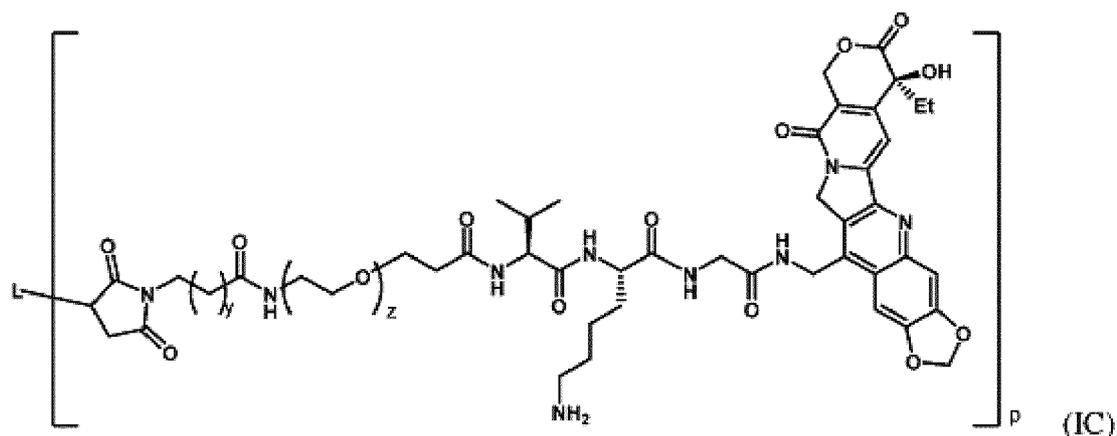
[0115] В одной группе вариантов осуществления по меньшей мере один из R^F и $R^{F'}$ является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из C_3-C_{10} циклоалкила, C_3-C_{10} циклоалкил C_1-C_4 алкила, C_3-C_{10} гетероциклоалкила, C_3-C_{10} гетероциклоалкил C_1-C_4 алкила, фенила, фенил C_1-C_4 алкила, дифенил C_1-C_4 алкила, гетероарила и гетероарил C_1-C_4 алкила, и где циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные фрагменты R^F и $R^{F'}$ замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1-C_4 алкила, OH , OC_1-C_4 алкила, NH_2 , NHC_1-C_4 алкила и $N(C_1-C_4$ алкил) $_2$.

[0116] В одной группе вариантов осуществления, каждый R^F и $R^{F'}$ является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из H , C_3-C_{10} циклоалкила, C_3-C_{10} циклоалкил C_1-C_4 алкила, C_3-C_{10} гетероциклоалкила, C_3-C_{10} гетероциклоалкил C_1-C_4 алкила, фенила, фенил C_1-C_4 алкила, дифенил C_1-C_4 алкила, гетероарила и гетероарил C_1-C_4 алкила, и где циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные фрагменты R^F и $R^{F'}$ замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1-C_4 алкила, OH , OC_1-C_4 алкила, NH_2 , NHC_1-C_4 алкила и $N(C_1-C_4$ алкил) $_2$.

[0117] В некоторых вариантах осуществления, R^F представляет собой H , и $R^{F'}$ представляет собой C_1-C_8 алкил.

[0118] В одной группе вариантов осуществления, R^F и $R^{F'}$ объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен с образованием 5-, 6- или 7-членного кольца, имеющего от 0 до 3 заместителей, выбранных из галогена, C_1-C_4 алкила, OH , OC_1-C_4 алкила, NH_2 , NHC_1-C_4 алкила и $N(C_1-C_4$ алкил) $_2$.

[0119] В некоторых вариантах осуществления, камптотециновые конъюгаты имеют формулу (IC):



или его фармацевтически приемлемая соль;

где

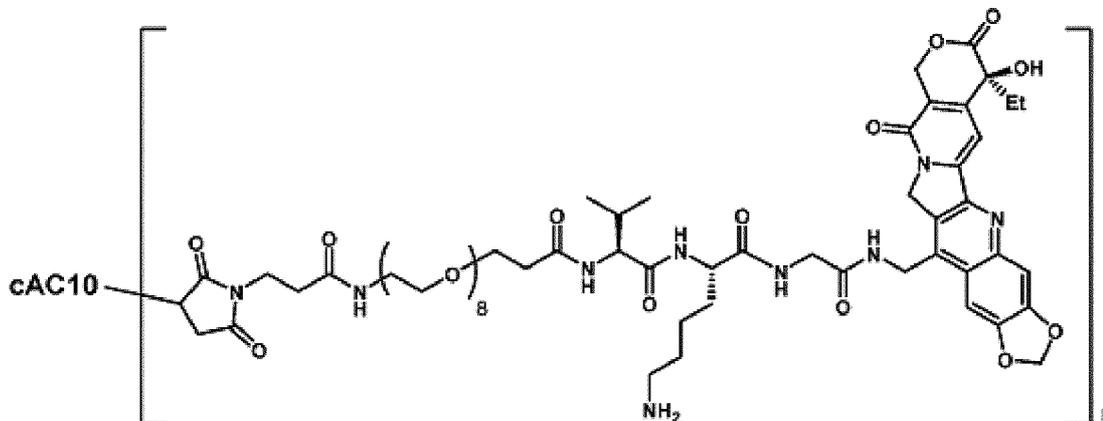
y равно 1, 2, 3 или 4, или равно 1 или 4; и

z представляет собой целое число от 2 до 12 или равно 2, 4, 8 или 12;

и p равно 1-16.

[0120] В некоторых аспектах этих вариантов осуществления, p равно 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некотором аспекте, p равно 2, 4 или 8.

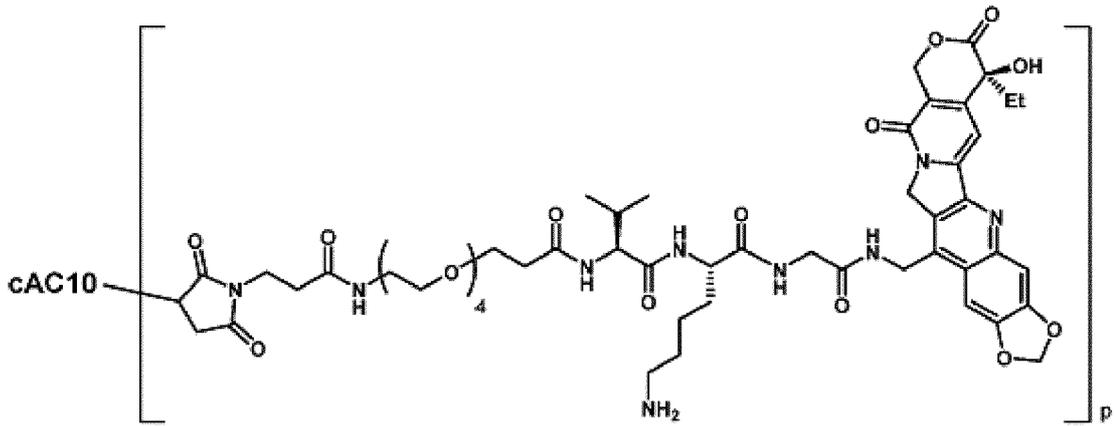
В некоторых вариантах осуществления, камптотециновые конъюгаты имеют формулу:



или его фармацевтически приемлемая соль;

где p равно 2, 4 или 8, предпочтительно p равно 8.

[0122] В некоторых вариантах осуществления, камптотециновые конъюгаты имеют формулу:



или его фармацевтически приемлемая соль;

где p равно 2, 4 или 8, предпочтительно p равно 8.

[0123] В некоторых аспектах этих вариантов осуществления, p равно 8.

Соединения камптотецин-линкер

[0124] В некоторых аспектах, при получении камптотециновых конъюгатов, будет желательно синтезировать полное сочетание лекарственное средство-линкер, или лекарственное средство в сочетании с частью линкера, перед конъюгацией с нацеливающим лигандом. В таких вариантах осуществления, соединения камптотецин-линкер, как описано в настоящем описании, являются промежуточными соединениями. В этих вариантах осуществления, единица вставки в соединении камптотецин-линкер еще не связана ковалентно с лигандной единицей и, следовательно, имеет функциональную группу для конъюгации с нацеливающим лигандом (то есть представляет собой предшественника единицы вставки, Z'). В одном из аспектов, соединение камптотецин-линкер содержит камптотецин (представленный в настоящем описании формулами СРТ1, СРТ2, СРТ3, СРТ4 и СРТ5) и линкерную единицу (Q), содержащую пептидный высвобождаемый линкер (RL), через который лигандная единица связана с камптотецином. Таким образом, линкерная единица включает, помимо RL (который является пептидным линкером), предшественника единицы вставки (Z'), содержащего функциональную группу для конъюгации с лигандной единицей и способной (прямо или косвенно) связывать RL с лигандной единицей. Единица параллельного соединения (L^P) может присутствовать в некоторых вариантах осуществления в случае, когда желательно добавление разделительного агента (S^*) в качестве дополнения боковой цепи. В некоторых вариантах осуществления, соединительная единица (A) присутствует в случае, когда желательно увеличить расстояние между единицей вставки и RL.

[0125] В одном из аспектов, соединение камптотецин-линкер состоит из камптотецина, имеющего формулу СРТ1, СРТ2, СРТ3, СРТ4 или СРТ5, и линкерной единицы (Q), где Q представляет собой пептидный высвобождаемый линкер, непосредственно присоединенный к предшественнику единицы вставки (Z') или косвенно к Z' посредством присоединения к промежуточному компоненту(ам) линкерной единицы соединения камптотецин-линкер (то есть A, S^* и/или $L^P(S^*)$), где Z' состоит из

функциональной группы, способной образовывать ковалентную связь с нацеливающим лигандом.

[0126] В контексте камптотециновых конъюгатов и/или соединений камптотецин-линкер, сборка лучше всего описывается с точки зрения ее групп компонентов. Хотя в настоящем описании также описаны некоторые процедуры, порядок сборки и общие условия получения конъюгатов и соединений будут хорошо понятны специалисту в данной области.

Группы компонентов

Лигандные единицы:

[0127] В некоторых вариантах осуществления изобретения, присутствует лигандная единица. Лигандная единица (L-) представляет собой нацеливающий агент, который специфически связывается с целевым фрагментом. В одной группе вариантов осуществления, лигандная единица специфически и избирательно связывается с клеточным компонентом (клеточносвязывающим агентом) или с другими представляющими интерес молекулами-мишенями. Лигандная единица действует для нацеливания и представления камптотецина (CPT1, CPT2, CPT3, CPT4 или CPT5) или компонента лекарственного средства, содержащего камптотецин, конкретной популяции клеток-мишеней, с которой лигандная единица взаимодействует вследствие присутствия ее целевого компонента или молекулы и делает возможным последующее высвобождение свободного лекарственного средства внутри клетки-мишени (т.е. внутриклеточно) или рядом с клеткой-мишенью (т.е. внеклеточно). **Лигандные единицы**, L, включают, но ими не ограничиваются, белки, полипептиды и пептиды. Подходящие **лигандные единицы** включают, например, антитела, например, полноразмерные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, интерфероны, лимфокины, гормоны, факторы роста и колониестимулирующие факторы, витамины, молекулы, транспортирующие питательные вещества (такие как, но ими не ограничиваясь, трансферрин) или любую другую связывающую клетку молекулу или вещество. В некоторых вариантах осуществления, лигандная единица (L) представляет собой антитело или не принадлежащий к антителу белковый нацеливающий агент.

[0128] В одной группе вариантов осуществления, лигандная единица связана с Q (линкерная единица), которая содержит пептидный высвобождаемый линкер. Как отмечалось выше, в конъюгатах, описанных в настоящем документе, могут присутствовать другие связывающие компоненты с целью обеспечения дополнительного пространства между лекарственным соединением камптотецина и лигандной единицей (например, единицей вставки и, необязательно, соединительной группой, A) или придания композиции характеристик повышения растворимости (например, разделительный агент, S*). В некоторых из этих вариантов осуществления, лигандная единица связана с Z линкерной единицы через гетероатом лигандной единицы. Гетероатомы, которые могут присутствовать в лигандной единице для этого связывания, включают серу (в одном варианте осуществления из сульфгидрильной группы нацеливающего лиганда), кислород

(в одном варианте осуществления из карбоксильной или гидроксильной группы нацеливающего лиганда) и азот, необязательно замещенный (в одном варианте осуществления из первичной или вторичной аминогруппы целевого лиганда или в другом варианте осуществления из необязательно замещенного амидного азота). Эти гетероатомы могут присутствовать на нацеливающем лиганде в его естественном состоянии, например, в встречающемся в природе антителе, или могут быть введены в нацеливающий лиганд посредством химической модификации или биологической инженерии.

[0129] В одном варианте осуществления, лигандная единица имеет сульфгидрильную функциональную группу, что позволяет лигандной единице связываться с линкерной единицей через атом серы сульфгидрильной функциональной группы.

[0130] В другом варианте осуществления, лигандная единица имеет один или несколько остатков лизина, которые способны взаимодействовать с активированными сложными эфирами (такие сложные эфиры включают, но ими не ограничиваются, N-гидроксисукцимидный, пентафторфениловый и п-нитрофениловый сложные эфиры) предшественника единицы вставки промежуточного соединения камптотецин-линкер и, таким образом, обеспечивает амидную связь, состоящую из атома азота лигандной единицы и группы C=O единицы вставки линкерной единицы.

[0131] В еще одном аспекте, лигандная единица имеет один или несколько остатков лизина, способных к химической модификации для введения одной или нескольких сульфгидрильных групп. В этих вариантах осуществления, лигандная единица ковалентно присоединена к линкерной единице через атом серы сульфгидрильной функциональной группы. Реагенты, которые можно использовать для такой модификации лизинов, включают, но ими не ограничиваются, N-сукцинимидил-S-ацетилтиоацетат (SATA) и 2-иминотиолана гидрохлорид (реагент Трота).

[0132] В другом варианте осуществления, лигандная единица имеет одну или несколько углеводных групп, способных к модификации с образованием одной или нескольких сульфгидрильных функциональных групп. Химически модифицированная лигандная единица в камптотециновом конъюгате связана с компонентом линкерной единицы (например, единицей вставки) через атом серы сульфгидрильной функциональной группы.

[0133] В еще одном варианте осуществления, лигандная единица имеет одну или несколько углеводных групп, которые могут быть окислены с образованием функциональной группы альдегида (-CHO). (см., например, Laguzza, et al., 1989, J. Med. Chem. 32(3):548-55). В этих вариантах осуществления, соответствующий альдегид взаимодействует с реакционноспособным участком на предшественнике единицы вставки с образованием связи между единицей вставки и лигандной единицей. Реакционноспособные участки на предшественнике единицы вставки, которые способны взаимодействовать с реакционноспособной карбонилсодержащей функциональной группой на нацеливающей лигандной единице, включают, но ими не ограничиваются,

гидразин и гидроксилламин. Другие протоколы модификации белков для присоединения линкерных единиц (Q) или родственных видов описаны в Coligan et al., *Current Protocols in Protein Science*, vol. 2, John Wiley & Sons (2002) (включенном в настоящее описание посредством ссылки).

[0134] В некоторых аспектах, лигандная единица способна образовывать связь путем взаимодействия с реакционноспособной функциональной группой на предшественнике единицы вставки (Z') с образованием ковалентной связи между единицей вставки (Z) и лигандной единицей, соответствующей целевому лиганду. Функциональная группа Z' , обладающая такой способностью взаимодействовать с нацеливающим лигандом, будет зависеть от природы лигандной единицы. В некоторых вариантах осуществления, реакционноспособная группа представляет собой малеимид, который присутствует в единице вставки до ее присоединения с образованием лигандной единицы (т.е. малеимидного фрагмента предшественника единицы вставки). Ковалентное присоединение лигандной единицы к единице вставки осуществляется посредством сульфгидрильной функциональной группы лигандной единицы, взаимодействующей с малеимидной функциональной группой Z' с образованием тиозамещенного сукцинимиды. Сульфгидрильная функциональная группа может присутствовать в лигандной единице в ее естественном состоянии, например, в природном остатке, или может быть введена в лигандную единицу посредством химической модификации или биологической инженерии.

[0135] В еще одном варианте осуществления, лигандная единица представляет собой антитело, а сульфгидрильная группа образуется путем восстановления межцепочечного дисульфида антитела. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, линкерная единица конъюгирована с оставшейся частью цистеина из восстановленного межцепочечного дисульфида(ов).

[0136] В еще одном варианте осуществления, лигандная единица представляет собой антитело, а сульфгидрильная функциональная группа химически введена в антитело, например, путем введения цистеинового остатка. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, линкерная единица (с присоединенным камптотечином или без него) конъюгирована с лигандной единицей через введенный цистеиновый остаток лигандной единицы.

[0137] В отношении биоконъюгатов, наблюдалось, что участок конъюгации лекарственного средства может оказывать влияние на ряд параметров, включая легкость конъюгации, стабильность лекарственного средства-линкера, воздействовать на биофизические свойства полученных биоконъюгатов и цитотоксичность *in vitro*. В отношении стабильности лекарственное средство-линкер, участок конъюгации фрагмента лекарственного средства-линкер с лигандной единицей может оказывать влияние на способность конъюгированного фрагмента лекарственного средства-линкер подвергаться реакции элиминации, в некоторых случаях вызывая преждевременное высвобождение свободного лекарственного средства. Участки для конъюгации с нацеливающим лигандом

включают, например, восстановленный межцепочечный дисульфид, а также выбранные цистеиновые остатки на сконструированных участках. В некоторых вариантах осуществления, способы конъюгации для образования камптотециновых конъюгатов, описанных в настоящем описании, используют тиоловые остатки на генетически сконструированных участках, которые менее восприимчивы к реакции элиминации (например, позиции 239 согласно индексу ЕС, изложенному в Kabat) по сравнению с конъюгацией. методы, в которых используются тиоловые остатки восстановленной дисульфидной связи. В других вариантах осуществления, в способах конъюгирования с образованием камптотециновых конъюгатов, описанных в настоящем описании, используются тиоловые остатки на участках, которые более восприимчивы к реакции элиминирования (например, в результате восстановления межцепочечного дисульфида).

[0138] В некоторых вариантах осуществления, камптотециновый конъюгат содержит неиммунореактивный белок, полипептид или пептид в качестве своей лигандной единицы. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, лигандная единица представляет собой неиммунореактивный белок, полипептид или пептид. Примеры включают, но ими не ограничиваются, трансферрин, эпидермальные факторы роста (“EGF”), бомбезин, гастрин, гастрин-высвобождающий пептид, фактор роста тромбоцитов, IL-2, IL-6, трансформирующие факторы роста (“TGF”), такие как TGF- α и TGF- β , фактор роста осповакцины (“VGF”), инсулин и инсулиноподобные факторы роста I и II, соматостатин, лектины и апопротеин из липопротеинов низкой плотности.

[0139] Особенно предпочтительными являются **лигандные единицы** из антител. Фактически, в любом из вариантов осуществления, описанных в настоящем описании, лигандная единица может происходить из антитела. Подходящие поликлональные антитела представляют собой гетерогенные популяции молекул антител, полученных из сывороток иммунизированных животных. Подходящие моноклональные антитела представляют собой гомогенные популяции антител к конкретной антигенной детерминанте (например, антигену злокачественных клеток, вирусному антигену, микробному антигену, белку, пептиду, углеводу, химическому веществу, нуклеиновой кислоте или их фрагментам). Моноклональное антитело (mAb) к представляющему интерес антигену может быть получено с использованием любой методики, известной в данной области, которая обеспечивает продукцию молекул антитела непрерывными клеточными линиями в культуре.

[0140] Подходящие моноклональные антитела включают, но ими не ограничиваются, человеческие моноклональные антитела, гуманизированные моноклональные антитела или химерные моноклональные антитела человека и мыши (или других видов). Антитела включают полноразмерные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты. Человеческие моноклональные антитела можно получить любым из множества способов, известных в данной области (например, Teng et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 80:7308-7312; Kozbor et al., 1983, Immunology Today 4:72-79; и Olsson et al., 1982, Meth. Enzymol. 92:3-16).

[0141] Антитело может быть функционально активным фрагментом, производным или аналогом антитела, которое иммуноспецифически связывается с клетками-мишенями (например, антигенами злокачественных клеток, вирусными антигенами или микробными антигенами) или другими антителами, связанными с опухолевыми клетками или матрицей. В этом отношении “функционально активный” означает, что фрагмент, производное или аналог способен иммуноспецифически связываться с клетками-мишенями. Чтобы определить, какие CDR последовательности связывают антиген, синтетические пептиды, содержащие CDR последовательности, можно использовать в анализах связывания с антигеном любым методом анализа связывания, известным в данной области (например, анализ в системе BIAcore). (см., например, Kabat et al., 1991, *Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md*; Kabat E et al., 1980, *J. Immunology* 125(3):961-969).

[0142] Другие используемые антитела включают фрагменты антител, такие как, но ими не ограничиваясь, F(ab')₂-фрагменты, Fab-фрагменты, Fv, одноцепочечные антитела, диатела, триатела, тетратела, scFv, scFv-FV или любые другие молекулы с той же специфичностью, что и антитело.

[0143] Кроме того, используемыми антителами являются рекомбинантные антитела, например химерные и гуманизированные моноклональные антитела, содержащие как человеческие, так и нечеловеческие части, которые могут быть получены с использованием стандартных методов рекомбинантной ДНК. Химерное антитело представляет собой молекулу, в которой разные части получены из разных видов животных, например, которые имеют вариабельную область, полученную из константных областей мышиноного моноклонального и человеческого иммуноглобулина. (См., например, патент США № 4816567; и патент США № 4816397, которые полностью включены в настоящее описание посредством ссылки) Гуманизированные антитела представляют собой молекулы антител из биологических видов животных, не относящихся к человеку, имеющих одну или несколько определяющих комплементарность областей (CDR) из биологических видов, не относящихся к человеку, и каркасную область из молекулы иммуноглобулина человека. (См., например, патент США № 5585089, который полностью включен в настоящее описание посредством ссылки). Такие химерные и гуманизированные моноклональные антитела могут быть получены методами рекомбинантной ДНК, известными в данной области, например, с использованием способов, описанных в международной публикации № WO 87/02671; в публикации заявки на европейский патент № 0184187; в публикации заявки на европейский патент № 0171496; в публикации заявки на европейский патент № 0173494; в международной публикации № WO 86/01533; в патенте США № 4816567; в публикации заявки на европейский патент № 012023; Berter et al., 1988, *Science* 240:1041-1043; Liu et al., 1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:3439-3443; Liu et al., 1987, *J. Immunol.* 139:3521-3526; Sun et al., 1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:214-218; Nishimura et al., 1987, *Cancer. Res.* 47:999-1005; Wood et al., 1985, *Nature* 314:446-449; и Shaw et al., 1988, *J. Natl. Cancer Inst.*

80:1553-1559; Morrison, 1985, Science 229:1202-1207; Oi et al., 1986, BioTechniques 4:214; в патенте США № 5225539; Jones et al., 1986, Nature 321:552-525; Verhoevan et al., 1988, Science 239:1534; и Beidler et al., 1988, J. Immunol. 141:4053-4060; каждый из которых включен в настоящее описание посредством ссылки полностью.

[0144] В некоторых случаях, полностью человеческие антитела (например, в случаях, когда может проявляться иммуногенность к нечеловеческому или химерному антителу) более желательны и могут быть получены с использованием трансгенных мышей, которые неспособны экспрессировать гены тяжелых и легких цепей эндогенного иммуноглобулина, но которые могут экспрессировать гены тяжелых и легких цепей человека.

[0145] Антитела включают аналоги и производные, которые либо модифицированы, то есть путем ковалентного присоединения любого типа молекулы, пока такое ковалентное присоединение позволяет антителу сохранять свою антигенсвязывающую иммуноспецифичность. Например, но не в качестве ограничения, производные и аналоги антител включают такие производные и аналоги, которые были дополнительно модифицированы, например, гликозилированием, ацелированием, ПЭгилированием, фосфорилированием, амидированием, дериватизацией известными защитными/блокирующими группами, протеолитическим расщеплением, связыванием с группой клеточного антитела или другим белком и т.д. Любая из многочисленных химических модификаций может быть проведена известными методами, включая, но ими не ограничиваясь, специфическое химическое расщепление, ацелирование, введение радикала, метаболический синтез в присутствии туникамицина и т.д. Кроме того, аналог или производное могут содержать один или несколько неродных аминокислот.

[0146] Антитела могут иметь модификации (например, замены, делеции или добавления) в аминокислотных остатках, которые взаимодействуют с Fc-рецепторами. В частности, антитела могут иметь модификации аминокислотных остатков, идентифицированных как участвующие во взаимодействии между анти-Fc доменом и рецептором FcRn (см., например, международную публикацию № WO 97/34631, которая полностью включена в настоящее описание посредством ссылки).

[0147] Иммуноспецифические антитела к антигену злокачественных клеток можно получить коммерчески или получить любым способом, известным специалисту в данной области, например методами экспрессии рекомбинантных антител. Нуклеотидная последовательность, кодирующая антитела, иммуноспецифичные в отношении антигена злокачественных клеток, может быть получена, например, из базы данных GenBank или подобной базы данных, литературных публикаций или путем обычного клонирования и секвенирования.

[0148] В конкретном варианте осуществления, можно использовать известное антитело для лечения злокачественной опухоли.

[0149] В другом конкретном варианте осуществления, антитела для лечения аутоиммунного заболевания используются в соответствии с композициями и способами по настоящему изобретению.

[0150] В некоторых вариантах осуществления, пригодные антитела могут связываться с рецептором или рецепторным комплексом, экспрессируемым на активированном лимфоците. Рецептор или рецепторный комплекс может содержать член суперсемейства генов иммуноглобулинов, член суперсемейства рецепторов ФНО(TNF), интегрин, цитокиновый рецептор, хемокиновый рецептор, белок главного комплекса гистосовместимости, лектин или белок контроля комплемента.

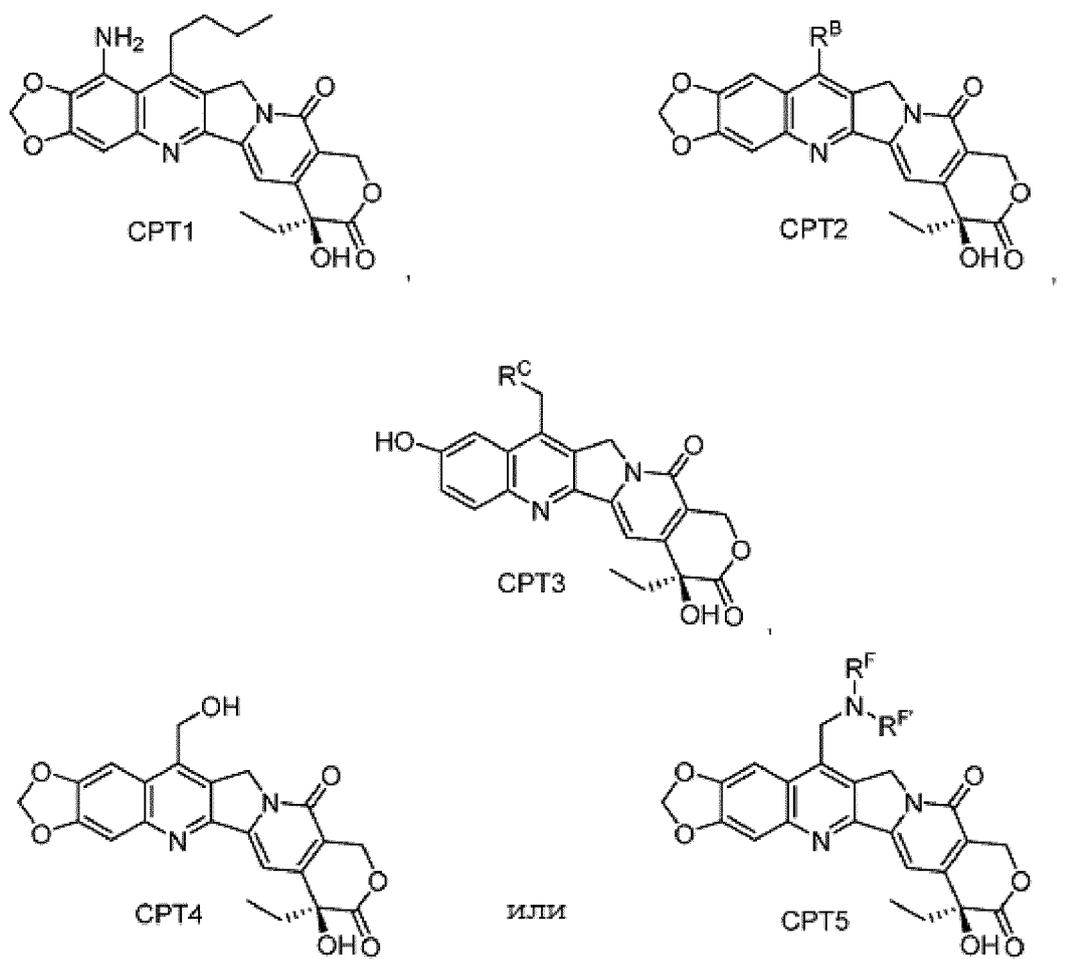
[0151] В некоторых аспектах, антитело, которое включено в камптотециновый конъюгат, будет специфически связываться с CD19, CD30, CD33, CD70 или LIV-1.

[0152] В некоторых аспектах, антитело, которое включено в камптотециновый конъюгат, специфически связывается с CD30. В других аспектах, антитело, которое включено в камптотециновый конъюгат, представляет собой анти-CD30 антитело сAC10, которое описано в международной патентной публикации № WO 02/43661. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD30 антитело содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6 соответственно. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD30 антитело включает переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 7, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD30 антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 10, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11.

[0153] В некоторых аспектах, антитело, которое включено в камптотециновый конъюгат, специфически связывается с CD70. В других аспектах, антитело, которое включено в камптотециновый конъюгат, представляет собой анти-CD70 антитело h1F6, которое описано в международной патентной публикации № WO 2006/113909. В некоторых аспектах, антитело, которое включено в камптотециновый конъюгат, специфически связывается с CD48. В других аспектах, антитело, которое включено в камптотециновый конъюгат, представляет собой анти-CD48 антитело hMEM102, которое описано в международной патентной публикации № WO 2016/149535. В некоторых аспектах, антитело, которое включено в камптотециновый конъюгат, специфически связывается с NTB-A. В других аспектах, антитело, которое включено в камптотециновый конъюгат, представляет собой анти-NTB-A антитело h20F3, которое описано в международной патентной публикации № WO 2017/004330.

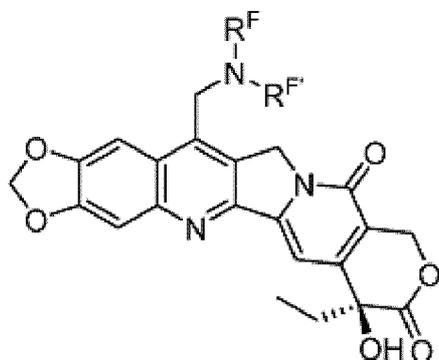
Камптотецины:

[0154] Камптотецины, используемые в различных аспектах и вариантах осуществления, описанных в настоящем описании, представлены формулами:



как описано в настоящем описании.

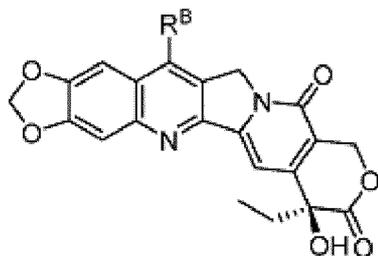
[0155] В конкретном варианте осуществления, камптотецины имеют формулу:



где каждый R^F и $\text{R}^{F'}$ независимо представляет собой H, глицил, гидроксиацетил, этил или 2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)этил, или где R^F и $\text{R}^{F'}$ объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен с образованием 5-, 6- или 7-членного гетероциклоалкильного кольца. В некоторых аспектах, R^F и $\text{R}^{F'}$ объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен, с образованием 6-членного кольца. В некоторых

аспектах, 6-членное кольцо представляет собой морфолинильную или пиперазинильную группу. В некоторых аспектах R^F представляет собой H, и R^F представляет собой глицил, гидроксиацетил, этил или 2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)этил. В некоторых аспектах, R^F представляет собой H, и R^F содержит алифатическую группу. R^F представляет собой H, и R^F содержит арильную группу. В некоторых аспектах, R^F представляет собой H, и R^F содержит амидную группу. В некоторых аспектах, R^F представляет собой H, и R^F содержит группу оксида этилена.

[0156] В конкретном варианте осуществления, камптотецины имеют формулу:



или его фармацевтически приемлемая соль,

где R^B представляет собой -H, -(C₁-C₄)алкил-OH, -(C₁-C₄)алкил-O-(C₁-C₄)алкил-NH₂, -C₁-C₈ алкил, C₁-C₈ галогеналкил, C₃-C₈ циклоалкил, C₃-C₈циклоалкилC₁-C₄ алкил, фенил или фенилC₁-C₄ алкил. В некоторых аспектах, R^B включает C₁-C₈алкил. В некоторых аспектах, R^B включает циклопропильную, пентильную, гексильную, трет-бутильную или циклопентильную группу.

[0157] Еще некоторые камптотецины, используются в контексте конъюгатов и соединений, описанных в настоящем описании. Фактически, камптотецин будет иметь пяти- или шестикольцевый конденсированный каркас, аналогичный структурам, представленным формулами СРТ1, СРТ2, СРТ3, СРТ4 и СРТ5, но может иметь дополнительные группы, включая, но ими не ограничиваясь, гидроксильную, тиоловую, аминную или амидную функциональную группу, в которой атом кислорода, серы или необязательно замещенный гетероатом азота может встраиваться в линкер и может высвобождаться из конъюгата в виде свободного лекарственного средства. В некоторых аспектах, эта функциональная группа обеспечивает единственный участок в лекарственном препарате, доступный для присоединения к линкерной единице (Q). Получаемый в результате фрагмент лекарственное средство-линкер является фрагментом, который может высвобождать активное свободное лекарственное средство из камптотецинового конъюгата, имеющего этот фрагмент на участке, на который нацелена его лигандная единица, чтобы оказывать цитотоксический, цитостатический или иммуносуппрессивный эффект.

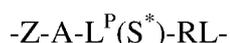
[0158] “Свободное лекарственное средство” относится к лекарственному средству, которое существует после высвобождения из фрагмента лекарственное средство-линкер. В некоторых вариантах осуществления, свободное лекарственное средство включает фрагмент группы пептидного высвобождаемого линкера (RL) или спейсерной единицы

(Y). В некоторых вариантах осуществления, свободное лекарственное средство, которое включает фрагмент группы пептидного высвобождаемого линкера, является биологически активным. Свободное лекарственное средство, которое включает фрагмент пептидного высвобождаемого линкера или спейсерной единицы (Y), высвобождается из оставшегося фрагмента лекарственного средство-линкер посредством расщепления высвобождаемого линкера или высвобождается посредством расщепления связи в группе спейсерной единицы (Y) и является активным после высвобождения. В некоторых вариантах осуществления, свободное лекарственное средство отличается от конъюгированного лекарственного средства тем, что функциональная группа лекарственного средства для присоединения к саморасщепляющейся сборочной единице больше не связана с компонентами камптотецинового конъюгата (за исключением ранее общего гетероатома). Например, свободная гидроксильная функциональная группа спиртосодержащего лекарственного средства может быть представлена в виде D-O*H, тогда как в конъюгированной форме гетероатом кислорода, обозначенный O*, включен в метилкарбаматную единицу саморасщепляющейся единицы. После активации саморасщепляемого фрагмента и высвобождения свободного лекарственного средства, ковалентная связь с O* заменяется атомом водорода, так что гетероатом кислорода, обозначенный O*, присутствует на свободном лекарственном средстве в виде -O-H.

[0159] В некоторых вариантах осуществления, камптотецины являются биологически активными. В некоторых вариантах осуществления, такие камптотецины используются в способе ингибирования топоизомеразы, уничтожения опухолевых клеток, ингибирования роста опухолевых клеток, злокачественных клеток или опухоли, подавления репликации опухолевых клеток или злокачественных клеток, уменьшения общей опухолевой нагрузки или уменьшения количество злокачественных клеток или уменьшение интенсивности одного или нескольких симптомов, ассоциированных со злокачественной опухолью или аутоиммунным заболеванием. Такие способы включают, например, контактирование злокачественных клеток с камптотециновым соединением.

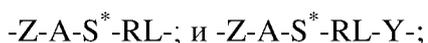
Линкерные единицы (Q)

[0160] Как отмечено выше, в некоторых вариантах осуществления, связующая группа Q имеет формулу, выбранную из группы, состоящей из:



где Z представляет собой единицу вставки, A представляет собой соединительную единицу; L^P представляет собой единицу параллельного соединения; S* представляет собой разделительный агент; RL представляет собой пептидный высвобождаемый линкер; и Y представляет собой спейсерную единицу.

[0161] В одной группе вариантов осуществления, Q имеет формулу, выбранную из группы, состоящей из:



где Z представляет собой единицу вставки, A представляет собой соединительную единицу; S* представляет собой разделительный агент; и Y представляет собой спейсерную единицу.

Единица вставки (Z) или (Z'):

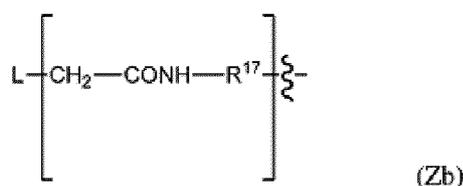
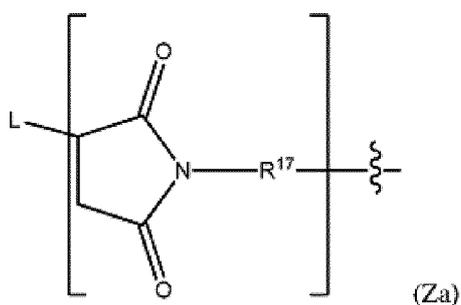
[0162] Единица вставки (Z) представляет собой компонент камптотецинового конъюгата или соединение камптотецин-линкер или другое промежуточное соединение, которое действует для связывания лигандной единицы с оставшейся частью конъюгата. В этом отношении единица вставки, до присоединения к лигандной единице (то есть предшественнику единицы вставки, Z') имеет функциональную группу, которая может образовывать связь с функциональной группой нацеливающего лиганда.

[0163] В некоторых аспектах, предшественник единицы вставки (Z') имеет электрофильную группу, которая способна взаимодействовать с реакционноспособной нуклеофильной группой, присутствующей в лигандной единице (например, антителом), для обеспечения ковалентной связи между лигандной единицей и единицей вставки линкерной единицы. Нуклеофильные группы на антителе, обладающем такой способностью, включают, но ими не ограничиваются, сульфгидрильные, гидроксильные и аминокфункциональные группы. Гетероатом нуклеофильной группы антитела взаимодействует с электрофильной группой на предшественнике единицы вставки и обеспечивает ковалентную связь между лигандной единицей и единицей вставки линкерной единицы или фрагмента лекарственного средство-линкер. Подходящие для этой цели электрофильные группы включают, но ими не ограничиваются, малеимидные, галогенацетамидные группы и сложные эфиры NHS. Электрофильная группа обеспечивает удобный участок для прикрепления антител с образованием камптотецинового конъюгата или промежуточного соединения лигандная единица-линкер.

[0164] В другом варианте осуществления, предшественник единицы вставки имеет реакционноспособный участок, который имеет нуклеофильную группу, которая является реакционноспособной по отношению к электрофильной группе, присутствующей в лигандной единице (например, антитело). Подходящие для этой цели электрофильные группы на антителе включают, но ими не ограничиваются, карбонильные группы альдегида и кетона. Гетероатом нуклеофильной группы предшественника единицы вставки может взаимодействовать с электрофильной группой на антителе и образовывать ковалентную связь с антителом. Подходящие для этой цели нуклеофильные группы в предшественнике единицы вставки включают, но ими не ограничиваются, гидразид, гидроксилламин, амино, гидразин, тиосемикарбазон, гидразинкарбоксилат и арилгидразид. Электрофильная группа на антителе обеспечивает удобный участок для присоединения антитела с образованием камптотецинового конъюгата или промежуточного соединения лигандная единица-линкер.

[0165] В некоторых вариантах осуществления, атом серы лигандной единицы связан с сукцинимидной кольцевой системой единицы вставки, образованной взаимодействием тиоловой функциональной группы нацеливающего лиганда с малеимидным фрагментом соответствующего предшественника единицы вставки. В других вариантах осуществления, тиоловая функциональная группа лигандной единицы взаимодействует с альфа-галогенацетамидным фрагментом с обеспечением сера-связанной единицы вставки путем нуклеофильного замещения ее галогенового заместителя.

[0166] Типичные единицы вставки этих вариантов осуществления включают группы, которые заключены в квадратные скобки формул Za и Zb (где лигандная единица L показана для сравнения):



где волнистая линия указывает на присоединение к единице параллельного соединения (L^P) или соединительной единице (A), если L^P отсутствует, или к разделительному агенту (S^*), если L^P отсутствует, и R^{17} представляет собой $-C_1-C_{10}$ алкилен-, C_1-C_{10} гетероалкилен-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-, $-O-(C_1-C_8)$ алкилен-, -арилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен-, -арилен- C_1-C_{10} алкилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) карбоцикло-, $-(C_3-C_8)$ карбоцикло- C_1-C_{10} алкилен-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) гетероцикло-, $-(C_3-C_8)$ гетероцикло- C_1-C_{10} алкилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- $C(=O)-$, C_1-C_{10} гетероалкилен- $C(=O)-$, $-C_3-C_8$ карбоцикло- $C(=O)-$, $-O-(C_1-C_8)$ алкилен- $C(=O)-$, -арилен- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен- $C(=O)-$, -арилен- C_1-C_{10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) карбоцикло- $C(=O)-$, $-(C_3-C_8)$ карбоцикло- C_1-C_{10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_3-C_8$ гетероцикло- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) гетероцикло- $C(=O)-$, $-(C_3-C_8)$ гетероцикло- C_1-C_{10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен-NH-, C_1-C_{10} гетероалкилен-NH-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-NH-, $-O-(C_1-C_8)$ алкилен)-NH-, -арилен-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен-NH-, -арилен- C_1-C_{10} алкилен-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) карбоцикло)-NH-, $-(C_3-C_8)$ карбоцикло- C_1-C_{10} алкилен-NH-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) гетероцикло)-NH-, $-(C_3-C_8)$ гетероцикло- C_1-C_{10} алкилен-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-S-, C_1-C_{10} гетероалкилен-S-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-S-, $-O-(C_1-C_8)$

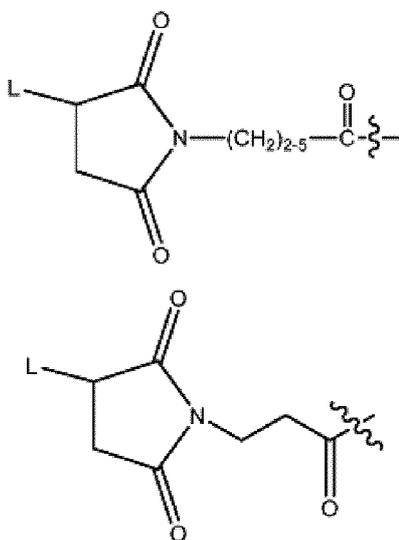
алкилен)-S-, -арилен-S-, -C₁-C₁₀ алкилен-арилен-S-, -арилен-C₁-C₁₀ алкилен-S-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ карбоцикло)-S-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-S-, -C₃-C₈ гетероцикло-S-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-S- или -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-S-.

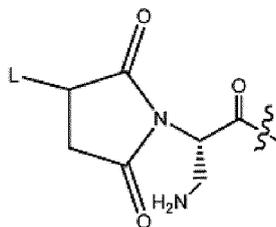
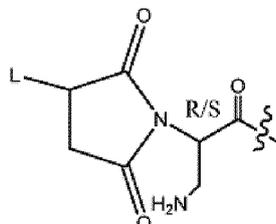
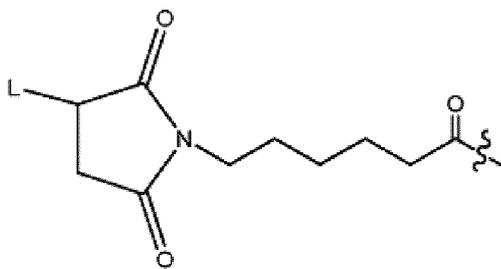
[0167] В некоторых аспектах, группа R¹⁷ формулы Za необязательно замещена основной группой (BU), такой как аминоалкильный фрагмент, например -(CH₂)_xNH₂, -(CH₂)_xNHR^a и -(CH₂)_xNR^a₂, где x представляет собой целое число от 1 до 4, и каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из C₁₋₆ алкила и C₁₋₆ галогеналкила, или две группы R^a объединяются с азотом, к которому они присоединены, с образованием азетидинильной, пирролидинильной или пиперидинильной группы.

[0168] Иллюстративная единица вставки имеет формулу Za или Zb, где R¹⁷ представляет собой -C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ гетероалкилен-C(=O)-, -C₃-C₈ карбоцикло-C(=O)-, -O-(C₁-C₈ алкилен)-C(=O)-, -арилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-арилен-C(=O)-, -арилен-C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ карбоцикло)-C(=O)-, -(C₃-C₈ карбоцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-, -C₃-C₈ гетероцикло-C(=O)-, -C₁-C₁₀ алкилен-(C₃-C₈ гетероцикло)-C(=O)- или -(C₃-C₈ гетероцикло)-C₁-C₁₀ алкилен-C(=O)-.

[0169] Другой иллюстративной единицей вставки является группа формулы Za, в которой R¹⁷ представляет собой -C₁-C₅ алкилен-C(=O)-, где алкилен необязательно замещен основной группой (BU), такой как необязательно замещенный аминоалкил, например, -(CH₂)_xNH₂, -(CH₂)_xNHR^a и -(CH₂)_xN(R^a)₂, где x представляет собой целое число от 1 до 4, и каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из C₁₋₆ алкила и C₁₋₆ галогеналкила, или две группы R^a объединяются с азотом, к которому они присоединены, с образованием азетидинильной, пирролидинильной или пиперидинильной группы. Во время синтеза, основная функциональная аминогруппа основной группы может быть защищена защитной группой.

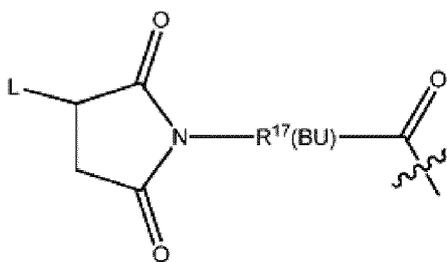
[0170] Типичные варианты осуществления единиц вставки, связанных с лигандной единицей, представлены следующими формулами:





где волнистая линия рядом с карбонилем указывает на присоединение к L^P , А или S^* в приведенных выше формулах в зависимости от присутствия или отсутствия А и/или L^P .

[0171] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления, единица вставки (Z) состоит из сукцинимидного фрагмента, который при связывании с L представлен структурой формулы Za' :

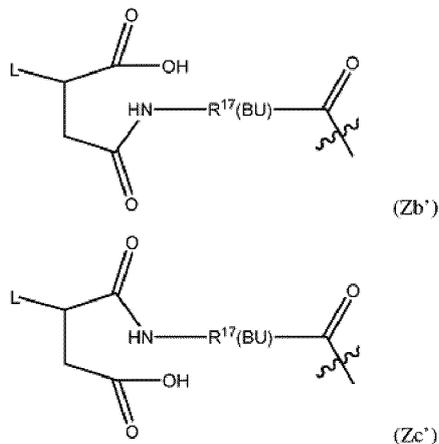


(Za')

где волнистая линия рядом с карбонилем указывает на присоединение к L^P , А или S^* в приведенных выше формулах в зависимости от присутствия или отсутствия А и/или L^P ; R^{17} представляет собой $-C_1-C_5$ алкилен-, где алкилен замещен основной группой (BU), где BU представляет собой $-(CH_2)_xNH_2$, $-(CH_2)_xNHR^a$ или $-(CH_2)_xN(R^a)_2$, где x представляет собой целое число от 1 до 4, и каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из C_{1-6} алкила и C_{1-6} галогеналкила, или оба R^a вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют азетидинильную, пирролидинильную или пиперидинильную группу.

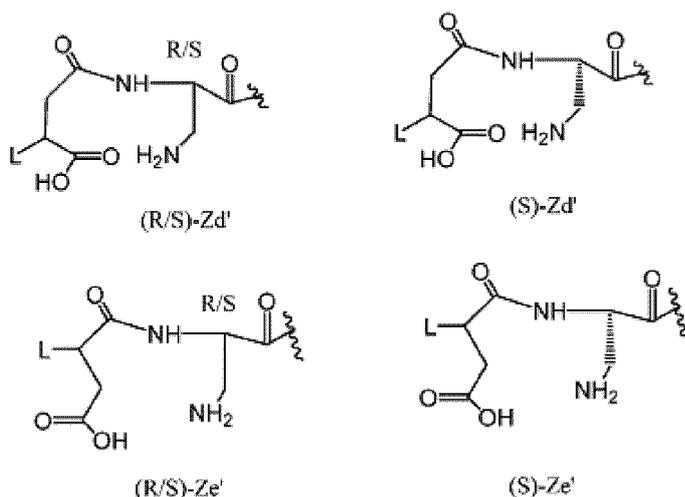
[0172] Следует понимать, что соединение лигандная единица-замещенный сукцинимид может существовать в гидролизованной форме(формах). Эти формы

приведены ниже в качестве примеров для гидролиза Za' , связанного с L , где структуры, представляющие региоизомеры, полученные в результате этого гидролиза, имеют формулу Zb' и Zc' . Соответственно, в других предпочтительных вариантах осуществления, единица вставки (Z) состоит из фрагмента кислота-амид, который при связывании с L представлен следующим:



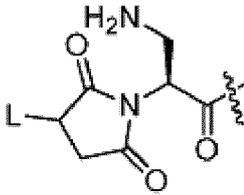
волнистая линия рядом с карбонилем, связанным с R^{17} , соответствует определению для Za' в зависимости от наличия или отсутствия A и/или L^P ; и R^{17} представляет собой C_1 - C_5 алкилен-, где алкилен замещен основной группой (BU), где BU представляет собой $-(CH_2)_xNH_2$, $-(CH_2)_xNHR^a$ или $-(CH_2)_xN(R^a)_2$, где x представляет собой целое число от 1 до 4, и каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из C_{1-6} алкила и C_{1-6} галогеналкила, или оба R^a вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют азетидинильную, пирролидинильную или пиперидинильную группу.

[0173] В некоторых вариантах осуществления, единица вставки (Z) состоит из фрагмента кислота-амид, который при связывании с L представлен структурой формулы Zd' или Ze' :

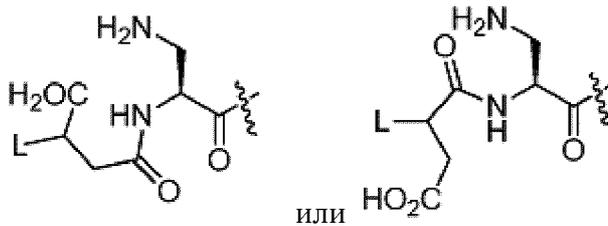


где волнистая линия рядом с карбонилем соответствует тому, что определено для Za' .

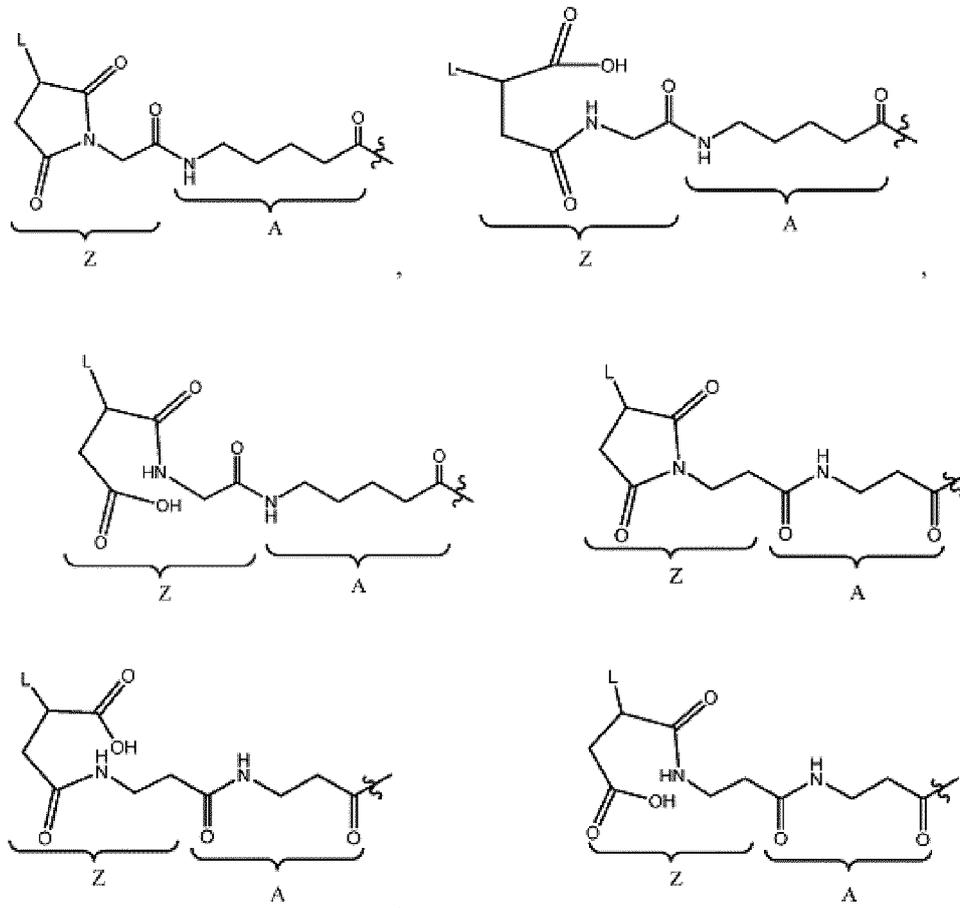
[0174] В предпочтительных вариантах осуществления, единица вставки (Z) состоит из сукцинимидного фрагмента, который при связывании с L представлен структурой

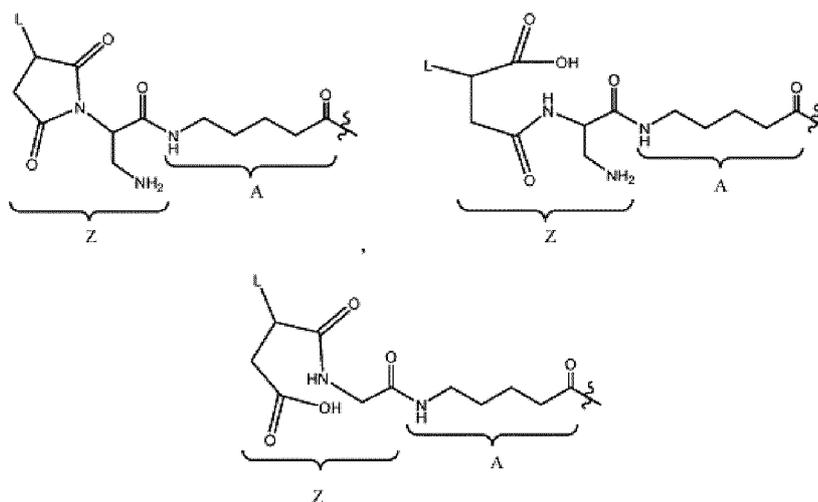


который образуется из малеимида-амино-пропионилового аналога (mDPR) (производное 3-амино-2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропановой кислоты), или из кислотно-амидного фрагмента, который при связывании с L представлен структурой:



[0175] Иллюстративные единицы вставки, связанные с лигандной единицей (L) и соединительной единицей (A), имеют следующие структуры, которые состоят из структуры из Za, Za', Zb' или Zc', где $-R^{17}$ - или $-R^{17}(BU)$ - представляет собой $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ или $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{NH}_2)-$:

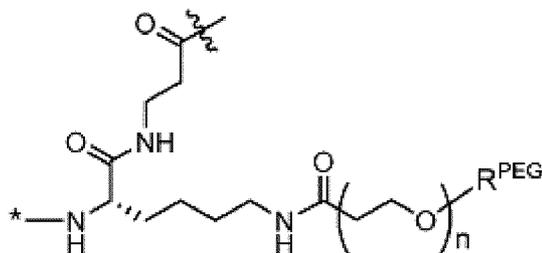




где волнистая линия рядом с карбонилем соответствует тому, что определено для Za' .

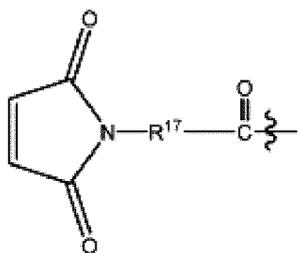
[0176] В одной группе вариантов осуществления, Z-A- включает компонент малеимидо-алкановая кислота или компонент mDPR. См., например, см. WO 2013/173337. В одной группе вариантов осуществления, Z-A- представляет собой малеимидопропионильный компонент.

[0177] Другие единицы вставки, связанные с лигандной единицей (L) и соединительной единицей (A), имеют указанные выше структуры, в которых A, в указанных выше структурах Z-A, заменен единицей параллельного соединения, имеющей структуру



где n равно от 8 до 24; R^{PEG} представляет собой блокирующую группу ПЭГ, предпочтительно $-CH_3$ или $-CH_2CH_2CO_2H$, звездочка (*) указывает на ковалентное присоединение к единице вставки, соответствующей по структуре формуле Za , Za' , Zb' или Zc' , и волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к высвобождаемому линкеру (RL).

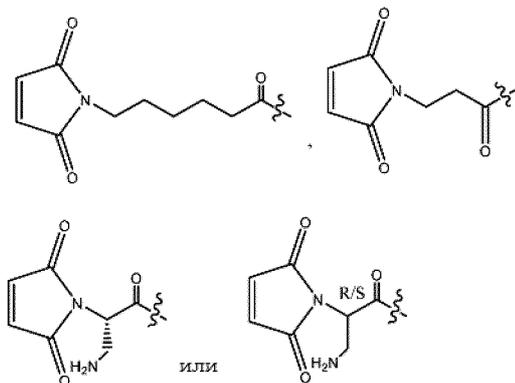
[0178] Иллюстративные единицы вставки перед конъюгацией с лигандной единицей (то есть предшественники единицы вставки) состоят из малеимидного фрагмента и представлены структурами, включающими структуру формулы $Z'a$:



(Z'a)

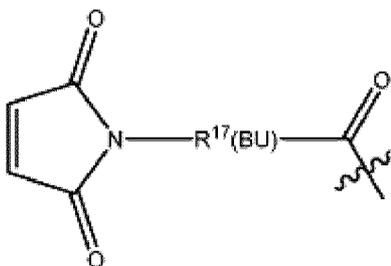
где волнистая линия рядом с карбонилем соответствует тому, что определено для Za' ; и R^{17} представляет собой $-(CH_2)_{1-5}-$, необязательно замещенную основной группой, такой как необязательно замещенный аминоалкил, например $-(CH_2)_xNH_2$, $-(CH_2)_xNHR^a$ и $-(CH_2)_xN(R^a)_2$, где x представляет собой целое число от 1 до 4, и каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из C_{1-6} алкила и C_{1-6} галогеналкила, или две группы R^a объединены с атомом азота, к которому они присоединены, с образованием азетидинильной, пирролидинильной или пиперидинильной группы.

[0179] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления формулы $Z'a$, предшественник единицы вставки (Z') представлен одной из следующих структур:



где волнистая линия рядом с карбонилем соответствует тому, что определено для Za' .

[0180] В других предпочтительных вариантах осуществления, предшественник единицы вставки (Z') состоит из малеимидного фрагмента и представлен структурой формулы Za' :

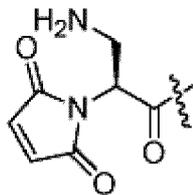


(Za')

где волнистая линия рядом с карбонилем связанным с R^{17} , соответствует тому, что определено для Za' ; и R^{17} представляет собой $-C_1-C_5$ алкилен-, где алкилен замещен основной группой (BU), где BU представляет собой $-(CH_2)_xNH_2$, $-(CH_2)_xNHR^a$ или $-(CH_2)_xN(R^a)_2$, где x представляет собой целое число от 1 до 4, и каждый R^a независимо

выбран из группы, состоящей из C_{1-6} алкила и C_{1-6} галогеналкила, или оба R^a вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют азетидинильную, пирролидинильную или пиперидинильную группу.

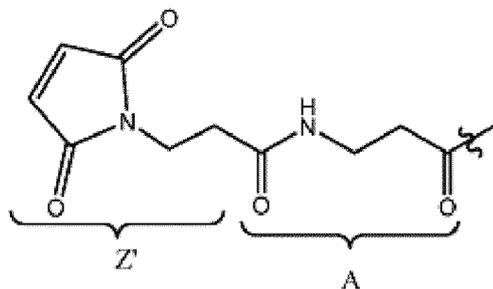
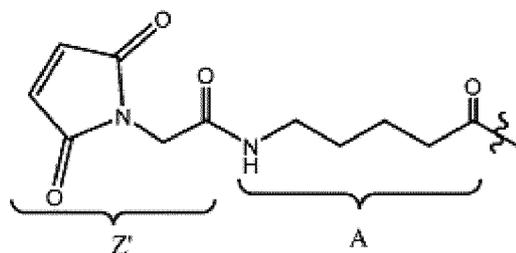
[0181] В более предпочтительных вариантах осуществления, предшественник единицы вставки (Z') состоит из малеимидного фрагмента и представлен структурой:

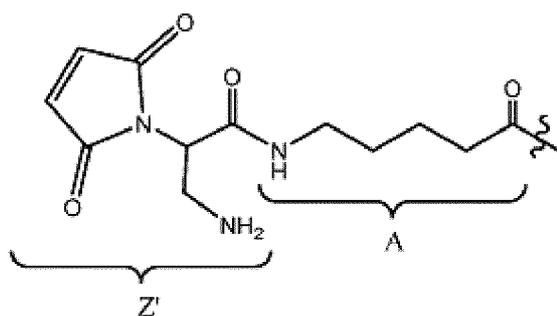


где волнистая линия рядом с карбонилем соответствует тому, что определено для Za' .

[0182] В единицах вставки, содержащих фрагмент BU, следует понимать, что функциональная аминогруппа этого фрагмента может быть защищена аминозащитной группой во время синтеза, например кислото-неустойчивой защитной группой (например, BOC).

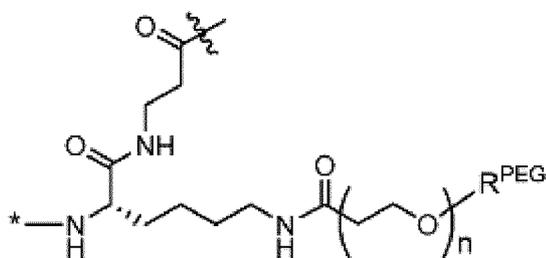
[0183] Иллюстративные предшественники единицы вставки, ковалентно связанные с соединительной единицей, которые состоят из структуры Za или Za' , где $-R^{17}-$ или $-R^{17}(BU)-$ представляет собой $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$ или $-CH(CH_2NH_2)-$, имеют следующие структуры:





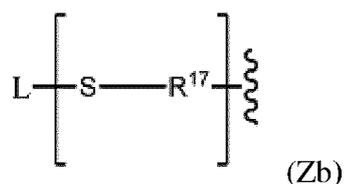
где волнистая линия рядом с карбонилем соответствует тому, что определено для Za' .

[0184] Другие предшественники единицы вставки, связанные соединительной единицей (A), имеют структуры, указанные выше, в которых A в указанных выше структурах $Z'-A$ заменен на единицу параллельного соединения и разделительный агент ($-L^P(S^*)-$), имеющий структуру



где n составляет от 8 до 24; R^{PEG} представляет собой блокирующую группу ПЭГ, предпочтительно $-CH_3$ или $-CH_2CH_2CO_2H$, звездочка (*) указывает на ковалентное присоединение к предшественнику единицы вставки, соответствующему по структуре формуле Za или Za' , а волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к RL. В случаях, подобных показанным в настоящем описании, показанная группа ПЭГ предназначена для примера множества разделительных агентов, включая группы ПЭГ разной длины и другие разделительные агенты, которые могут быть непосредственно присоединены или модифицированы для присоединения к единице параллельного соединения.

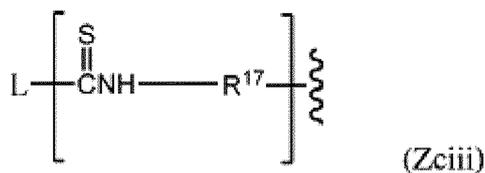
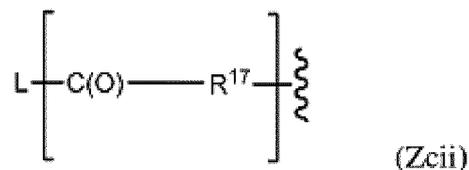
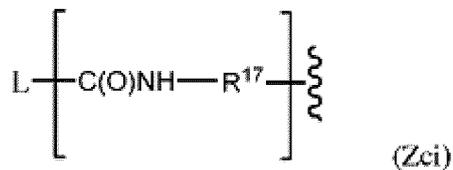
[0185] В другом варианте осуществления, единица вставки присоединена к лигандной единице посредством дисульфидной связи между атомом серы лигандной единицы и атомом серы единицы вставки. Типичная единица вставки этого варианта осуществления представлена в квадратных скобках формулы Zb :



где волнистая линия указывает на присоединение к единице параллельного соединения (L^P) или соединительной единице (A), если L^P отсутствует, или

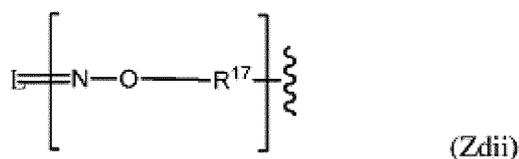
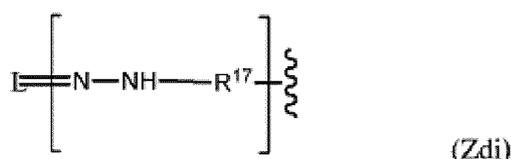
разделительному агенту (S^*), если A и L^P отсутствуют, и R^{17} представляет собой $-C_1-C_{10}$ алкилен-, C_1-C_{10} гетероалкилен-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-, $-O-(C_1-C_8$ алкилен)-, -арилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен-, -арилен- C_1-C_{10} алкилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- $(C_3-C_8$ карбоцикло)-, $-(C_3-C_8$ карбоцикло)- C_1-C_{10} алкилен-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- $(C_3-C_8$ гетероцикло)-, $-(C_3-C_8$ гетероцикло)- C_1-C_{10} алкилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- $C(=O)-$, C_1-C_{10} гетероалкилен- $C(=O)-$, $-C_3-C_8$ карбоцикло- $C(=O)-$, $-O-(C_1-C_8$ алкилен)- $C(=O)-$, -арилен- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен- $C(=O)-$, -арилен- C_1-C_{10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен- $(C_3-C_8$ карбоцикло)- $C(=O)-$, $-(C_3-C_8$ карбоцикло)- C_1-C_{10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_3-C_8$ гетероцикло- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен- $(C_3-C_8$ гетероцикло)- $C(=O)-$, $-(C_3-C_8$ гетероцикло)- C_1-C_{10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен-NH-, C_1-C_{10} гетероалкилен-NH-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-NH-, $-O-(C_1-C_8$ алкилен)-NH-, -арилен-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен-NH-, -арилен- C_1-C_{10} алкилен-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- $(C_3-C_8$ карбоцикло)-NH-, $-(C_3-C_8$ карбоцикло)- C_1-C_{10} алкилен-NH-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- $(C_3-C_8$ гетероцикло)-NH-, $-(C_3-C_8$ гетероцикло)- C_1-C_{10} алкилен-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-S-, C_1-C_{10} гетероалкилен-S-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-S-, $-O-(C_1-C_8$ алкилен)-S-, -арилен-S-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен-S-, -арилен- C_1-C_{10} алкилен-S-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- $(C_3-C_8$ карбоцикло)-S-, $-(C_3-C_8$ карбоцикло)- C_1-C_{10} алкилен-S-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-S-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- $(C_3-C_8$ гетероцикло)-S- или $-(C_3-C_8$ гетероцикло)- C_1-C_{10} алкилен-S-.

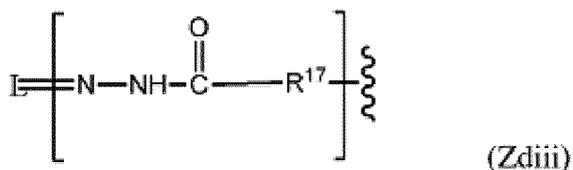
[0186] В еще одном варианте осуществления, реакционноспособная группа предшественника единицы вставки содержит реакционноспособный участок, который может образовывать связь с первичной или вторичной аминогруппой лигандной единицы. Примеры этих реакционноспособных участков включают, но ими не ограничиваются, активированные сложные эфиры, такие как сложные эфиры сукцинимиды, сложные эфиры 4-нитрофенила, сложные эфиры пентафторфенила, сложные эфиры тетрафторфенила, ангидриды, хлорангидриды, сульфонилхлориды, изоцианаты и изотиоцианаты. Типичные единицы вставки этого варианта осуществления изображены в квадратных скобках формул Zci, Zcii и Zciii:



где волнистая линия указывает на присоединение к единице параллельного соединения (L^P) или соединительной единице (A), если L^P отсутствует, или к разделительному агенту (S^*), если A и L^P отсутствуют, и R^{17} представляет собой $-C_1-C_{10}$ алкилен-, C_1-C_{10} гетероалкилен-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-, $-O-(C_1-C_8$ алкилен)-, -арилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен-, -арилен- C_1-C_{10} алкилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-(C_3-C_8 карбоцикло)-, -(C_3-C_8 карбоцикло)- C_1-C_{10} алкилен-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-(C_3-C_8 гетероцикло)-, -(C_3-C_8 гетероцикло)- C_1-C_{10} алкилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- $C(=O)-$, C_1-C_{10} гетероалкилен- $C(=O)-$, $-C_3-C_8$ карбоцикло- $C(=O)-$, $-O-(C_1-C_8$ алкилен)- $C(=O)-$, -арилен- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен- $C(=O)-$, -арилен- C_1-C_{10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен-(C_3-C_8 карбоцикло)- $C(=O)-$, -(C_3-C_8 карбоцикло)- C_1-C_{10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_3-C_8$ гетероцикло- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен-(C_3-C_8 гетероцикло)- $C(=O)-$, -(C_3-C_8 гетероцикло)- C_1-C_{10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен-NH-, C_1-C_{10} гетероалкилен-NH-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-NH-, $-O-(C_1-C_8$ алкилен)-NH-, -арилен-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен-NH-, -арилен- C_1-C_{10} алкилен-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-(C_3-C_8 карбоцикло)-NH-, -(C_3-C_8 карбоцикло)- C_1-C_{10} алкилен-NH-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-(C_3-C_8 гетероцикло)-NH-, -(C_3-C_8 гетероцикло)- C_1-C_{10} алкилен-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-S-, C_1-C_{10} гетероалкилен-S-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-S-, $-O-(C_1-C_8$ алкилен)-S-, -арилен-S-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен-S-, -арилен- C_1-C_{10} алкилен-S-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-(C_3-C_8 карбоцикло)-S-, -(C_3-C_8 карбоцикло)- C_1-C_{10} алкилен-S-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-S-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-(C_3-C_8 гетероцикло)-S- или -(C_3-C_8 гетероцикло)- C_1-C_{10} алкилен-S-.

[0187] В еще одном аспекте, реакционноспособная группа предшественника единицы вставки содержит реакционноспособный нуклеофил, который способен взаимодействовать с электрофилом, присутствующим на или введенным в лигандную единицу. Например, углеводный фрагмент на целевом лиганде может незначительно окисляться с использованием реагента, такого как периодат натрия, и полученная электрофильная функциональная группа ($-CHO$) окисленного углевода может быть конденсирована с помощью группы предшественника вставки, которая содержит реакционноспособный нуклеофил, такой как гидразид, оксим, первичный или вторичный амин, гидразин, тиосемикарбазон, карбоксилат гидразина или арилгидразид, например описанные Kaneko, T. et al. (1991) *Bioconjugate Chem.* 2:133-41. Типичные единицы вставки этого варианта осуществления изображены в квадратных скобках формул Zdi, Zdii и Zdiii:





где волнистая линия указывает на присоединение к единице параллельного соединения (L^P), соединительной единице (A) или разделительному агенту (S^*), если A и L^P отсутствуют, и R^{17} представляет собой $-C_1-C_{10}$ алкилен-, C_1-C_{10} гетероалкилен-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-, $-O-(C_1-C_8)$ алкилен-, -арилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен-, -арилен- C_1-C_{10} алкилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) карбоцикло-, $-(C_3-C_8)$ карбоцикло- C_1-C_{10} алкилен-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) гетероцикло-, $-(C_3-C_8)$ гетероцикло- C_1-C_{10} алкилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- $C(=O)-$, C_1-C_{10} гетероалкилен- $C(=O)-$, $-C_3-C_8$ карбоцикло- $C(=O)-$, $-O-(C_1-C_8)$ алкилен- $C(=O)-$, -арилен- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен- $C(=O)-$, -арилен- C_1-C_{10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) карбоцикло- $C(=O)-$, $-(C_3-C_8)$ карбоцикло- C_1-C_{10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_3-C_8$ гетероцикло- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) гетероцикло- $C(=O)-$, $-(C_3-C_8)$ гетероцикло- C_1-C_{10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен-NH-, C_1-C_{10} гетероалкилен-NH-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-NH-, $-O-(C_1-C_8)$ алкилен-NH-, -арилен-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен-NH-, -арилен- C_1-C_{10} алкилен-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) карбоцикло-NH-, $-(C_3-C_8)$ карбоцикло- C_1-C_{10} алкилен-NH-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) гетероцикло-NH-, $-(C_3-C_8)$ гетероцикло- C_1-C_{10} алкилен-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-S-, C_1-C_{10} гетероалкилен-S-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-S-, $-O-(C_1-C_8)$ алкилен-S-, -арилен-S-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен-S-, -арилен- C_1-C_{10} алкилен-S-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) карбоцикло-S-, $-(C_3-C_8)$ карбоцикло- C_1-C_{10} алкилен-S-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-S-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) гетероцикло-S- или $-(C_3-C_8)$ гетероцикло- C_1-C_{10} алкилен-S-.

[0188] В некоторых аспектах настоящего изобретения, единица вставки имеет массу не больше, чем около 1000 дальтон, не больше, чем около 500 дальтон, не больше, чем около 200 дальтон, от приблизительно 30, 50 или 100 дальтон до приблизительно 1000 дальтон, от приблизительно 30, 50 или 100 дальтон до приблизительно 500 дальтон или от приблизительно 30, 50 или 100 дальтон до приблизительно 200 дальтон.

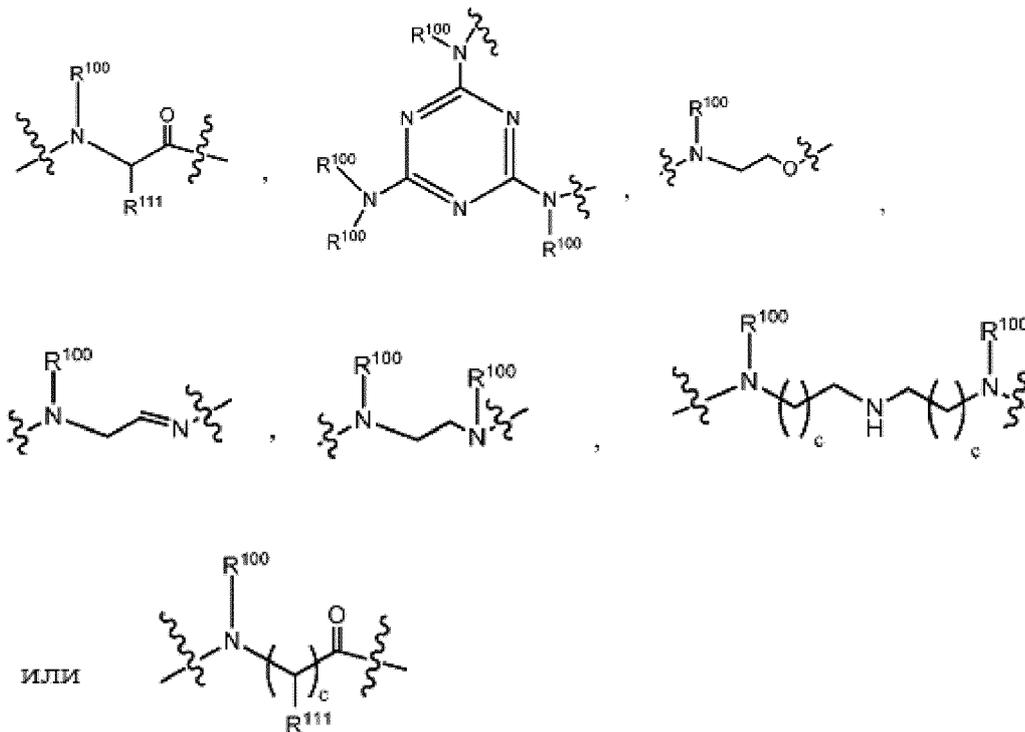
Соединительная единица (A)

[0189] Соединительная единица (A) служит для связывания единицы вставки (Z) с разделительным агентом (S^*) или сочетанием единица параллельного соединения/разделительный агент ($-L^P(S^*)-$). В некоторых вариантах осуществления, соединительная единица (A) представляет собой связь, которая непосредственно связывает компоненты. В некоторых вариантах осуществления, соединительная единица (A) включена в камптотециновый конъюгат или соединение камптотецин-линкер для добавления дополнительного расстояния между единицей вставки (Z) или ее предшественником (Z') и пептидным высвобождаемым линкером (RL). В некоторых аспектах, дополнительное расстояние будет способствовать активации в RL. Соответственно, соединительная единица (A), если она присутствует, расширяет каркас

линкерной единицы. В этой связи, соединительная единица (A) ковалентно связана с единицей вставки (или ее предшественником) на одном конце и ковалентно связана с необязательной единицей параллельного соединения (LP) или разделительным агентом (S*) на другом конце.

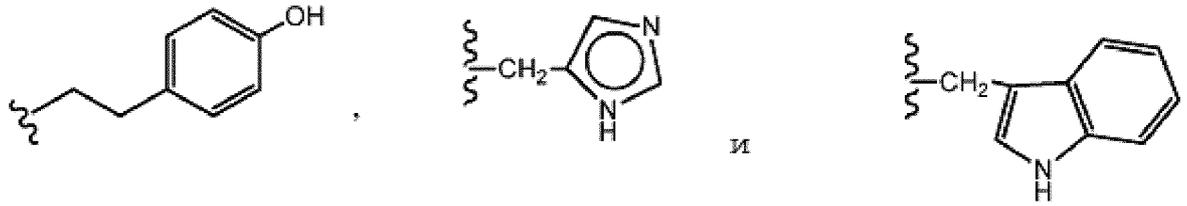
[0190] Квалифицированный специалист поймет, что соединительная единица может представлять собой любую группу, которая служит для обеспечения присоединения части разделительный агент/пептидный высвобождаемый линкер (-S*-RL-) или части единица параллельного соединения/разделительный агент/пептидный высвобождаемый линкер (-LP(S*)-RL-) к оставшейся линкерной единице (Q). Соединительная единица может состоять, например, из одной или нескольких (например, 1-10, предпочтительно, 1, 2, 3 или 4) природных или не природных аминокислот, аминокспирта, аминокальдегида, диамино-остатков. В некоторых аспектах, соединительная единица представляет собой отдельную природную или не природную аминокислоту, аминокспирт, аминокальдегид или диамино-остаток. Типичной аминокислотой, способной действовать в качестве соединительных единиц, является β-аланин.

[0191] В некоторых аспектах, соединительная единица имеет формулу, представленную ниже:



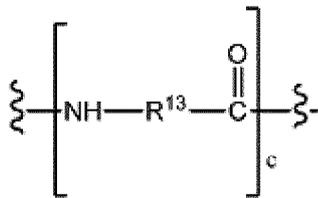
где волнистые линии указывают на присоединение соединительной единицы к соединению камптотецинового конъюгата или камптотецин линкер; и где R¹¹¹ независимо выбран из группы, состоящей из водорода, p-гидроксипензила, метила, изопропила, изобутила, втор-бутила, -CH₂OH, -CH(OH)CH₃, -CH₂CH₂SCH₃, -CH₂CONH₂, -CH₂COOH, -CH₂CH₂CONH₂, -CH₂CH₂COOH, -(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂, -(CH₂)₃NH₂, -(CH₂)₃NHCOCH₃, -(CH₂)₃NHCHO, -(CH₂)₄NHC(=NH)NH₂, -(CH₂)₄NH₂, -(CH₂)₄NHCOCH₃, -(CH₂)₄NHCHO, -

$(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NH}_2$, 2-пиридилметил-, 3-пиридилметил-, 4-пиридилметил-,



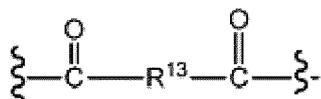
и каждый R^{100} независимо выбран из водорода или $-\text{C}_1-\text{C}_3$ алкила, предпочтительно водорода или CH_3 ; и нижний индекс с представляет собой независимо выбранное целое число от 1 до 10, предпочтительно от 1 до 3.

[0192] Типичная соединительная единица, имеющая карбонильную группу для присоединения к разделительному агенту (S^*) или $-\text{L}^{\text{P}}(\text{S}^*)$ -, имеет следующий вид:



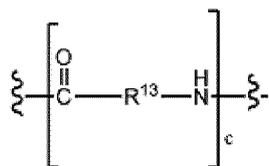
где в каждом случае R^{13} независимо выбран из группы, состоящей из $-\text{C}_1-\text{C}_6$ алкилен-, $-\text{C}_3-\text{C}_8$ карбоцикло-, -арилен-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ гетероалкилен-, $-\text{C}_3-\text{C}_8$ гетероцикло-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-арилен-, -арилен- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-($-\text{C}_3-\text{C}_8$ карбоцикло)-, -($-\text{C}_3-\text{C}_8$ карбоцикло)- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-($-\text{C}_3-\text{C}_8$ гетероцикло)- и -($-\text{C}_3-\text{C}_8$ гетероцикло)- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен- и нижний индекс с представляет собой целое число от 1 до 4. В некоторых вариантах осуществления, R^{13} представляет собой $-\text{C}_1-\text{C}_6$ алкилен, и с равно 1.

[0193] Другая типичная соединительная единица, имеющая карбонильную группу для присоединения к разделительному агенту (S^*) или к $-\text{L}^{\text{P}}(\text{S}^*)$ - имеет следующий вид:



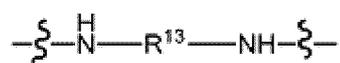
где R^{13} представляет собой $-\text{C}_1-\text{C}_6$ алкилен-, $-\text{C}_3-\text{C}_8$ карбоцикло-, -арилен-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ гетероалкилен-, $-\text{C}_3-\text{C}_8$ гетероцикло-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-арилен-, -арилен- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$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

[0194] Типичная соединительная единица, имеющая группу NH, которая присоединяется к разделительному агенту (S^*) или к $-\text{L}^{\text{P}}(\text{S}^*)$ - имеет следующий вид:



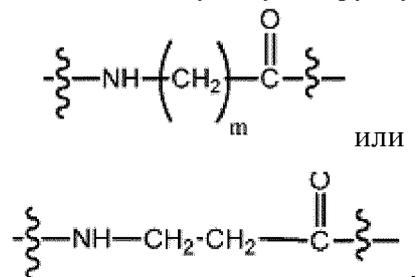
где в каждом случае R^{13} независимо выбран из группы, состоящей из $-\text{C}_1-\text{C}_6$ алкилен-, $-\text{C}_3-\text{C}_8$ карбоцикло-, -арилен-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ гетероалкилен-, $-\text{C}_3-\text{C}_8$ гетероцикло-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-арилен-, -арилен- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-($-\text{C}_3-\text{C}_8$ карбоцикло)-, -($-\text{C}_3-\text{C}_8$ карбоцикло)- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-($-\text{C}_3-\text{C}_8$ гетероцикло)- и -($-\text{C}_3-\text{C}_8$ гетероцикло)- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-, и нижний индекс “с” соответствует числу от 1 до 14. В некоторых вариантах осуществления, R^{13} представляет собой $-\text{C}_1-\text{C}_6$ алкилен, и индекс с равен 1.

[0195] Другая типичная соединительная единица, имеющая фрагмент NH, который присоединяется к разделительному агенту (S^*) или $-\text{L}^{\text{P}}(\text{S}^*)-$ имеет следующий вид:



где R^{13} представляет собой $-\text{C}_1-\text{C}_6$ алкилен-, $-\text{C}_3-\text{C}_8$ карбоцикло-, -арилен-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ гетероалкилен-, $-\text{C}_3-\text{C}_8$ гетероцикло-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-арилен-, -арилен- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-($-\text{C}_3-\text{C}_8$ карбоцикло)-, -($-\text{C}_3-\text{C}_8$ карбоцикло)- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-($-\text{C}_3-\text{C}_8$ гетероцикло)-, -($-\text{C}_3-\text{C}_8$ гетероцикло)- $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ алкилен-, $-\text{C}(=\text{O})\text{C}_1-\text{C}_6$ алкилен- или $-\text{C}_1-\text{C}_6$ алкилен- $-\text{C}(=\text{O})-\text{C}_1-\text{C}_6$ алкилен.

[0196] Выбранные варианты осуществления соединительных групп включают группы, имеющие следующую структуру



где волнистая линия рядом с азотом указывает на ковалентное присоединение к единице вставки (Z) (или его предшественнику Z'), а волнистая линия рядом с карбонилем указывает на ковалентное присоединение к разделительному агенту (S^*) или $-\text{L}^{\text{P}}(\text{S}^*)-$; и m представляет собой целое число от 1 до 6, предпочтительно от 2 до 6, более предпочтительно от 2 до 4.

Пептидный высвобождаемый линкер (RL):

[0197] В некоторых вариантах осуществления, пептидный высвобождаемый линкер (RL) будет содержать две или более смежных или несмежных последовательностей аминокислот (например, так, чтобы RL имел от 2 до не более чем 12 аминокислот). Пептидный высвобождаемый линкер может содержать или состоять, например, из дипептида, трипептида, тетрапептида, пентапептида, гексапептида, гептапептида,

октапептида, нонапептида, декапептида, ундекапептида или додекапептида. В некоторых вариантах осуществления, в присутствии фермента (например, ассоциированной с опухолью протеазы), амидная связь между аминокислотами расщепляется, что в конечном итоге приводит к высвобождению свободного лекарственного средства.

[0198] Каждая аминокислота может быть природной или неприродной и/или D- или L-изомером при условии, что RL содержит расщепляемую связь, которая при расщеплении инициирует высвобождение камптотецина. В некоторых вариантах осуществления, пептидный высвобождаемый линкер будет содержать только природные аминокислоты. В некоторых аспектах, пептидный высвобождаемый линкер будет содержать от 2 до не более 12 аминокислот в непрерывной последовательности.

[0199] В некоторых вариантах осуществления, каждая аминокислота независимо выбрана из группы, состоящей из аланина, аргинина, аспарагиновой кислоты, аспарагина, гистидина, глицина, глутаминовой кислоты, глутамина, фенилаланина, лизина, лейцина, серина, тирозина, треонина, изолейцина, пролина, триптофана, валина, цистеина, метионина, селеноцистеина, орнитина, пеницилламина, β -аланина, аминоканановой кислоты, аминокиново́й кислоты, аминокандиовой кислоты, аминокбензойной кислоты, аминок-гетероцикло-алкановой кислоты, гетероцикло-карбоновой кислоты, цитруллина, статина, диаминоалкановой кислоты и их производных. В некоторых вариантах осуществления, каждая аминокислота независимо выбрана из группы, состоящей из аланина, аргинина, аспарагиновой кислоты, аспарагина, гистидина, глицина, глутаминовой кислоты, глутамина, фенилаланина, лизина, лейцина, серина, тирозина, треонина, изолейцина, пролина, триптофана, валина, цистеина, метионина и селеноцистеина. В некоторых вариантах осуществления, каждая аминокислота независимо выбрана из группы, состоящей из аланина, аргинина, аспарагиновой кислоты, аспарагина, гистидина, глицина, глутаминовой кислоты, глутамина, фенилаланина, лизина, лейцина, серина, тирозина, треонина, изолейцина, пролина, триптофана и валин. В некоторых вариантах осуществления, каждая аминокислота выбрана из протеиногенных или непротеиногенных аминокислот.

[0200] В другом варианте осуществления, каждая аминокислота независимо выбрана из группы, состоящей из следующих L-(природных) аминокислот: аланин, аргинин, аспарагиновая кислота, аспарагин, гистидин, глицин, глутаминовая кислота, глутамин, фенилаланин, лизин, лейцин, серин, тирозин, треонин, изолейцин, триптофан и валин.

[0201] В другом варианте осуществления, каждая аминокислота независимо выбрана из группы, состоящей из следующих D-изомеров этих природных аминокислот: аланин, аргинин, аспарагиновая кислота, аспарагин, гистидин, глицин, глутаминовая кислота, глутамин, фенилаланин, лизин, лейцин, серин, тирозин, треонин, изолейцин, триптофан и валин.

[0202] В некоторых вариантах осуществления, пептидный высвобождаемый линкер состоит только из природных аминокислот. В других вариантах осуществления,

пептидный высвобождаемый линкер состоит только из неприродных аминокислот. В некоторых вариантах осуществления, пептидный высвобождаемый линкер состоит из природной аминокислоты, присоединенной к неприродной аминокислоте. В некоторых вариантах осуществления, пептидный высвобождаемый линкер состоит из природной аминокислоты, присоединенной к D-изомеру природной аминокислоты.

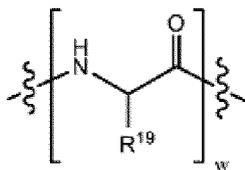
[0203] В другом варианте осуществления, каждая аминокислота независимо выбрана из группы, состоящей из β -аланина, N-метилглицина, глицина, лизина, валина и фенилаланина.

[0204] Типичные пептидные высвобождаемые линкеры включают дипептиды или трипептиды с -Val-Lys-Gly-, -Val-Cit-, -Phe-Lys- или -Val-Ala-.

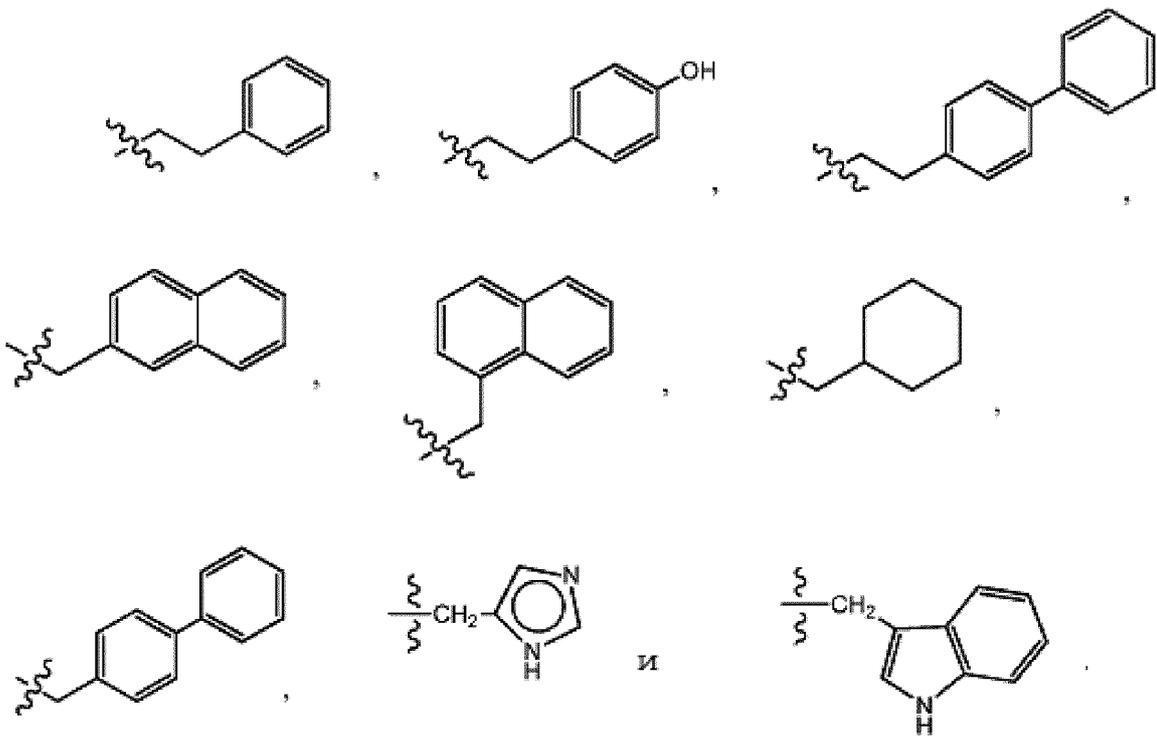
[0205] Используемые пептидные высвобождаемые линкеры могут быть разработаны и оптимизированы с точки зрения их избирательности в отношении ферментативного расщепления конкретным ферментом, например, протеазой, ассоциированной с опухолью. В некоторых вариантах осуществления, расщепление связи катализируется катепсином В, С или D или протеазой плазмином.

[0206] В некоторых вариантах осуществления, пептидный высвобождаемый линкер (RL) будет представлен $(-AA-)_{2-12}$ или $(-AA-AA-)_{1-6}$, где AA в каждом случае независимо выбран из природных или неприродных аминокислот. В одном аспекте, AA в каждом случае независимо выбран из природных аминокислот. В другом аспекте, RL представляет собой трипептид, имеющий формулу: $AA_1-AA_2-AA_3$, где каждый из AA_1 , AA_2 и AA_3 независимо представляет собой аминокислоту и где AA_1 присоединяется к -NH-, причем AA_3 присоединяется к S*. В еще одном аспекте, AA_3 представляет собой gly или β -ala.

[0207] В некоторых вариантах осуществления, пептидный высвобождаемый линкер имеет формулу, представленную ниже в квадратных скобках, нижний индекс "w" представляет собой целое число от 2 до 12, или w равно 2, 3 или 4, или w равно 3:

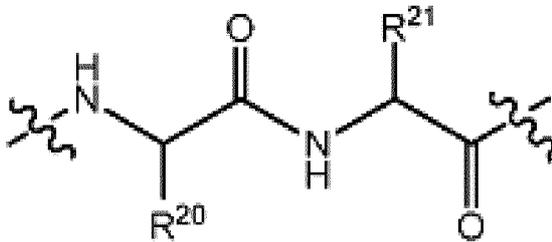


где R^{19} в каждом случае независимо выбран из группы, состоящей из водорода, метила, изопропила, изобутила, втор-бутила, бензила, p-гидроксибензила, $-CH_2OH$, $-CH(OH)CH_3$, $-CH_2CH_2SCH_3$, $-CH_2CONH_2$, $-CH_2COOH$, $-CH_2CH_2CONH_2$, $-CH_2CH_2COOH$, $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$, $-(CH_2)_3NH_2$, $-(CH_2)_3NHCOCH_3$, $-(CH_2)_3NHCHO$, $-(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$, $-(CH_2)_4NH_2$, $-(CH_2)_4NHCOCH_3$, $-(CH_2)_4NHCHO$, $-(CH_2)_3NHCONH_2$, $-(CH_2)_4NHCONH_2$, $-CH_2CH_2CH(OH)CH_2NH_2$, 2-пиридилметил-, 3-пиридилметил-, 4-пиридилметил-, фенила, циклогексила,



[0208] В некоторых аспектах, каждый R^{19} независимо представляет собой водород, метил, изопропил, изобутил, втор-бутил, $-(CH_2)_3NH_2$ или $-(CH_2)_4NH_2$. В некоторых аспектах, каждый R^{19} независимо представляет собой водород, изопропил или $-(CH_2)_4NH_2$.

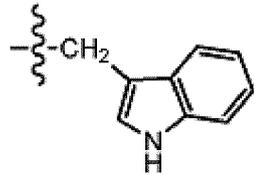
[0209] Иллюстративные пептидные высвобождаемые линкеры представлены формулами (Pa), (Pb) и (Pc)



(Pa)

где R^{20} и R^{21} имеют следующие значения:

R^{20}	R^{21}
бензил	$(CH_2)_4NH_2$;
метил	$(CH_2)_4NH_2$;
изопропил	$(CH_2)_4NH_2$;
изопропил	$(CH_2)_3NHCONH_2$;
бензил	$(CH_2)_3NHCONH_2$;
изобутил	$(CH_2)_3NHCONH_2$;
втор-бутил	$(CH_2)_3NHCONH_2$;

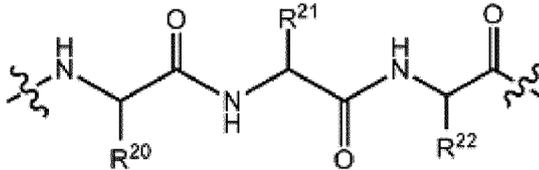


бензил

бензил

 $(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$;

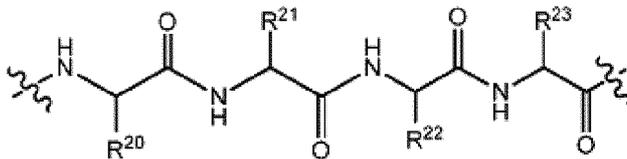
метил; и

 $(\text{CH}_2)_3\text{NHC(=NH)NH}_2$;

(Pb)

где R^{20} , R^{21} и R^{22} имеют следующие значения:

R^{20}	R^{21}	R^{22}
бензил	бензил	$-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
изопропил	бензил	$-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
Н	бензил	$-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$
изопропил	$-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$	-Н



(Pc)

где R^{20} , R^{21} , R^{22} и R^{23} имеют следующие значения:

R^{20}	R^{21}	R^{22}	R^{23}
Н	бензил	изобутил	Н; и
метил	изобутил	метил	изобутил.

[0210] В некоторых вариантах осуществления, RL содержит пептид, выбранный из группы, состоящей из gly-gly, gly-gly-gly, gly-gly-gly-gly, val-gly-gly, val-cit-gly, val-gln-gly, val-glu-gly, phe-lys-gly, leu-lys-gly, gly-val-lys-gly, val-lys-gly-gly, val-lys-gly, val-lys-ala, val-lys-leu, leu-leu-gly, gly-gly-phe-gly, gly-gly-phe-gly-gly, val-gly и val-lys- β -ala.

[0211] В некоторых вариантах осуществления, RL содержит пептид, выбранный из группы, состоящей из gly-gly-gly, gly-gly-gly-gly, val-gly-gly, val-cit-gly, val-gln-gly, val-glu-gly, phe-lys-gly, leu-lys-gly, gly-val-lys-gly, val-lys-gly-gly, val-lys-gly, val-lys-ala, val-lys-leu, leu-leu-gly, gly-gly-phe-gly и val-lys- β -ala.

[0212] В еще одних других вариантах осуществления, RL содержит пептид, выбранный из группы, состоящей из gly-gly-gly, val-gly-gly, val-cit-gly, val-gln-gly, val-glu-gly, phe-lys-gly, leu-lys-gly, val-lys-gly, val-lys-ala, val-lys-leu, leu-leu-gly и val-lys- β -ala.

[0213] В других дополнительных вариантах осуществления, RL содержит пептид, выбранный из группы, состоящей из gly-gly-gly-gly, gly-val-lys-gly, val-lys-gly-gly и gly-gly-phe-gly.

[0214] In other embodiments, RL представляет собой пептид, выбранный из группы, состоящей из val-gln-gly, val-glu-gly, phe-lys-gly, leu-lys-gly, val-lys-gly, val-lys-ala, val-lys-leu, leu-leu-gly и val-lys- β -ala.

[0215] В еще одних других вариантах осуществления, RL представляет собой val-lys-gly.

[0216] В еще одних других вариантах осуществления, RL представляет собой val-lys- β -ala.

Разделительный агент (S*):

[0217] Камптотециновые конъюгаты, описанные в настоящем описании, также могут включать разделительный агент (S*). Части разделительного агента используются, например, для маскировки гидрофобности определенных камптотецинов или других компонентов связывающих единиц.

[0218] Типичные агенты разделителя включают полиэтиленгликолевые (ПЭГ) звенья, циклодекстриновые звенья, полиамиды, гидрофильные пептиды, полисахариды и дендримеры.

[0219] Когда полиэтиленгликолевые (ПЭГ) единицы, циклодекстриновые единицы, полиамиды, гидрофильные пептиды, полисахариды или дендримеры включены в Q, группы могут присутствовать в виде “линейного” компонента или в виде компонента боковой цепи или разветвления. Для тех вариантов осуществления, в которых присутствует разветвленная версия, линкерные единицы обычно будут включать лизиновый остаток (или единицу параллельного соединения, L^P), который обеспечивает простую функциональную конъюгацию, например, группы ПЭГ с остальной частью связывающей группы.

Полиэтиленгликолевая (ПЭГ) единица

[0220] Полидисперсные ПЭГ, монодисперсные ПЭГ и дискретные ПЭГ могут использоваться как часть разделительных агентов в соединениях по настоящему изобретению. Полидисперсные ПЭГ представляют собой гетерогенную смесь размеров и молекулярных масс, тогда как монодисперсные ПЭГ обычно очищают из гетерогенных смесей и поэтому имеют одну длину цепи и молекулярную массу. Предпочтительные ПЭГ представляют собой дискретные ПЭГ, соединения, которые синтезируют поэтапно, а не в процессе полимеризации. Дискретные ПЭГ представляют собой единственную молекулу с определенной длиной цепи.

[0221] Предусмотренные в настоящем описании ПЭГ содержат одну или несколько полиэтиленгликолевых цепей. Полиэтиленгликолевая цепь состоит по меньшей мере из

двух этиленоксидных ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$) субъединиц. Полиэтиленгликолевые цепи могут связываться вместе, например, с формированием линейной, разветвленной или звездообразной конфигурации. Как правило по меньшей мере одна из ПЭГ цепей дериватизируется на одном конце для ковалентного присоединения к соответствующему участку в компоненте линкерной единицы (например, L^P) или может использоваться в качестве линейной (например, бифункциональной) связывающей группы внутри для ковалентного соединения двух компонентов линкерной единицы (например, Z-A-S*-RL-, Z-A-S*-RL-Y-). Типичные присоединения внутри линкерной единицы осуществляются посредством необязательно расщепляемых связей или через условно расщепляемые связи. Типичные присоединения осуществляются через амидную связь, эфирные связи, сложноэфирные связи, гидразоновые связи, оксимные связи, дисульфидные связи, пептидные связи или триазольные связи. В некоторых аспектах прикрепление внутри линкерной единицы осуществляется посредством необъяснимо расщепляемой связи. В некоторых аспектах прикрепление внутри линкерной единицы осуществляется не через сложноэфирную связь, гидразоновую связь, оксимную связь или дисульфидную связь. В некоторых аспектах, присоединение внутри линкерной единицы осуществляется не через гидразоновую связь.

[0222] Условно расщепляемая связь относится к связи, которая по существу не подвержена расщеплению при циркуляции в плазме, но подвергается расщеплению во внутриклеточной или внутриопухоловой среде. Безусловно расщепляемая связь представляет собой связь, которая по существу не подвержена расщеплению в любой биологической среде. Химический гидролиз гидразона, восстановление дисульфида и ферментативное расщепление пептидной связи или гликозидной связи являются примерами условно расщепляемых связей.

[0223] В некоторых вариантах осуществления ПЭГ группа будет непосредственно присоединена к единице параллельного соединения В. Другой конец (или концы) ПЭГ группы может быть свободным и несвязанным и может принимать форму метокси, карбоновой кислоты, спирта или другой подходящей функциональной группы. Метокси, карбоновая кислота, спирт или другая подходящая функциональная группа действует в качестве блокирующей для концевой ПЭГ субъединицы ПЭГ группы. Под “несвязанный” подразумевается, что ПЭГ группа не будет присоединяться на этом несвязанном участке к камптотецину, антителу или другому связывающему компоненту. Квалифицированный специалист в данной области поймет, что ПЭГ группа, помимо включения повторяющихся этиленгликолевых субъединиц, может также содержать вещество, не относящееся к ПЭГ (например, для облегчения связывания нескольких ПЭГ цепей друг с другом). Вещество, не относящееся к ПЭГ, относится к атомам в ПЭГ группе, которые не являются частью повторяющихся субъединиц $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$. В некоторых вариантах осуществления, представленных в настоящем описании, ПЭГ группа включает две мономерные ПЭГ цепи, присоединенные друг к другу через элементы, не относящиеся к ПЭГ. В других вариантах осуществления, представленных в настоящем описании, ПЭГ

группа содержит две линейные ПЭГ цепи, присоединенные к центральному ядру или единице параллельного соединения (т.е. сама ПЭГ группа является разветвленной).

[0224] Существует ряд методов ПЭГ присоединения, доступных специалистам в данной области [см., например, Goodson, et al. (1990) *Bio/Technology* **8**:343 (PEGylation of interleukin-2 at its glycosylation site after site-directed mutagenesis); EP 0401384 (coupling PEG to G-CSF); Malik, et al., (1992) *Exp. Hematol.* **20**:1028-1035 (PEGylation of GM-CSF using tresyl chloride); ACT Pub. No. WO 90/12874 (PEGylation of erythropoietin containing a recombinantly introduced cysteine residue using a cysteine-specific mPEG derivative); Патент США № 5757078 (PEGylation of EPO peptides); Патент США № 5672662 (Poly(ethylene glycol) and related polymers monosubstituted with propionic or butanoic acids and functional derivatives thereof for biotechnical applications); Патент США № 6077939 (PEGylation of an N-terminal α -carbon of a peptide); Veronese et al., (1985) *Appl. Biochem. Bioechnol* **11**:141-142 (PEGylation of an N-terminal α -carbon of a peptide with PEG-nitrophenylcarbonate ("PEG-NPC") or PEG-trichlorophenylcarbonate); и Veronese (2001) *Biomaterials* **22**:405-417 (Review article on peptide and protein PEGylation)].

[0225] Например, ПЭГ может быть ковалентно связан с аминокислотными остатками через реакционноспособную группу. Реакционноспособные группы представляют собой группы, с которыми может быть связана активированная ПЭГ молекула (например, свободная амино или карбоксильная группа). Например, N-концевые аминокислотные остатки и остатки лизина (К) имеют свободную аминогруппу; и С-концевые аминокислотные остатки имеют свободную карбоксильную группу. Тиоловые группы (например, присутствующие на остатках цистеина) также используются в качестве реакционноспособной группы для присоединения ПЭГ. Кроме того, описаны ферментативные методы введения активированных групп (например, гидразидных, альдегидных и ароматических аминогрупп) конкретно на С-конце полипептида (см.: Schwarz, et al. (1990) *Methods Enzymol.* **184**:160; Rose, et al. (1991) *Bioconjugate Chem.* **2**:154; и Gaertner, et al. (1994) *J. Biol. Chem.* **269**:7224].

[0226] В некоторых вариантах осуществления, ПЭГ молекулы могут быть присоединены к аминокислотным группам с использованием метоксилированного ПЭГ ("МПЭГ"), имеющего различные реакционноспособные фрагменты. Неограничивающие примеры таких реакционноспособных фрагментов включают сукцинимидилсукцинат (СС), сукцинимидилкарбонат (СК), МПЭГ-имидат, пара-нитрофенилкарбонат (НФК), сукцинимидилпропионат (SPA) и хлорид циануровой кислоты. Неограничивающие примеры таких МПЭГ включают МПЭГ-сукцинимидилсукцинат (МПЭГ-СС), МПЭГ₂-сукцинимидилсукцинат (МПЭГ₂-СС); МПЭГ-сукцинимидилкарбонат (МПЭГ-СК), МПЭГ₂-сукцинимидилкарбонат (МПЭГ₂-СК); МПЭГ-имидат, МПЭГ-пара-нитрофенилкарбонат (МПЭГ-НФК), МПЭГ-имидат; МПЭГ₂-пара-нитрофенилкарбонат (МПЭГ₂-НФК); МПЭГ-сукцинимидилпропионат (МПЭГ-SPA); МПЭГ₂-сукцинимидилпропионат (МПЭГ₂-SPA); МПЭГ-N-гидрокси-сукцинимид (МПЭГ-NHS);

МПЭГ₂-N-гидрокси-сукцинимид (МПЭГ₂ --NHS); МПЭГ-хлорид циануровой кислоты; МПЭГ₂-хлорангидрид циануровой кислоты; МПЭГ₂-лизинол-НФК и МПЭГ₂-Lys-NHS.

[0227] Обычно по меньшей мере одна из ПЭГ цепей, составляющих ПЭГ группу, функционализована таким образом, что она способна ковалентно присоединяться к другим компонентам линкерной единицы.

[0228] Функциональные группы включают, например, амин, тиол, сложный эфир NHS, малеимид, алкин, азид, карбонил или другую функциональную группу. В некоторых вариантах осуществления, ПЭГ группа дополнительно содержит вещество, не относящееся к ПЭГ (т.е. вещество, не состоящее из -CH₂CH₂O-), которое обеспечивает соединение с другими компонентами линкерной единицы или предназначено для облегчения соединения двух или более ПЭГ цепей.

[0229] Присутствие ПЭГ группы (или другого разделительного агента) в линкерной единице может иметь два потенциальных воздействия на фармакокинетику получаемого камптотецинового конъюгата. Желаемое воздействие соответствует уменьшению клиренса (и, как следствие, увеличение экспозиции), которое возникает вследствие уменьшения неспецифических взаимодействий, вызванных воздействием гидрофобных элементов камптотецинового конъюгата или самого камптотецина. Второе воздействие нежелательно и представляет собой уменьшение объема и скорости распределения, которое, в некоторых случаях, возникает в результате увеличения молекулярной массы камптотецинового конъюгата. Увеличение количества ПЭГ субъединиц увеличивает гидродинамический радиус конъюгата, что обычно приводит к снижению коэффициента диффузии. В свою очередь, снижение коэффициента диффузии обычно снижает способность камптотецинового конъюгата проникать в опухоль. (Schmidt and Wittrup, *Mol Cancer Ther* 2009;8:2861-2871). Благодаря этим двум конкурирующим фармакокинетическим эффектам желательно использовать ПЭГ, который является достаточно крупным, чтобы уменьшить клиренс камптотецинового конъюгата, увеличивая, таким образом, экспозицию/концентрацию в плазме, но не настолько крупным, чтобы значительно снизить его диффузионную способность до такой степени, чтобы он препятствовал способности камптотецинового конъюгата достигать определенной популяции клеток-мишеней. См. примеры (например, примеры 1, 18 и 21 из US2016/0310612), которые включены в настоящем описании в качестве ссылки, в отношении метода выбора оптимального размера ПЭГ для конкретной лекарственной конструкции лекарственное средство-линкер.

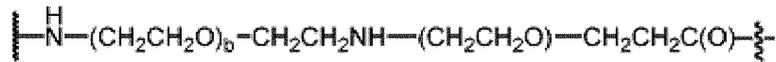
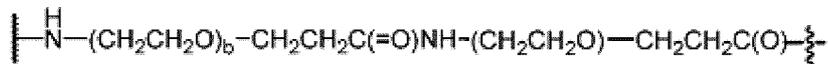
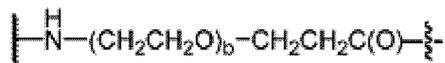
[0230] В одной группе вариантов осуществления, ПЭГ группа включает одну или несколько линейных цепей ПЭГ, каждая из которых имеет по меньшей мере 2 субъединицы по меньшей мере 3 субъединицы по меньшей мере 4 субъединицы по меньшей мере 5 субъединицы по меньшей мере 6 субъединицы по меньшей мере 7 субъединицы по меньшей мере 8 субъединицы по меньшей мере 9 субъединицы по меньшей мере 10 субъединицы по меньшей мере 11 субъединицы по меньшей мере 12 субъединицы по меньшей мере 13 субъединицы по меньшей мере 14 субъединицы по меньшей мере 15 субъединицы по

меньшей мере 16 субъединиц по меньшей мере 17 субъединиц по меньшей мере 18 субъединиц по меньшей мере 19 субъединиц по меньшей мере 20 субъединиц по меньшей мере 21 субъединицу по меньшей мере 22 субъединицы по меньшей мере 23 субъединицы или по меньшей мере 24 субъединицы. В предпочтительных вариантах осуществления, ПЭГ группа включает в совокупности по меньшей мере 4 субъединицы по меньшей мере 6 субъединиц по меньшей мере 8 субъединиц по меньшей мере 10 субъединиц или по меньшей мере 12 субъединиц. В некоторых таких вариантах осуществления, ПЭГ группа включает не больше, чем совокупное количество, составляющее около 72 субъединиц, предпочтительно не больше, чем совокупное количество, составляющее около 36 субъединицы.

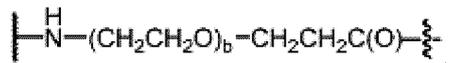
[0231] В другой группе вариантов осуществления, ПЭГ группа в общей сложности включает от 4 до 72, от 4 до 60, от 4 до 48, от 4 до 36 или от 4 до 24 субъединиц, от 5 до 72, от 5 до 60, от 5 до 48, от 5 до 36 и от 5 до 24 субъединиц, от 6 до 72, от 6 до 60, от 6 до 48, от 6 до 36 или от 6 до 24 субъединиц, от 7 до 72, от 7 до 60, от 7 до 48, от 7 до 36 или от 7 до 24 субъединиц, от 8 до 72, от 8 до 60, от 8 до 48, от 8 до 36 или от 8 до 24 субъединиц, от 9 до 72, от 9 до 60, от 9 до 48, от 9 до 36 или от 9 до 24 субъединиц, от 10 до 72, от 10 до 60, от 10 до 48, от 10 до 36 или от 10 до 24 субъединиц, от 11 до 72, от 11 до 60, от 11 до 48, от 11 до 36 или от 11 до 24 субъединиц, от 12 до 72, от 12 до 60, от 12 до 48, от 12 до 36 или от 12 до 24 субъединиц, от 13 до 72, от 13 до 60, от 13 до 48, от 13 до 36 или от 13 до 24 субъединиц, от 14 до 72, от 14 до 60, от 14 до 48, от 14 до 36 или от 14 до 24 субъединиц, от 15 до 72, от 15 до 60, от 15 до 48, от 15 до 36 или от 15 до 24 субъединиц, от 16 до 72, от 16 до 60, от 16 до 48, от 16 до 36 или от 16 до 24 субъединиц, от 17 до 72, от 17 до 60, от 17 до 48, от 17 до 36 или от 17 до 24 субъединиц, от 18 до 72, от 18 до 60, от 18 до 48, от 18 до 36 или от 18 до 24 субъединиц, от 19 до 72, от 19 до 60, от 19 до 48, от 19 до 36 или от 19 до 24 субъединиц, от 20 до 72, от 20 до 60, от 20 до 48, от 20 до 36 или от 20 до 24 субъединиц, от 21 до 72, от 21 до 60, от 21 до 48, от 21 до 36 или от 21 до 24 субъединиц, от 22 до 72, от 22 до 60, от 22 до 48, от 22 до 36 или от 22 до 24 субъединиц, от 23 до 72, от 23 до 60, от 23 до 48, от 23 до 36 или от 23 до 24 субъединиц, или от 24 до 72, от 24 до 60, от 24 до 48, от 24 до 36 или 24 субъединицы.

[0232] В некоторых вариантах осуществления, разделительный агент S* представляет собой линейную ПЭГ группу, содержащую от 2 до 20, или от 2 до 12, или от 4 до 12, или 4, 8 или 12 субъединиц $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$. В некоторых вариантах осуществления, линейная ПЭГ группа связана на одном конце ПЭГ группы с RL единицей, а на другом конце ПЭГ группы связана с конструкцией вставка/соединительные группы (Z-A-). В некоторых вариантах осуществления, ПЭГ группа связана с единицей RL через группу $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$, которая образует амидную связь с единицей RL (например, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-\text{RL}$) и с конструкцией единица вставка/соединительная единица (ZA-) через группу $-\text{NH}-$ (например, $\text{Z-A-NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$), которая образует амидную связь с частью Z-A-.

[0233] Иллюстративные варианты осуществления для ПЭГ групп, связанных с RL и конструкцией вставка/соединительные группы (Z-A-), показаны ниже:



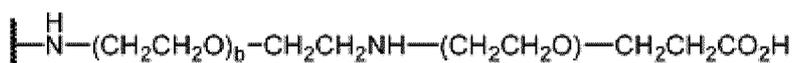
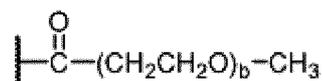
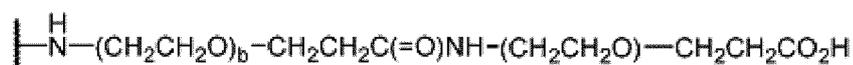
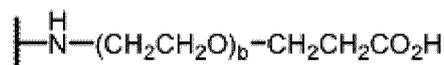
и в конкретном варианте осуществления, ПЭГ группа представляет собой:



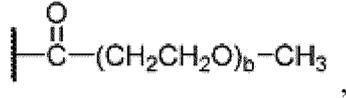
где волнистая линия слева указывает место присоединения к Z-A-, волнистая линия справа указывает место присоединения к RL, и каждый b независимо выбран из от 2 до 72, от 4 до 72, от 6 до 72, от 8 до 72, от 10 до 72, от 12 до 72, от 2 до 24, от 4 до 24, от 6 до 24 или от 8 до 24, от 2 до 12, от 4 до 12, от 6 до 12 и от 8 до 12. В некоторых вариантах осуществления, нижний индекс b равен 2, 4, 8, 12 или 24. В некоторых вариантах осуществления, нижний индекс b равен 2. В некоторых вариантах осуществления, нижний индекс b равен 4. В некоторых вариантах осуществления, нижний индекс b равен 8. В некоторых вариантах осуществления, нижний индекс b равен 12.

[0234] В некоторых вариантах осуществления, линейная ПЭГ группа связана с единицей параллельного соединения на одном конце и содержит блокирующую группу на другом конце. В некоторых вариантах осуществления, ПЭГ группа связана с единицей параллельного соединения через карбонильную группу, которая образует амидную связь с аминогруппой остатка лизина единицей параллельного соединения (например, $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})-\text{L}^{\text{P}}-$) и включает концевую блокирующую группу ПЭГ единицы, выбранную из группы, состоящей из C_{1-4} алкила и C_{1-4} алкил- CO_2H . В некоторых вариантах осуществления, разделительный агент S^* представляет собой линейную ПЭГ группу, содержащую 4, 8 или 12 субъединиц $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ и концевую метильную блокирующую группу.

[0235] Иллюстративные линейные ПЭГ группы, которые можно использовать в любом из вариантов осуществления, представленных в настоящем описании, имеют следующие значения:



и в конкретном варианте осуществления ПЭГ группа представляет собой:



где волнистая линия указывает место присоединения к единице параллельного соединения (L^P), и каждый n независимо выбран из 4-72, 6-72, 8-72, 10-72, 12-72, 6-24 или 8-24. В некоторых вариантах осуществления, нижний индекс b равен около 4, около 8, около 12 или около 24.

[0236] Используемые в настоящем описании термины “PEG2”, “PEG4”, “PEG8” и “PEG12” относятся к конкретным вариантам осуществления ПЭГ группы, которая включает определенное количество ПЭГ субъединиц (т.е. количество, соответствующее нижнему индексу “ b ”). Например, “PEG2” относится к вариантам осуществления ПЭГ группы, которая содержит 2 ПЭГ субъединицы, “PEG4” относится к вариантам осуществления ПЭГ группы, которая содержит 4 ПЭГ субъединицы, “PEG8” относится к вариантам осуществления ПЭГ группы, которая включает 8 ПЭГ субъединиц, и “PEG12” относится к вариантам осуществления ПЭГ группы, которая включает 12 ПЭГ субъединиц.

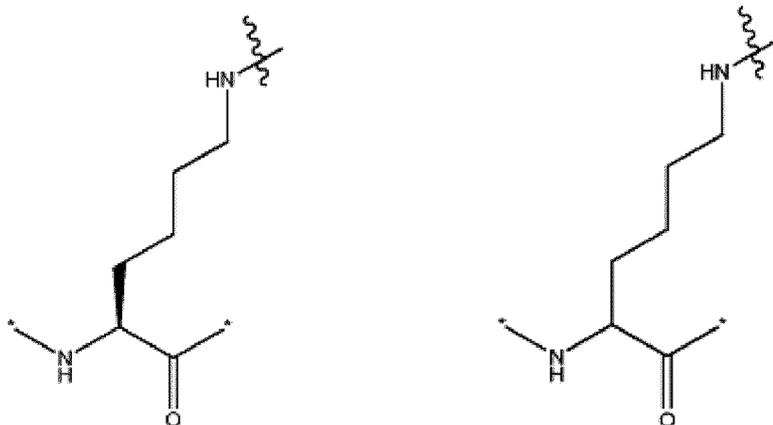
[0237] Как описано в настоящем описании, количество ПЭГ субъединиц выбрано таким образом, чтобы оно улучшало клиренс образующегося камптотецинового конъюгата, но не оказывало значительного влияния на способность конъюгата проникать в опухоль. В вариантах осуществления, количество ПЭГ субъединиц, выбираемых для использования, предпочтительно составляет от 2 субъединиц до приблизительно 24 субъединиц, от 4 субъединиц до приблизительно 24 субъединиц, более предпочтительно от приблизительно 4 субъединиц до приблизительно 12 субъединиц.

[0238] В предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения масса ПЭГ группы составляет от приблизительно 300 дальтон до приблизительно 5 килодальтон; от приблизительно 300 дальтон до приблизительно 4 килодальтон; от приблизительно 300 дальтон до приблизительно 3 килодальтон; от приблизительно 300 дальтон до приблизительно 2 килодальтон; или около от 300 дальтон до приблизительно 1 килодальтона. В некоторых таких аспектах, ПЭГ группа имеет по меньшей мере 6 субъединиц или по меньшей мере 8, 10 или 12 субъединиц. В некоторых таких аспектах, ПЭГ группа имеет по крайней мере, 6 субъединиц или по меньшей мере 8, 10 или 12 субъединиц, но не больше, чем 72 субъединицы, предпочтительно не больше, чем 36 субъединиц.

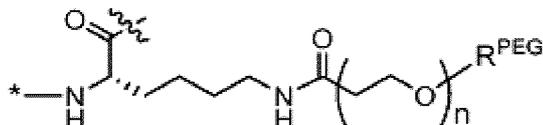
[0239] Следует принять во внимание, что при ссылке на ПЭГ субъединицы, и в зависимости от контекста, количество субъединиц может соответствовать среднему количеству, например, при ссылке на популяцию камптотециновых конъюгатов или соединения камптотецин-линкер и при использовании полидисперсных ПЭГ.

Единица параллельного соединения (L^P):

[0240] В некоторых вариантах реализации, камптотециновые конъюгаты и соединения камптотецин-линкер будут содержать единицу параллельного соединения для обеспечения точки присоединения к разделительному агенту (обозначенному в линкерных единицах как $-L^P(S^*)-$). В качестве общего варианта осуществления, ПЭГ группа может быть присоединена к единице параллельного соединения, такой как лизин, как показано ниже, где волнистая линия и звездочки указывают на ковалентную связь в линкерной единице камптотецинового конъюгата или соединения камптотецин-линкер:



[0241] В некоторых вариантах осуществления, единица параллельного соединения (L^P) и разделительный агент (S^*) (вместе, $-L^P(S^*)-$) имеют структуру



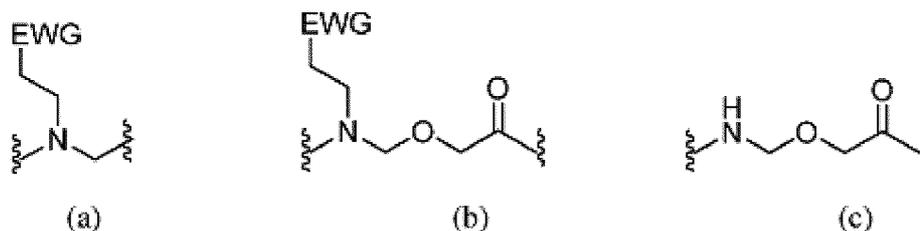
где n находится в диапазоне от 8 до 24; R^{PEG} представляет собой блокирующую группу ПЭГ группы, предпочтительно $-CH_3$ или $-CH_2CH_2CO_2H$, звездочка (*) указывает на ковалентное присоединение к соединительной единице А, соответствующей формуле Za , Za' , Zb' или Zc' , а волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к высвобождаемому линкеру (RL). В некоторых вариантах осуществления, структура присоединена к соединительной единице А в формулах Za или Za' . В некоторых вариантах осуществления, n равно 2, 4, 8 или 12. В случаях, например в представленных в настоящем описании, показанная ПЭГ группа служит в качестве примера множества разделительных агентов, включая ПЭГ группы с разной длиной цепи и другие разделительные агенты, которые могут быть непосредственно присоединенными или модифицированным для присоединения к единице параллельного соединения.

Спейсер (Y):

[0242] В некоторых вариантах осуществления, предусмотренные в настоящем описании камптотециновые конъюгаты будут иметь спейсер (Y) между высвобождаемым линкером (RL) и камптотецином. Спейсер может быть функциональной группой для облегчения присоединения RL к камптотецину, или он может предоставлять дополнительные структурные компоненты для дополнительного облегчения

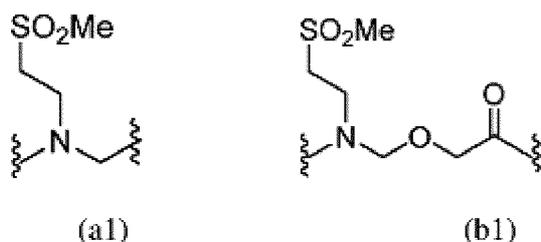
высвобождения камптотецина из оставшейся части конъюгата (например, саморасщепляющийся парааминобензильный (РАВ) компонент).

[0243] Еще одни другие спейсерные единицы представлены формулами:

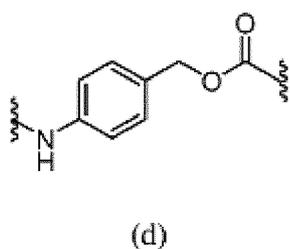


где в каждом случае EWG представляет собой электроноакцепторную группу. В некоторых вариантах осуществления, EWG выбран из группы, состоящей из $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CX}_3$, $-\text{X}$, $\text{C}(=\text{O})\text{OR}'$, $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}')_2$, $-\text{C}(=\text{O})\text{R}'$, $-\text{C}(=\text{O})\text{X}$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{R}'$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{OR}'$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NHR}'$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{R}')_2$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OR}')_2$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{CH}_3)\text{NHR}'$, $-\text{NO}$, $-\text{N}(\text{R}')_3^+$, где X представляет собой $-\text{F}$, $-\text{Br}$, $-\text{Cl}$ или $-\text{I}$, и R' независимо выбран из группы, состоящей из водорода и C_{1-6} алкила.

[0244] В еще одних других вариантах осуществления, Спейсерные единицы представлены формулами:



[0245] В еще одних других вариантах осуществления, спейсерные единицы представлены формулами:



Нижний индекс “p”

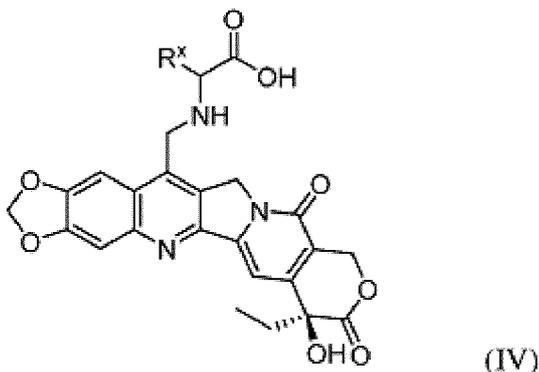
[0246] В одном из аспектов изобретения, нижний индекс p представляет количество фрагментов линкер-лекарственное средство в лигандной единице индивидуального камптотецинового конъюгата и представляет собой целое число, предпочтительно в диапазоне от 1 до 16, от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8. Индивидуальные камптотециновые конъюгаты также могут называться соединением камптотецинового конъюгата. В любом из вариантов осуществления, описанных в настоящем описании, может быть 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 фрагментов линкер-лекарственное средство, конъюгированных с лигандной единицей индивидуального камптотецинового конъюгата. В другом аспекте изобретения, одна

группа вариантов осуществления описывает популяцию отдельных камптотециновых конъюгатов, по существу идентичных, за исключением количества фрагментов камптотецинового линкерного соединения, связанных с каждой лигандной единицей (т.е. композиция камптотецинового конъюгата), так что p представляет собой среднее количество фрагментов соединения камптотецин-линкер, связанных с лигандными единицами композиции камптотецинового конъюгата. В этой группе вариантов осуществления, p представляет собой число в диапазоне от 1 до приблизительно 16, от 1 до приблизительно 12, от 1 до приблизительно 10 или от 1 до приблизительно 8, от 2 до приблизительно 16, от 2 до приблизительно 12, от 2 до приблизительно 10 или от 2 до приблизительно 8. В некоторых аспектах, p равно около 2. В некоторых аспектах, p равно около 4. В некоторых аспектах, p равно около 8. В некоторых аспектах, p равно около 16. В некоторых аспектах, p равно 2. в некоторых аспектах, p равно 4. В некоторых аспектах, p равно 8. В некоторых аспектах, p равно 16. В некоторых аспектах, значение p относится к средней нагрузке лекарственного средства, а также к нагрузке лекарственного средства, преобладающего ADC в композиции.

[0247] В некоторых аспектах, конъюгация будет осуществляться через межцепочечные дисульфиды, и от 1 до приблизительно 8 молекул соединения камптотецин-линкер (Q-D) будут конъюгированы с молекулой лиганда. В некоторых аспектах, конъюгация будет осуществляться через введенный цистеиновый остаток, а также межцепочечные дисульфиды, и от 1 до 10, или от 1 до 12, или от 1 до 14, или от 1 до 16 молекул соединения камптотецин-линкер будут конъюгированы с молекулой лиганда. В некоторых аспектах, конъюгация будет осуществляться через введенный остаток цистеина, и 2 или 4 молекулы соединения камптотецин-линкер будут конъюгированы с молекулой лиганда.

Частично высвобождаемое свободное лекарственное средство

[0248] В некоторых вариантах осуществления, представлены соединения, в которых единица RL в конъюгате была расщеплена с высвобождением фрагмента лекарственного средства со связанным с ним одним аминокислотным остатком. В некоторых вариантах осуществления, частично высвобождаемое свободное лекарственное средство (конъюгат лекарственное средство-аминокислота) представляет собой соединение формулы (IV):



или его стереоизомер, или смесь стереоизомеров, или его практически приемлемую соль, где R^x представляет собой боковую цепь аминокислоты, как описано в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, R^x представляет собой H, метил, изопропил, бензил или $-(CH_2)_4-NH_2$. В некоторых вариантах осуществления, R^x представляет собой H или метил. В некоторых вариантах осуществления, R^x представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления, R^x представляет собой метил.

[0249] В некоторых вариантах осуществления, соединение формулы (IV) представляет собой биологически активное соединение. В некоторых вариантах осуществления, такие соединения используются в способе ингибирования топоизомеразы, уничтожения опухолевых клеток, ингибирования роста опухолевых клеток, злокачественных клеток или опухоли, ингибирования репликации опухолевых клеток или злокачественных клеток, уменьшения общей опухолевой нагрузки или уменьшения количество злокачественных клеток или уменьшения интенсивности одного или нескольких симптомов, связанных со злокачественной опухолью или аутоиммунным заболеванием. Такие способы включают, например, контактирование злокачественной клетки с соединением формулы (IV).

Смеси и композиции камптотецинового конъюгата

[0250] Настоящее изобретение относится к смеси камптотецинового конъюгата и фармацевтическим композициям, содержащим любой из описанных в настоящем описании камптотециновых конъюгатов. Смеси и фармацевтические композиции содержат множество конъюгатов. В некоторых аспектах, все конъюгаты в смеси или композиции являются идентичными или по существу идентичными, однако распределение структур лекарственное средство-линкер на лигандах в смеси или композициях может изменяться, так же как и нагрузка лекарственного средства. Например, технология конъюгации, используемая для конъюгации структур лекарственное средство-линкер с антителами в качестве нацеливающего лиганда, может привести к получению композиции или смеси, гетерогенной в отношении распределения соединений камптотецин-линкер на антителе (лигандная единица) в смеси и/или композиции. В некоторых аспектах, нагрузка соединений камптотецин-линкер на каждую из молекул антитела в смеси или композиции таких молекул представляет собой целое число, которое находится в диапазоне от 1 до 14.

[0251] В этих аспектах, при ссылке на композиции в целом, нагрузка структур лекарственное средство-линкер составляет от 1 до приблизительно 14. В композиции или смеси также может быть небольшой процент неконъюгированных антител. Среднее количество структур лекарственное средство-линкер на лигандную единицу в смеси или композиции (т.е. средняя лекарственная нагрузка) является важным параметром, так как он определяет максимальное количество лекарственного средства, которое может быть доставлено в клетку-мишень. Средняя лекарственная нагрузка может составлять 1, 2 или около 2, 3 или около 3, 4 или около 4, 5 или около 5, 6 или около 6, 7 или около 7, 8 или

около 8, 9 или около 9, 10 или около 10, 11 или около 11, 12 или около 12, 13 или около 13, 14 или около 14, 15 или около 15, 16 или около 16.

[0252] В некоторых аспектах, смеси и фармацевтические композиции содержат множество (т.е. популяцию) конъюгатов, однако конъюгаты являются идентичными или по существу идентичными и по существу гомогенны в отношении распределения структур лекарственное средство-линкер на молекулах лиганда в смеси и/или композиции, и в отношении нагрузки структурами лекарственное средство-линкер на молекулах лиганда в смеси и/или композиции. В некоторых таких аспектах, нагрузка структуры лекарственное средство-линкер на единицу антитело-лиганд составляет 2 или 4. В составе или смеси также может быть небольшой процент неконъюгированных антител. Средняя лекарственная нагрузка в таких вариантах осуществления составляет около 2 или около 4. Обычно такие композиции и смеси являются результатом применения методов сайт-специфической конъюгации, причем конъюгация происходит благодаря введенному цистеиновому остатку.

[0253] Среднее количество камптотецинов или соединения камптотецин-линкер на лигандную единицу в препарате, полученном в результате реакции конъюгации, можно определить обычными методами, такими как масс-спектрометрия, анализ ИФА, ВЭЖХ (например, гидрофобная интерактивная хроматография (HIC)). Также может быть определено количественное распределение камптотециновых конъюгатов в единицах р. В некоторых случаях, разделение, очистка и характеристика гомогенных камптотециновых конъюгатов могут быть достигнуты методами, такими как ВЭЖХ с обращенной фазой или электрофорез.

[0254] В некоторых аспектах, композиции представляют собой фармацевтические композиции, содержащие описанные в настоящем описании камптотециновые конъюгаты и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых аспектах, фармацевтическая композиция находится в жидкой форме. В некоторых аспектах, фармацевтическая композиция является твердой. В некоторых аспектах, фармацевтическая композиция представляет собой лиофилизированный порошок.

[0255] Композиции, включая фармацевтические композиции, могут быть предоставлены в очищенной форме. Используемый в настоящем описании термин “очищенный” означает, что, при выделении, изолят содержит по меньшей мере 95%, а в другом аспекте по меньшей мере 98% конъюгата по массе изолята.

Способы применения

Лечение злокачественной опухоли

[0256] Камптотециновые конъюгаты, описанные в настоящем описании, используются для подавления размножения опухолевой клетки или злокачественной клетки, вызывая апоптоз в опухоли или злокачественной клетке, или для лечения злокачественной опухоли у пациента. Соответственно, изобретение относится к способам лечения злокачественной опухоли у субъекта, нуждающегося в таком лечении, причем

способ включает введение субъекту одного или нескольких камптотециновых конъюгатов, описанных в настоящем описании.

[0257] Камптотециновые конъюгаты могут применяться соответственно в различных условиях для лечения злокачественной опухоли. Камптотециновые конъюгаты можно применять для доставки лекарства к опухолевой или злокачественной клетке. Не ограничиваясь теорией, в одном варианте осуществления, лигандная единица камптотецинового конъюгата связывается или ассоциируется со злокачественной клеткой или антигеном, ассоциированным с опухолевой клеткой, причем камптотециновый конъюгат может быть поглощен (интернализован) опухолевой клеткой или злокачественной клеткой посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза или другого механизма интернализации. Антиген может быть присоединен к опухолевой клетке или злокачественной клетке или может представлять собой белок внеклеточного матрикса, ассоциированный с опухолевой клеткой или злокачественной клеткой. После того, как лекарственное средство попало внутрь клетки, оно высвобождается путем пептидного расщепления внутри клетки. В альтернативном варианте осуществления, свободное лекарственное средство высвобождается из камптотецинового конъюгата вне опухолевой клетки или злокачественной клетки, и далее свободное лекарственное средство проникает в клетку.

[0258] В одном варианте осуществления, лигандная единица связывается с опухолевой клеткой или злокачественной клеткой.

[0259] В другом варианте осуществления, лигандная единица связывается с опухолевой клеткой или антигеном злокачественной клетки, который находится на поверхности опухолевой клетки или злокачественной клетки.

[0260] В другом варианте осуществления, лигандная единица связывается с опухолевой клеткой или антигеном злокачественной клетки, который представляет собой белок внеклеточного матрикса, ассоциированный с опухолевой клеткой или злокачественной клеткой.

[0261] Специфичность лигандной единицы для конкретной опухолевой клетки или злокачественной клетки может иметь важное значение для определения опухолей или злокачественных опухолей, которые лечатся наиболее эффективно. Например, камптотециновые конъюгаты, которые нацелены на антиген злокачественной клетки, присутствующий в гематопозитических злокачественных опухолях, могут применяться в лечении гематологических злокачественных новообразований (например, анти-CD30, анти-CD70, анти-CD19, анти-CD33 связывающая лигандная единица (например, антитело) может быть полезной для лечения гематологических злокачественных новообразований). Камптотециновые конъюгаты, которые нацелены на антиген злокачественных клеток, присутствующий на солидных опухолях, могут применяться в лечении таких солидных опухолей.

[0262] Злокачественные опухоли, которые можно лечить посредством камптотецинового конъюгата, включают, но ими не ограничиваются, злокачественные

опухоли гематопозитической ткани, такие как, например, лимфомы (лимфома Ходжкина и неходжкинские лимфомы), лейкемии и солидные опухоли. Примеры злокачественных опухолей гемопоэтической ткани включают фолликулярную лимфому, анапластическую крупноклеточную лимфому, лимфому из клеток мантийной зоны, острый миелобластный лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, диффузную В-крупноклеточную лимфому и множественную миелому. Примеры солидных опухолей включают фибросаркому, миксосаркому, липосаркому, хондросаркому, остеогенную саркому, хордому, ангиосаркому, эндотелиосаркому, лимфангиосаркому, лимфангиоэндотелиосаркому, синовиому, мезотелиому, саркома Юинга, лейомиосаркома, рабдомиосаркома, рак толстой кишки, колоректальный рак, рак почки, рак поджелудочной железы, рак костей, рак молочной железы, рак яичников, рак простаты, рак пищевода, рак желудка, рак полости рта, рак носа, рак горла, плоскоклеточная карцинома, базальноклеточный рак, аденокарцинома, карцинома потовых желез, карцинома сальных желез, папиллярная карцинома, папиллярные аденокарциномы, цистаденокарцинома, медуллярная карцинома, бронхогенная карцинома, почечно-клеточная карцинома, гепатома, карцинома желчных протоков, хориокарцинома, семинома, эмбриональная карцинома, опухоль Вильмса, рак шейки матки, рак матки, рак яичек, мелкоклеточная карцинома легких, рак мочевого пузыря, рак легких, эпителиальная карцинома, глиома, мультиформная глиобластома, астроцитомы, медуллобластома, краниофарингиома, эпендимомы, пинеалома, гемангиобластома, акустическая невринома, олигодендроглиома, менингиома, рак кожи, меланома, нейробластома и ретинобластома.

[0263] В предпочтительных вариантах осуществления, злокачественные опухоли представляют собой любую из перечисленных выше лимфом и лейкозов.

Мультимодальная терапия злокачественной опухоли

[0264] Злокачественные опухоли, включая, но ими не ограничиваясь, опухоль, метастаз или другое заболевание или нарушение, характеризующееся неконтролируемым ростом клеток, можно лечить или подавлять введением камптотецинового конъюгата.

[0265] В других вариантах осуществления, предложены способы лечения злокачественной опухоли, включающие введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, эффективного количества камптотецинового конъюгата и химиотерапевтического средства. В одном варианте осуществления, химиотерапевтическое средство представляет собой средство, лечение которым не вызывает резистентность. В одном варианте осуществления, химиотерапевтическое средство представляет собой средство, лечение которым вызывает резистентность. Камптотециновые конъюгаты можно вводить пациенту, который также перенес операцию в качестве лечения злокачественной опухоли.

[0266] В некоторых вариантах осуществления, пациент также получает дополнительное лечение, например лучевую терапию. В конкретном варианте осуществления, камптотециновый конъюгат вводят одновременно с

химиотерапевтическим средством или с осуществлением лучевой терапии. В другом конкретном варианте осуществления, химиотерапевтическое средство вводят или лучевую терапию осуществляют до или после введения камптотецинового конъюгата.

[0267] Химиотерапевтическое средство можно вводить в течение серии сеансов. Может вводиться любое одно или сочетание химиотерапевтических средств, таких как стандартные химиотерапевтические средства.

[0268] Кроме того, методы лечения злокачественной опухоли посредством камптотецинового конъюгата предоставляются в качестве альтернативы химиотерапии или лучевой терапии в случае, когда химиотерапия или лучевая терапия оказались или могут оказаться достаточно токсичными, например, приводят к неприемлемым или невыносимым побочным эффектам в отношении подвергаемого лечению субъекта. Подвергаемый лечению пациент необязательно может быть подвергнут другой противоопухолевой терапии, такой как хирургическое вмешательство, лучевая терапия или химиотерапия, в зависимости от того, какая терапия считается приемлемой или переносимой.

Лечение аутоиммунных заболеваний

[0269] Камптотециновые конъюгаты используются для уничтожения или подавления нежелательного размножения клеток, вызывающих аутоиммунное заболевание, или для лечения аутоиммунного заболевания.

[0270] Камптотециновые конъюгаты могут применяться соответственно в различных условиях для лечения аутоиммунного заболевания у пациента. Камптотециновые конъюгаты можно применять для доставки лекарственного средства к клетке-мишени. Не ограничиваясь теорией, в одном варианте осуществления, камптотециновый конъюгат ассоциируется с антигеном на поверхности провоспалительной или ненадлежащим образом стимулированной иммунной клетки, и затем камптотециновый конъюгат поглощается клеткой-мишенью посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза. После того, как линкерная единица попадает внутрь клетки, она расщепляется, что приводит к высвобождению камптотецина. Высвободившийся камптотецин может свободно мигрировать в цитозоле и индуцировать цитотоксическую или цитостатическую активность. В альтернативном варианте осуществления, лекарственное средство отщепляется от камптотецинового конъюгата вне клетки-мишени, и потом камптотецин проникает в клетку.

[0271] В одном варианте осуществления, лигандная единица связывается с аутоиммунным антигеном. В одном аспекте, антиген находится на поверхности клетки, вовлеченной в аутоиммунное состояние.

[0272] В одном варианте осуществления, лигандная единица связывается с активированными лимфоцитами, которые ассоциированы с аутоиммунным патологическим состоянием.

[0273] В другом варианте осуществления, камптотециновый конъюгат устраняет или подавляет размножение клеток, которые продуцируют аутоиммунные антитела, ассоциированные с конкретным аутоиммунным заболеванием.

[0274] Конкретные типы аутоиммунных заболеваний, которые можно лечить с помощью камптотециновых конъюгатов, включают, но ими не ограничиваются, нарушения, связанные с Th2-лимфоцитами (например, atopический дерматит, atopическая бронхиальная астма, риноконъюнктивит, аллергический ринит, синдром Оменна, системный склероз и реакция “трансплантат против хозяина”); расстройства, связанные с Th1 лимфоцитами (например, ревматоидный артрит, рассеянный склероз, псориаз, синдром Шоргрена, тиреоидит Хашимото, болезнь Грейвса, первичный билиарный цирроз печени, гранулематоз Вегенера и туберкулез); и нарушения, связанные с активированными В-лимфоцитами (например, системная красная волчанка, синдром Гудпасчера, ревматоидный артрит и диабет I типа).

Комплексная лекарственная терапия аутоиммунных заболеваний

[0275] Также описаны способы лечения аутоиммунного заболевания, включающие введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, эффективного количества камптотецинового конъюгата и другого терапевтического средства, известного для лечения аутоиммунного заболевания.

Композиции и способы введения

[0276] Настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим описанные в настоящем описании камптотециновые конъюгаты и фармацевтически приемлемый носитель. Камптотециновые конъюгаты могут быть в любой форме, которая обеспечивает введение соединения пациенту для лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией антигена, с которым связывается лигандная единица. Например, конъюгаты могут быть в форме жидкости или твердого вещества. Предпочтительным способом введения является парентеральный. Парентеральное введение включает подкожные инъекции, внутривенные, внутримышечные, интратеральные инъекции или методы инфузии. В одном аспекте, композиции вводятся парентерально. В другом аспекте, конъюгаты вводятся внутривенно. Введение может осуществляться любым удобным способом, например инфузией или болюсной инъекцией.

[0277] Фармацевтические композиции могут быть получены таким образом, чтобы соединение было биодоступным после введения композиции пациенту. Композиции могут иметь форму одной или нескольких единиц дозирования.

[0278] Вещества, используемые при получении фармацевтических композиций, могут быть нетоксичными в используемых количествах. Специалистам в данной области очевидно, что оптимальная дозировка активного ингредиента(ов) в фармацевтической композиции будет зависеть от множества факторов. Соответствующие факторы включают, без ограничения, вид животного (например, человек), конкретную форму соединения, способ введения и применяемую композицию.

[0279] Композиция может быть, например, в форме жидкости. Жидкость может использоваться для доставки путем инъекции. В композицию для введения путем инъекции также могут быть включены одно или несколько веществ из следующих: поверхностно-активное вещество, консервант, смачивающее вещество, диспергирующее вещество, суспендирующее вещество, буфер, стабилизатор и вещество, придающее изотоничность.

[0280] Жидкие композиции, независимо от того, представляют ли они растворы, суспензии или другую подобную форму, также могут включать одно или несколько из следующих веществ: стерильные разбавители, такие как вода для инъекций, солевой раствор, предпочтительно физиологический раствор, раствор Рингера, изотонический раствор хлорида натрия, нелетучие масла, такие как синтетические моно или дигилцерины, которые могут служить в качестве растворителя или суспендирующей среды, полиэтиленгликоли, глицерин, циклодекстрин, пропиленгликоль или другие растворители; антибактериальные вещества, такие как бензиловый спирт или метилпарабен; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или бисульфит натрия; хелатирующие вещества, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота; буферы, такие как аминокислоты, ацетаты, цитраты или фосфаты; детергенты, такие как неионные поверхностно-активные вещества, полиолы; и вещества для регулирования тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. Парентеральная композиция может быть заключена в ампулу, одноразовый шприц или флакон для многократных доз из стекла, пластика или другого материала. Типичным адьювантом является физиологический раствор. Композиция для инъекций предпочтительно является стерильной.

[0281] Количество конъюгата, которое является эффективным в лечении конкретного расстройства или состояния, будет зависеть от характера нарушения или состояния и может быть определено стандартными клиническими методами. Кроме того, необязательно можно использовать анализы *in vitro* или *in vivo* для помощи в определении оптимальных диапазонов доз. Точная доза, используемая в композициях, также будет зависеть от способа введения и серьезности заболевания или расстройства и должна определяться в соответствии с мнением практикующего врача и состояния каждого пациента.

[0282] Композиции содержат эффективное количество соединения, позволяющее получить подходящую дозировку. Обычно это количество составляет по меньшей мере около 0,01% соединения от массы композиции.

[0283] Для внутривенного введения, композиция может содержать от приблизительно 0,01 до приблизительно 100 мг камптотецинового конъюгата на кг массы организма животного. В одном аспекте, композиция может включать от приблизительно 1 до приблизительно 100 мг камптотецинового конъюгата на кг массы организма животного. В другом аспекте, вводимое количество соединения будет находиться в диапазоне от приблизительно 0,1 до приблизительно 25 мг/кг массы организма. В зависимости от применяемого лекарственного средства, дозировка может быть даже ниже,

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

[0284] Обычно доза конъюгата, вводимого пациенту, обычно составляет от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 100 мг/кг массы тела субъекта или от 1,0 мкг/кг до 5,0 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления, доза, вводимая пациенту, составляет от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 15 мг/кг массы организма субъекта. В некоторых вариантах осуществления, доза, вводимая пациенту, составляет от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 15 мг/кг массы организма субъекта. В некоторых вариантах осуществления, доза, вводимая пациенту, составляет от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг массы организма субъекта. В некоторых вариантах осуществления, вводимая доза составляет от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг или от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг массы организма субъекта. В некоторых вариантах осуществления, вводимая доза составляет от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 15 мг/кг массы организма субъекта. В некоторых вариантах осуществления, вводимая доза составляет от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг массы организма субъекта. В некоторых вариантах осуществления, вводимая доза составляет от приблизительно 0,1 до 4 мг/кг, даже более предпочтительно от 0,1 до 3,2 мг/кг или еще более предпочтительно от 0,1 до 2,7 мг/кг массы организма субъекта в течение курса лечения.

[0285] Термин “носитель” относится к разбавителю, вспомогательному веществу или наполнителю, с которым вводят соединение. Такие фармацевтические носители могут быть жидкостями, такими как вода и масла, включая масла, получаемые из нефти, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло. Носителями могут быть физиологический раствор, гуммиарабик, желатин, крахмальная паста, тальк, кератин, коллоидный диоксид кремния, мочевины. Кроме того, можно использовать вспомогательные вещества, стабилизаторы, загустители, смазывающие вещества и красители. В одном варианте осуществления, при введении пациенту, соединение или композиции и фармацевтически приемлемые носители являются стерильными.

[0286] Вода является типичным носителем при внутривенном введении соединений. Солевые растворы и водные растворы декстрозы и глицерина также можно использовать в качестве жидких носителей, в частности для растворов для инъекций. Подходящие фармацевтические носители также включают наполнители, такие как крахмал, глюкоза, лактоза, сахароза, желатин, солод, рис, мука, мел, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропилен, гликоль, вода, этанол. Настоящие композиции, при необходимости, могут также содержать небольшие количества смачивающих или эмульгирующих веществ или pH-буферных веществ.

[0287] В одном из вариантов осуществления, конъюгаты получают в соответствии с обычными процедурами в виде фармацевтической композиции, адаптированной для внутривенного введения животным, в частности человеку. Обычно носители или носители для внутривенного введения представляют собой стерильные изотонические водные буферные растворы. При необходимости, композиции могут также включать солюбилизующее вещество. Композиции для внутривенного введения могут необязательно содержать местный анестетик, такой как лигнокаин, для облегчения боли в месте инъекции. Обычно ингредиенты поставляются либо по отдельности, либо в смеси вместе в стандартной лекарственной форме, например, в виде сухого лиофилизованного порошка или безводного концентрата в герметично закрытом контейнере, таком как ампула или саше, с указанием количества активного вещества. Если конъюгат должен вводиться путем инфузии, он может дозироваться, например, из сосуда для инфузии, содержащего стерильную воду или физиологический раствор фармацевтического качества. Если конъюгат вводят путем инъекции, может быть предоставлена ампула со стерильной водой для инъекций или физиологическим раствором для того, чтобы ингредиенты можно было смешивать перед введением.

[0288] Фармацевтические композиции обычно получают в виде стерильных, по существу изотонических композиций, полностью соответствующих всем *Правилам производства и контроля качества лекарственных средств (GMP)*, установленным *Управлением по надзору в сфере пищевых продуктов и лекарственных средств США*.

Способы получения камптотециновых конъюгатов

[0289] Камптотециновые конъюгаты, описанные в настоящем описании, могут быть получены либо путем последовательного конструирования антител, линкеров и групп лекарственного средства, либо конвергентным способом путем сборки частей с последующим этапом полной сборки.

[0290] В одной группе вариантов осуществления, соединения камптотецин-линкер, предусмотренные в настоящем описании, комбинируют с подходящей лигандной единицей для облегчения ковалентного присоединения. Соединения камптотецин-линкер к лигандной единице. В некоторых вариантах осуществления, лигандная единица представляет собой антитело, которое имеет по меньшей мере 2 по меньшей мере 4 по меньшей мере 6 или 8 тиолов, доступных для присоединения линкерных соединений в результате восстановления межцепочечных дисульфидных связей. В некоторых вариантах осуществления, соединения камптотецин-линкер присоединены к лигандной единице через введенный цистеиновый фрагмент на антителе.

Наборы для терапевтического применения

[0291] В некоторых аспектах, предусмотрены наборы для применения в лечении рака и аутоиммунных заболеваний. Такие наборы могут включать фармацевтическую композицию, которая содержит описанный в настоящем описании камптотециновый конъюгат.

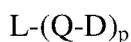
[0292] В некоторых вариантах осуществления, набор может включать инструкции по применению любого из терапевтических методов, описанных в настоящем описании. Включенные инструкции могут содержать описание введения фармацевтических композиций субъекту для достижения предполагаемой активности, например, лечения заболевания или состояния, такого как злокачественная опухоль, у субъекта. В некоторых вариантах осуществления, инструкции, относящиеся к применению описанных в настоящем описании фармацевтических композиций, могут включать информацию о дозировке, графике дозирования и пути введения для предполагаемого лечения. Контейнеры могут представлять собой упаковки для стандартных доз, упаковки для недозированного препарата (например, многодозовыми упаковками) или субстандартных доз. Инструкции, поставляемые с наборами по изобретению, обычно представляют собой письменные инструкции на этикетке или вкладыше к упаковке. Этикетка или листок-вкладыш указывает, что фармацевтические композиции используются для лечения, задержки появления и/или облегчения заболевания или нарушения у субъекта.

[0293] В некоторых вариантах осуществления, предусмотренные в настоящем описании наборы находятся в подходящей упаковке. Подходящая упаковка включает, но ими не ограничивается, флаконы, бутылки, сосуды, гибкую упаковку и т.п. Также предусмотрены упаковки для использования в сочетании с конкретным устройством, таким как ингалятор, устройство для назального введения или устройство для инфузии. В некоторых вариантах осуществления, набор может иметь стерильный порт доступа (например, контейнер может быть пакетом с раствором для внутривенного введения или флаконом, имеющим пробку, которую можно проткнуть иглой для подкожных инъекций).

[0294] В некоторых вариантах осуществления, предусмотренные в настоящем описании наборы включают дополнительное терапевтическое средство, применяемое при лечении злокачественной опухоли при аутоиммунном заболевании, как описано в настоящем описании.

Приведенные в качестве примеров варианты осуществления

[0295] Вариант осуществления 1: Камптотециновый конъюгат, имеющий формулу:



или его фармацевтически приемлемая соль, где

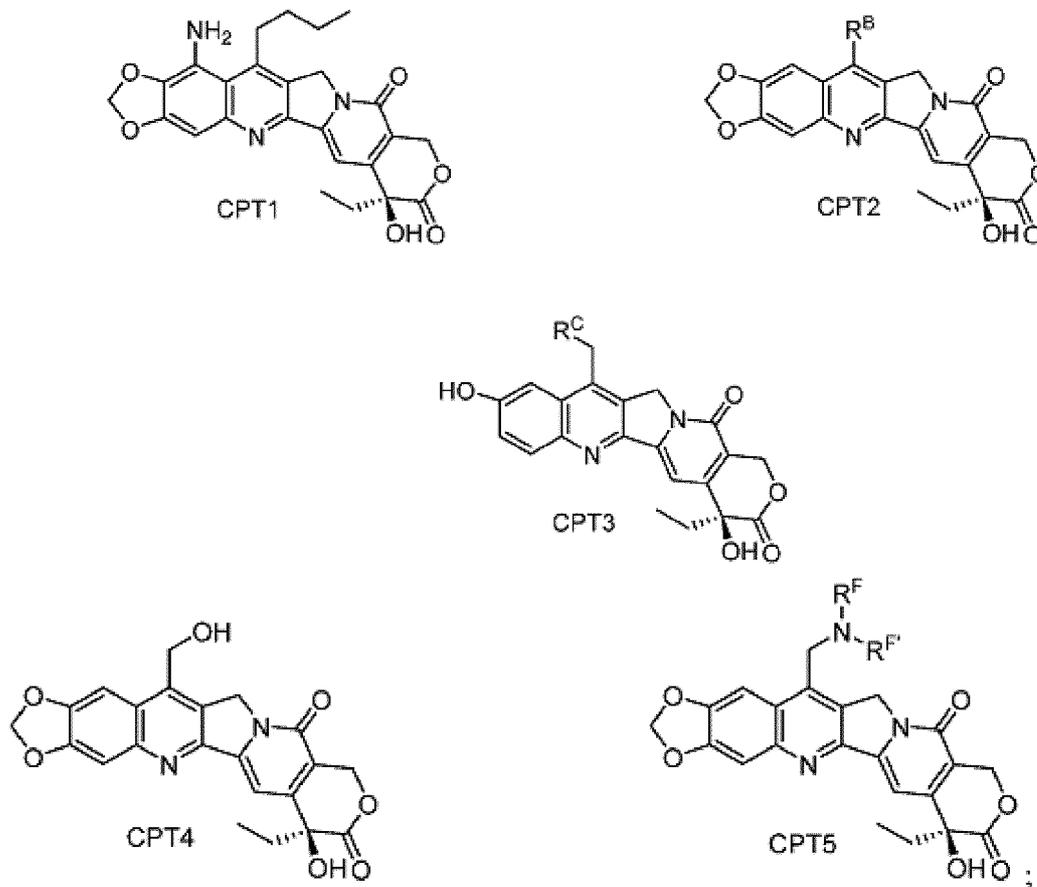
L представляет собой лигандную единицу;

Q представляет собой линкерную единицу, имеющую формулу, выбранную из группы, состоящей из:



где Z представляет собой единицу вставки, A представляет собой соединительную единицу; L^P представляет собой единицу параллельного соединения; S^* представляет собой разделительный агент; RL представляет собой пептид, содержащий от 2 до 8 аминокислот; и Y представляет собой спейсерную единицу;

D представляет собой группу лекарственного средства, выбранную из группы, состоящей из:



где

R^B представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из H, C₁-C₈ алкила, C₁-C₈ галогеналкила, C₃-C₈ циклоалкила, C₃-C₈циклоалкилC₁-C₄ алкила, фенила и фенилC₁-C₄ алкила;

R^C представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из C₁-C₆ алкила и C₃-C₆ циклоалкила;

каждый R^F и R^{F'} является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из H, C₁-C₈ алкила, C₁-C₈ гидроксипалкила, C₁-C₈ аминокалкила, C₁-C₄ алкиламиноC₁-C₈ алкила, (C₁-C₄ гидроксипалкил)(C₁-C₄ алкил)аминоC₁-C₈ алкила, ди(C₁-C₄ алкил)аминоC₁-C₈ алкила, C₁-C₄ гидроксипалкилC₁-C₈ аминокалкила, C₁-C₈ алкилC(O)-, C₁-C₈ гидроксипалкилC(O)-, C₁-C₈ аминокалкилC(O)-, C₃-C₁₀ циклоалкила, C₃-C₁₀циклоалкилC₁-C₄ алкила, C₃-C₁₀ гетероциклоалкила, C₃-C₁₀ гетероциклоалкилC₁-C₄ алкила, фенила, фенилC₁-C₄ алкила, дифенилC₁-C₄ алкила, гетероарила и гетероарилC₁-C₄ алкила; или R^F и R^{F'} объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен, с образованием 5-, 6- или 7-членного кольца, имеющего от 0 до 3 заместителей, выбранных из галогена, C₁-C₄ алкила, OH, OC₁-C₄ алкила, NH₂, NHC₁-C₄ алкила и N(C₁-C₄ алкил)₂;

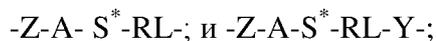
и где циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные фрагменты R^B , R^C , R^F и $R^{F'}$ замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1 - C_4 алкила, OH , OC_1 - C_4 алкила, NH_2 , NHC_1 - C_4 алкила и $N(C_1$ - C_4 алкил) $_2$;

нижний индекс p равен целому числу от 1 до 16; и

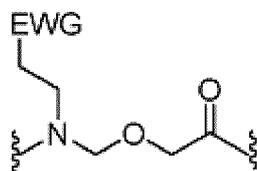
где Q присоединен через любую из гидроксильных и аминогрупп, присутствующих на $CPT1$, $CPT2$, $CPT3$, $CPT4$ или $CPT5$.

[0296] Вариант осуществления 2: Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1**, где D имеет формулу $CPT5$. **Вариант осуществления 3:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1**, где D имеет формулу $CPT2$. **Вариант осуществления 4:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1**, где D имеет формулу $CPT3$. **Вариант осуществления 5:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1**, где D имеет формулу $CPT4$. **Вариант осуществления 6:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1**, где D имеет формулу $CPT1$. **Вариант осуществления 7:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1**, где L представляет собой антителио. **Вариант осуществления 8:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1 или 3**, где R^B представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из H , C_1 - C_8 алкила и C_1 - C_8 галогеналкила. **Вариант осуществления 9:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1 или 3**, где R^B представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из C_3 - C_8 циклоалкила, C_3 - C_8 циклоалкил C_1 - C_4 алкила, фенила и фенил C_1 - C_4 алкила, и где циклоалкильные и фенильные части R^B замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1 - C_4 алкила, OH , OC_1 - C_4 алкила, NH_2 , NHC_1 - C_4 алкила и $N(C_1$ - C_4 алкил) $_2$. **Вариант осуществления 10:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1 или 4**, где R^C представляет собой C_1 - C_6 алкил. **Вариант осуществления 11:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1 или 4**, где R^C представляет собой C_3 - C_6 циклоалкил. **Вариант осуществления 12:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1 или 2**, где как R^F , так и $R^{F'}$ представляют собой H . **Вариант осуществления 13:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1 или 2**, где по крайней мере, один из R^F и $R^{F'}$ является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_8 гидроксиалкила, C_1 - C_8 аминоалкила, C_1 - C_4 алкиламино C_1 - C_8 алкила, $(C_1$ - C_4 гидроксиалкил) $(C_1$ - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, ди $(C_1$ - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_4 гидроксиалкил C_1 - C_8 аминоалкила, C_1 - C_8 алкил $C(O)$ -, C_1 - C_8 гидроксиалкил $C(O)$ - и C_1 - C_8 аминоалкил $C(O)$ -. **Вариант осуществления 14:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1 или 2**, где каждый R^F и $R^{F'}$ является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_8 гидроксиалкила, C_1 - C_8 аминоалкила, C_1 - C_4 алкиламино C_1 - C_8 алкила, $(C_1$ - C_4 гидроксиалкил) $(C_1$ - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, ди $(C_1$ - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_4 гидроксиалкил C_1 - C_8 аминоалкила, C_1 - C_8 алкил $C(O)$ -, C_1 - C_8 гидроксиалкил $C(O)$ - и C_1 - C_8 аминоалкил $C(O)$ -. **Вариант осуществления 15:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1 или 2**, где по меньшей мере один из R^F и $R^{F'}$ является членом,

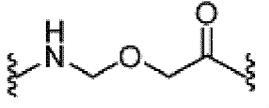
независимо выбранным из группы, состоящей из C₃-C₁₀ циклоалкила, C₃-C₁₀циклоалкилC₁-C₄ алкила, C₃-C₁₀ гетероциклоалкила, C₃-C₁₀ гетероциклоалкилC₁-C₄ алкила, фенила, фенилC₁-C₄ алкила, дифенилC₁-C₄ алкила, гетероарила и гетероарилC₁-C₄ алкила, и где циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные фрагменты R^F и R^{F'} замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C₁-C₄ алкила, OH, OC₁-C₄ алкила, NH₂, NHC₁-C₄ алкила и N(C₁-C₄ алкил)₂. **Вариант осуществления 16:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1 или 2**, где каждый R^F и R^{F'} является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из C₃-C₁₀ циклоалкила, C₃-C₁₀циклоалкилC₁-C₄ алкила, C₃-C₁₀ гетероциклоалкила, C₃-C₁₀ гетероциклоалкилC₁-C₄ алкила, фенила, фенилC₁-C₄ алкила, дифенилC₁-C₄ алкила, гетероарила и гетероарилC₁-C₄ алкила, и где циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные фрагменты R^F и R^{F'} замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C₁-C₄ алкила, OH, OC₁-C₄ алкила, NH₂, NHC₁-C₄ алкила и N(C₁-C₄ алкил)₂. **Вариант осуществления 17:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1 или 2**, где R^F и R^{F'} объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен, с образованием 5-, 6- или 7-членного кольца, имеющего от 0 до 3 заместителей, выбранных из галогена, C₁-C₄ алкила, OH, OC₁-C₄ алкила, NH₂, NHC₁-C₄ алкила и N(C₁-C₄ алкил)₂. **Вариант осуществления 18:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1**, где Q представляет собой линкерную единицу, имеющую формулу, выбранную из группы, состоящей из:



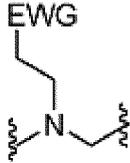
где Z представляет собой единицу вставки, A представляет собой соединительную единицу; S* представляет собой разделительный агент; и Y представляет собой спейсерную единицу. **Вариант осуществления 19:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 18**, где Z-A- включает компонент малеимида-алкановой кислоты или компонент mDPR. **Вариант осуществления 20:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 18**, где RL представляет собой пептид. **Вариант осуществления 21:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1**, где RL представляет собой трипептид. **Вариант осуществления 22:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 18**, где RL представляет собой тетрапептид. **Вариант осуществления 23:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 18**, где RL представляет собой пентапептид. **Вариант осуществления 24:** Камптотециновый конъюгат любого из **вариантов осуществления 18-23**, где RL содержит аминокислоты, выбранные из группы, состоящей из β-аланина, N-метилглицина, глицина, лизина, валина и фенилаланина. **Вариант осуществления 25:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1**, где Y присутствует и включает:



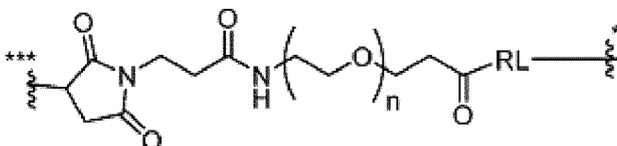
где EWG представляет собой электроноакцепторную группу. **Вариант осуществления 26:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1**, где Y присутствует и включает:



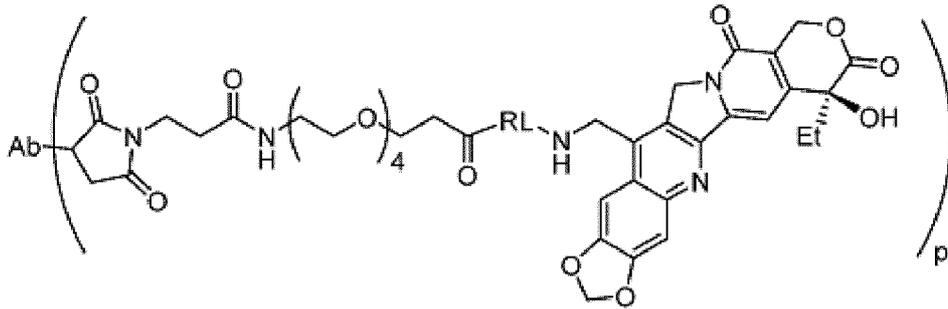
[0297] **Вариант осуществления 27:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1**, где Y присутствует и включает:



где EWG представляет собой электроноакцепторную группу. **Вариант осуществления 28:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 25** или **27**, где EWG представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CX}_3$, $-\text{X}$, $\text{C}(=\text{O})\text{OR}'$, $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}')_2$, $-\text{C}(=\text{O})\text{R}'$, $-\text{C}(=\text{O})\text{X}$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{R}'$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{OR}'$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NHR}'$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{R}')_2$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OR}')_2$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{CH}_3)\text{NHR}'$, $-\text{NO}$, $-\text{N}(\text{R}')_3^+$, где X представляет собой $-\text{F}$, $-\text{Br}$, $-\text{Cl}$ или $-\text{I}$, и R' независимо выбран из группы, состоящей из водорода и C_{1-6} алкила. **Вариант осуществления 29:** Камптотециновый конъюгат любого из **вариантов осуществления 1-27**, где RL представляет собой пептид, выбранный из группы, состоящей из gly-gly, gly-gly-gly, gly-gly-gly-gly, val-gly-gly, val-cit-gly, val-gln-gly, val-glu-gly, phe-lys-gly, leu-lys-gly, gly-val-lys-gly, val-lys-gly-gly, val-lys-gly, val-lys-ala, val-lys-leu, leu-leu-gly, gly-gly-phe-gly, gly-gly-phe-gly-gly, val-gly и val-lys- β -ala. **Вариант осуществления 30:** Камптотециновый конъюгат любого из **вариантов осуществления 1-27**, где RL представляет собой пептид, выбранный из группы, состоящей из gly-gly, gly-gly-gly, gly-gly-gly-gly, val-gly-gly, val-cit-gly, val-gln-gly, val-glu-gly, phe-lys-gly, leu-lys-gly, gly-val-lys-gly, val-lys-gly-gly, val-lys-gly, val-lys-ala, val-lys-leu, leu-leu-gly, gly-gly-phe-gly, gly-gly-phe-gly-gly, val-gly и val-lys- β -ala; Y представляет собой ПЭГ группу; и Z-X представляет собой компонент малеимидо-алкановой кислоты или компонент mDPR. **Вариант осуществления 31:** Камптотециновый конъюгат любого из **вариантов осуществления 1-27**, где S^* представляет собой ПЭГ группу; и Z-A- представляет собой малеимидопропионильный компонент или компонент mDPR. **Вариант осуществления 32:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 31**, где Z-A- представляет собой малеимидопропионильный компонент. **Вариант осуществления 33:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 31**, где Q имеет формулу:

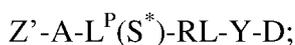
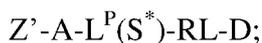


где n представляет собой целое число от 2 до 20; RL представляет собой ди-, три-, тетра- или пентапептид; волнистая линия, отмеченная одной *, обозначает место присоединения к D или к спейсерной единице (Y); и волнистая линия, отмеченная ***, обозначает точку присоединения L к атому серы. **Вариант осуществления 34:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 33**, где n представляет собой целое число от 4 до 10. **Вариант осуществления 35:** Камптотециновый конъюгат любого из **вариантов осуществления 1-34**, где L представляет собой антитело, которое специфически связывается с антигеном, выбранным из группы, состоящей из CD19, CD30, CD33, CD70 и LIV-1. **Вариант осуществления 36:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 1**, где конъюгат имеет формулу:



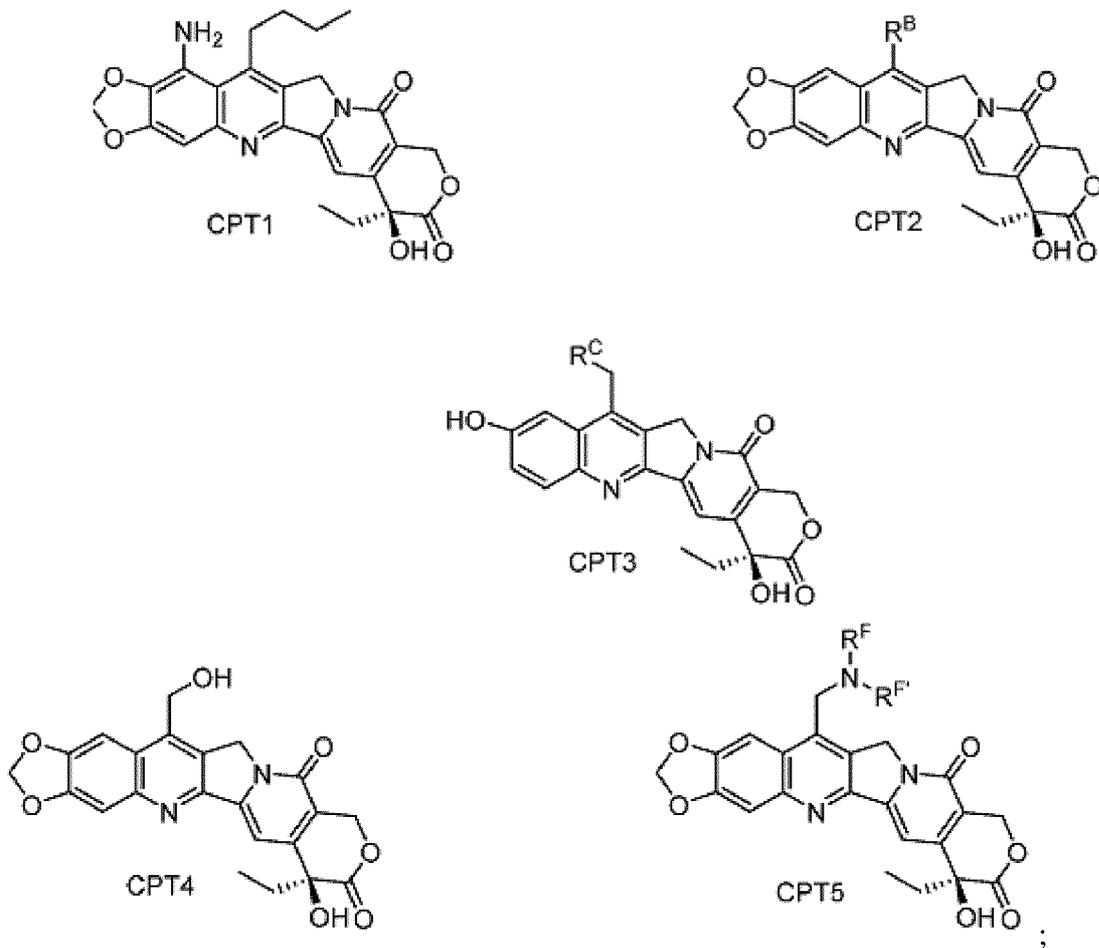
где Ab представляет собой антитело, специфичное к антигену, выбранному из группы, состоящей из CD19, CD30, CD33, CD70 и LIV-1, RL представляет собой пептид, выбранный из группы, состоящей из gly-gly-gly-gly, val-lys- β -ala, val-gln-gly, val-lys-ala, phe-lys-gly, val-lys-gly-gly, gly-gly, val-lys-gly, val-gly-gly, leu-leu-gly, leu-lys-gly, val-glu-gly, gly-gly-gly, val-asp-gly, val-lys, val-gly и gly-val-lys-gly; и p представляет собой целое число от 1 до 16. **Вариант осуществления 37:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 36**, где RL выбран из группы, состоящей из val-lys- β -ala, val-gln-gly, val-lys-ala, phe-lys-gly, val-lys-gly, val-gly-gly, leu-leu-gly, leu-lys-gly, val-glu-gly, gly-gly-gly и val-asp-gly. **Вариант осуществления 38:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 36**, где RL выбран из группы, состоящей из val-lys- β -ala, val-gln-gly, val-lys-ala, phe-lys-gly, val-lys-gly, val-gly-gly, leu-lys-gly, val-glu-gly и val-asp-gly. **Вариант осуществления 39:** Камптотециновый конъюгат **варианта осуществления 36**, где RL представляет собой val-lys-gly.

[0298] Вариант осуществления 40: Соединение камптотецин-линкер, имеющее формулу, выбранную из группы, состоящей из:



где Z' представляет собой единицу вставки; A представляет собой связь или соединительную единицу; L^P представляет собой единицу параллельного соединения; S^* представляет собой разделительный агент; RL представляет собой пептид, содержащий от

2 до 8 аминокислот; Y представляет собой спейсерную единицу; и D представляет собой группу лекарственного средства, выбранную из группы, состоящей из



где

R^B представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из H, C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_8 галогеналкила, C_3 - C_8 циклоалкила, C_3 - C_8 циклоалкил C_1 - C_4 алкила, фенила и фенил C_1 - C_4 алкила;

R^C представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из C_1 - C_6 алкила и C_3 - C_6 циклоалкила;

каждый R^F и $R^{F'}$ является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из H, C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_8 гидроксилалкила, C_1 - C_8 аминоалкила, C_1 - C_4 алкиламино C_1 - C_8 алкила, (C_1 - C_4 гидроксилалкил)(C_1 - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, ди(C_1 - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_4 гидроксилалкил C_1 - C_8 аминоалкила, C_1 - C_8 алкилC(O)-, C_1 - C_8 гидроксилалкилC(O)-, C_1 - C_8 аминоалкилC(O)-, C_3 - C_{10} циклоалкила, C_3 - C_{10} циклоалкил C_1 - C_4 алкила, C_3 - C_{10} гетероциклоалкила, C_3 - C_{10} гетероциклоалкил C_1 - C_4 алкила, фенила, фенил C_1 - C_4 алкила, дифенил C_1 - C_4 алкила, гетероарила и гетероарил C_1 - C_4 алкила; или R^F и $R^{F'}$ объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен, с образованием 5-, 6- или 7-членного кольца, имеющего от 0 до 3 заместителей, выбранных из галогена, C_1 - C_4 алкила, OH, ОС C_1 - C_4 алкила, NH $_2$, NHC $_1$ - C_4 алкила и N(C_1 - C_4 алкил) $_2$;

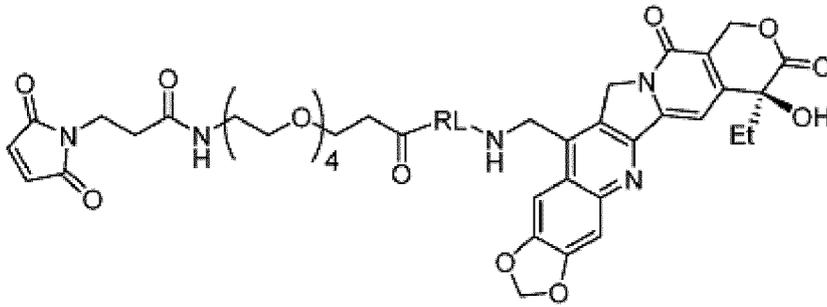
и где циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные фрагменты R^B , R^C , R^F и $R^{F'}$ замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1 - C_4 алкила, OH, OC_1 - C_4 алкила, NH_2 , NHC_1 - C_4 алкила и $N(C_1$ - C_4 алкил) $_2$;

нижний индекс p представляет собой целое число от 1 до 16; и

где Q присоединен через любую из гидроксильных и аминогрупп, присутствующих на CPT1, CPT2, CPT3, CPT4 или CPT5.

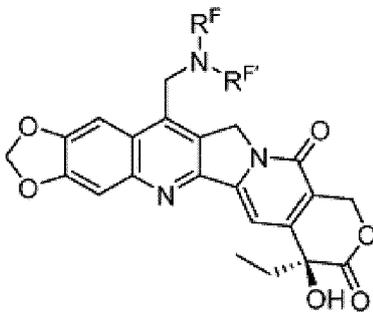
[0299] Вариант осуществления 41: Соединение камптотецин-линкер **варианта осуществления 40**, имеющее формулу (i) или (iii). **Вариант осуществления 42:** Соединение камптотецин-линкер **варианта осуществления 40**, имеющее формулу (ii) или (iv). **Вариант осуществления 43:** Соединение камптотецин-линкер **варианта осуществления 40**, имеющее формулу (i). **Вариант осуществления 44:** Соединение камптотецин-линкер **варианта осуществления 40**, имеющее формулу (iii). **Вариант осуществления 45:** Соединение камптотецин-линкер любого из вариантов осуществления **40-44**, где D представляет собой CPT5. **Вариант осуществления 46:** Соединение камптотецин-линкер любого из **вариантов осуществления 40-44**, где R^B представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из H, C_1 - C_8 алкила и C_1 - C_8 галогеналкила. **Вариант осуществления 47:** Соединение камптотецин-линкер любого из **вариантов осуществления 40-44**, где R^B представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из C_3 - C_8 циклоалкила, C_3 - C_8 циклоалкил C_1 - C_4 алкила, фенила и фенил C_1 - C_4 алкила, и где циклоалкильные и фенильные части R^B замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1 - C_4 алкила, OH, OC_1 - C_4 алкила, NH_2 , NHC_1 - C_4 алкила и $N(C_1$ - C_4 алкил) $_2$. **Вариант осуществления 48:** Соединение камптотецин-линкер любого из **вариантов осуществления 40-44**, где R^C представляет собой C_1 - C_6 алкил. **Вариант осуществления 49:** Соединение камптотецин-линкер любого из **вариантов осуществления 40-44**, где R^C представляет собой C_3 - C_6 циклоалкил. **Вариант осуществления 50:** Соединение камптотецин-линкер любого из **вариантов осуществления 40-44**, где как R^F , так и $R^{F'}$ представляют собой H. **Вариант осуществления 51:** Соединение камптотецин-линкер любого из **вариантов осуществления 40-44**, где по крайней мере, один из R^F и $R^{F'}$ является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_8 гидроксиалкила, C_1 - C_8 аминоалкила, C_1 - C_4 алкиламино C_1 - C_8 алкила, (C_1 - C_4 гидроксиалкил)(C_1 - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, ди(C_1 - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_4 гидроксиалкил C_1 - C_8 аминоалкила, C_1 - C_8 алкилC(O)-, C_1 - C_8 гидроксиалкилC(O)- и C_1 - C_8 аминоалкилC(O)-. **Вариант осуществления 52:** Соединение камптотецин-линкер любого из **вариантов осуществления 40-44**, где каждый R^F и $R^{F'}$ является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из H, C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_8 гидроксиалкила, C_1 - C_8 аминоалкила, C_1 - C_4 алкиламино C_1 - C_8 алкила, (C_1 - C_4 гидроксиалкил)(C_1 - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, ди(C_1 - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_4 гидроксиалкил C_1 - C_8 аминоалкила, C_1 - C_8 алкилC(O)-, C_1 - C_8 гидроксиалкилC(O)- и C_1 - C_8 аминоалкилC(O)-. **Вариант осуществления 53:** Соединение камптотецин-линкер любого из **вариантов осуществления 40-44**, где по меньшей мере

один из R^F и $R^{F'}$ является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из C_3 - C_{10} циклоалкила, C_3 - C_{10} циклоалкил C_1 - C_4 алкила, C_3 - C_{10} гетероциклоалкила, C_3 - C_{10} гетероциклоалкил C_1 - C_4 алкила, фенила, фенил C_1 - C_4 алкила, дифенил C_1 - C_4 алкила, гетероарила и гетероарил C_1 - C_4 алкила, и где циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные фрагменты R^F и $R^{F'}$ замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1 - C_4 алкила, OH, OC_1 - C_4 алкила, NH_2 , NHC_1 - C_4 алкила и $N(C_1$ - C_4 алкил) $_2$. **Вариант осуществления 54:** Соединение камптотецин-линкер любого из **вариантов осуществления 40-44**, где каждый R^F и $R^{F'}$ является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из H, C_3 - C_{10} циклоалкила, C_3 - C_{10} циклоалкил C_1 - C_4 алкила, C_3 - C_{10} гетероциклоалкила, C_3 - C_{10} гетероциклоалкил C_1 - C_4 алкила, фенила, фенил C_1 - C_4 алкила, дифенил C_1 - C_4 алкила, гетероарила и гетероарил C_1 - C_4 алкила, и где циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные фрагменты R^F и $R^{F'}$ замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1 - C_4 алкила, OH, OC_1 - C_4 алкила, NH_2 , NHC_1 - C_4 алкила и $N(C_1$ - C_4 алкил) $_2$. **Вариант осуществления 55:** Соединение камптотецин-линкер любого из **вариантов осуществления 40-44**, где R^F и $R^{F'}$ объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен, с образованием 5-, 6- или 7-членного кольца, имеющего от 0 до 3 заместителей, выбранных из галогена, C_1 - C_4 алкила, OH, OC_1 - C_4 алкила, NH_2 , NHC_1 - C_4 алкила и $N(C_1$ - C_4 алкил) $_2$. **Вариант осуществления 56:** Соединение камптотецин-линкер любого из **вариантов осуществления 40-55**, где $Z'-A-$ is представляет собой малеимидопропионил, mDPR, малеимидокапроил или малеимидопропионил- β -аланил. **Вариант осуществления 57:** Соединение камптотецин-линкер **варианта осуществления 56**, где $Z'-A-$ представляет собой малеимидопропионил. **Вариант осуществления 58:** Соединение камптотецин-линкер **варианта осуществления 56**, где $Z'-A-$ представляет собой mDPR. **Вариант осуществления 59:** Соединение камптотецин-линкер **варианта осуществления 40**, где S^* представляет собой ПЭГ группу. **Вариант осуществления 60:** Соединение камптотецин-линкер **варианта осуществления 40**, где RL содержит пептид, выбранный из группы, состоящей из gly-gly, gly-gly-gly, gly-gly-gly-gly, val-gly-gly, val-cit-gly, val-gln-gly, val-glu-gly, phe-lys-gly, leu-lys-gly, gly-val-lys-gly, val-lys-gly-gly, val-lys-gly, val-lys-ala, val-lys-leu, leu-leu-gly, gly-gly-phe-gly, gly-gly-phe-gly-gly, val-gly и val-lys- β -ala. **Вариант осуществления 62:** Соединение камптотецин-линкер **варианта осуществления 40**, где RL содержит пептид, выбранный из группы, состоящей из gly-gly, gly-gly-gly, gly-gly-gly-gly, val-gly-gly, val-cit-gly, val-gln-gly, val-glu-gly, phe-lys-gly, leu-lys-gly, gly-val-lys-gly, val-lys-gly-gly, val-lys-gly, val-lys-ala, val-lys-leu, leu-leu-gly, gly-gly-phe-gly, gly-gly-phe-gly-gly, val-gly и val-lys- β -ala; $Z'-A-$ представляет собой малеимидопропионил, mDPR или малеимидопропионил- β -аланил; и S^* представляет собой ПЭГ группу. **Вариант осуществления 62:** Соединение камптотецин-линкер **варианта осуществления 40**, выбранное из группы, состоящей из:



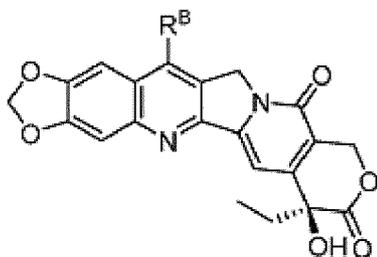
где RL представляет собой пептид, выбранный из группы, состоящей из gly-gly-gly-gly, val-lys- β -ala, val-gln-gly, val-lys-ala, phe-lys-gly, val-lys-gly-gly, gly-gly, val-lys-gly, val-gly-gly, leu-leu-gly, leu-lys-gly, val-glu-gly, gly-gly-gly, val-asp-gly, val-lys, val-gly и gly-val-lys-gly. **Вариант осуществления 63:** Соединение камптотецин-линкер **варианта осуществления 62**, где RL выбран из группы, состоящей из val-lys- β -ala, val-gln-gly, val-lys-ala, phe-lys-gly, val-lys-gly, val-gly-gly, leu-leu-gly, leu-lys-gly, val-glu-gly, gly-gly-gly и val-asp-gly. **Вариант осуществления 64:** Соединение камптотецин-линкер **варианта осуществления 62**, где RL выбран из группы, состоящей из val-lys- β -ala, val-gln-gly, val-lys-ala, phe-lys-gly, val-lys-gly, val-gly-gly, leu-lys-gly, val-glu-gly и val-asp-gly. **Вариант осуществления 65:** Соединение камптотецин-линкер **варианта осуществления 62**, где RL представляет собой val-lys-gly.

[0300] **Вариант осуществления 66:** Камптотециновое соединение, имеющее формулу:



где каждый R^F и R^F независимо является членом, выбранным из группы, состоящей из H, глицила, гидроксиацетила, этила и 2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)этила, или где R^F и R^F объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен, образуя морфолино. **Вариант осуществления 67:** Камптотециновое соединение **варианта осуществления 66**, где R^F представляет собой H, а R^F представляет собой глицил, гидроксиацетил, этил, 2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)этил. **Вариант осуществления 68:** Камптотециновое соединение **варианта осуществления 66**, где R^F и R^F объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен, с образованием морфолино.

[0301] **Вариант осуществления 69:** Камптотециновое соединение, имеющее формулу:



где R^B представляет собой член, выбранный из группы, состоящий из циклопропила, пентила, гексила, трет-бутила и циклопентила.

[0302] Вариант осуществления 70: Способ лечения злокачественной опухоли у субъекта, нуждающегося в таком лечении, включающий введение субъекту камптотецинового конъюгата любого из **вариантов осуществления 1-39**. **Вариант осуществления 71:** Способ **варианта осуществления 70**, где указанная злокачественная опухоль выбрана из группы, состоящей из лимфом, лейкозов и солидных опухолей. **Вариант осуществления 72:** Способ **варианта осуществления 70**, где указанная злокачественная опухоль представляет собой лимфому или лейкемию. **Вариант осуществления 73:** Способ любого из **вариантов осуществления 70-73** дополнительно включающий дополнительное терапевтическое средство. **Вариант осуществления 74:** Способ **варианта осуществления 73**, где указанное дополнительное терапевтическое средство представляет собой одно или несколько химиотерапевтических средств или лучевую терапию.

[0303] Вариант осуществления 75: Способ лечения аутоиммунного заболевания у субъекта, который нуждается в таком лечении, включающий введение субъекту камптотецинового конъюгата любого из **вариантов осуществления 1-39**. **Вариант осуществления 76:** способ **варианта осуществления 75**, где указанное аутоиммунное заболевание выбрано из группы, состоящей из нарушений, связанных с Th2 лимфоцитами, нарушений, связанных с Th1 лимфоцитами, и нарушений, связанных с активированными В-лимфоцитами.

[0304] Вариант осуществления 77: Способ получения камптотецинового конъюгата любого из **вариантов осуществления 1-39**, включающий взаимодействие антитела с соединением камптотецин-линкер любого из **вариантов осуществления 40-65**.

[0305] Вариант осуществления 78: Набор, содержащий камптотециновый конъюгат любого из **вариантов осуществления 1-39**. **Вариант осуществления 79:** Набор **варианта осуществления 77**, дополнительно содержащий дополнительное терапевтическое средство.

ПРИМЕРЫ

Методика эксперимента

Сокращения для синтеза

AcOH	уксусная кислота
------	------------------

Boc	трет-бутилоксикарбонильная защитная группа
DCM	дихлорметан
DIPEA	N, N-диизопропилэтиламин
DMA	N, N-диметиацетамид
DMF	N, N-диметилформаид
EtOAc	этилацетат
EtOH	этанол
Fmoc	9-флуоренилметил карбаматы
HATU	1-[бис(диметиламино)метилеи]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиния 3-оксид гексафторфосфат
Hex	гексаны
HPLC	высокоэффективная жидкостная хроматография
MeCN	ацетонитрил
MeOH	метанол
Mal	3-малеимидо
MP	3-малеимидопропионил
MC	3-малеимидокапроил
mDPR	малеимидо-аминопропионил
MS	масс-спектрометрия
OSu	N-гидроксисукцинимид
PPTS	пиридиния пара-толуолсульфоная кислота
Prep	препаративный
TFA	трифторуксусная кислота
TSTU	тетрафторборат N, N,N',N'-тетраметил-О-(N-сукцинимидил)урония
UPLC(СВЭЖХ)	сверхвысокоэффективная жидкостная хроматография

Вещества и методы

[0306] Следующие вещества и методы применимы к процедурам синтеза, описанным в этом разделе, если не указано иное. Все коммерчески доступные безводные растворители использовались без дополнительной очистки. Исходные вещества, реагенты и растворители были приобретены у коммерческих поставщиков (SigmaAldrich и Fischer). Продукты очищали колоночной флэш-хроматографией с использованием системы очистки Biotage Isolera One (Charlotte, NC). UPLC-MS выполняли на масс-спектрометре с одноквадрупольным детектором Waters, сопряженном с системой Waters Acquity UPLC, оснащенной обращенно-фазовой колонкой Waters Acuity UPLC BEH C18 2,1 × 50 мм, 1,7 мкм. Элюент состоял из растворителей: 0,1% муравьиной кислоты в ацетонитриле и 0,1% муравьиной кислоты в воде. Общий метод осуществляли при градиенте 3-60%

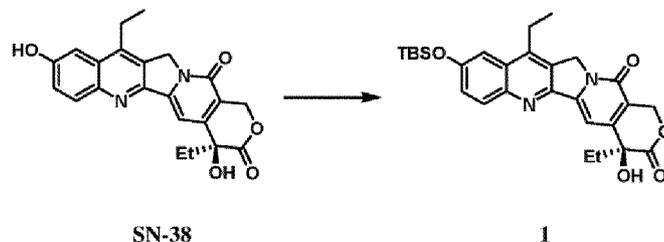
ацетонитрила в течение 1,7 мин, затем при линейном градиенте 60-95% до 2,0 мин, потом в изократическом режиме 95% ацетонитрила до 2,5 мин с последующим уравниванием колонки до 3% от 2,8 до 3,0 мин при скорости потока 0,5 мл/мин. 2=0,4 мл/мин), снабженный колонкой с обращенной фазой Acquity UPLC BEH C18 2,1 × 50 мм, 1,7 мкм. Препаративную ВЭЖХ осуществляли на системе подачи растворителя Waters 2454 Binary Gradient Module, оснащенной детектором Waters 2998 PDA. Продукты очищали на колонке с обращенной фазой с соответствующим диаметром Phenomenex Max-RP 4 мкм Synergi 80 Å 250 мм, элюируя 0,05% трифторуксусной кислотой в воде и 0,05% трифторуксусной кислотой в ацетонитриле.

Препараты на основе камптотецинового соединения

Камптотециновые соединения, представленные в следующих примерах, можно использовать при получении соединений камптотецин-линкер, а также камптотециновых конъюгатов, как описано в настоящем описании.

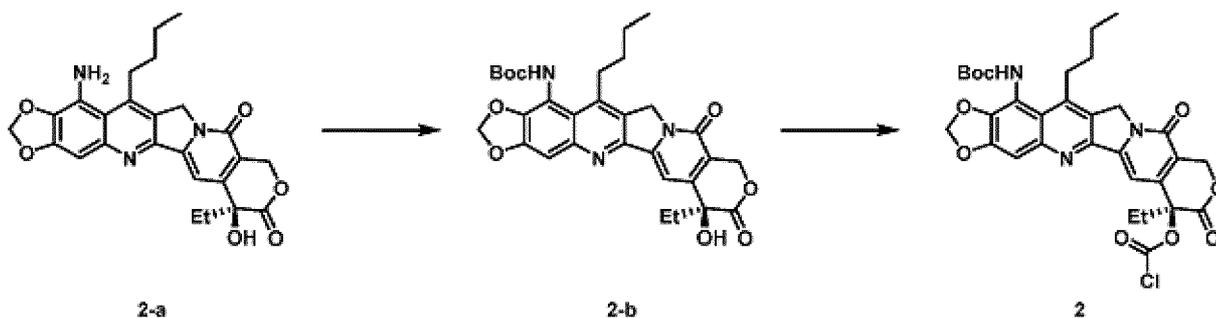
Пример 1

TBS защита SN-38:



[0308] 7-Этил-10-гидрокси-камптотецин (SN-38) (160,0 мг, 0,4077 ммоль), приобретенный в компании MedChemExpress, суспендировали в безводном DCM (2 мл). Добавляли DIPEA (0,22 мл, 1,3 ммоль), а затем TBSCl (154 мг, 1,02 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут до тех пор, пока SN-38 не стал растворимым и не наблюдали полное превращение посредством UPLC-MS. Реакцию гасили MeOH, фильтровали через слой силикагеля и концентрировали в вакууме. Полученное бесцветное масло растирали с Нех. Продукт выпадал в осадок из раствора. Осадок собирали фильтрованием и промывали Нех с получением TBS-SN-38 (1) в виде твердого вещества грязнобелого цвета (200 мг, 0,395 ммоль, 97%). Rt=1,86 мин, гидрофобный метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₂₈H₃₅N₂O₅Si 507,23, обнаружено 506,96.

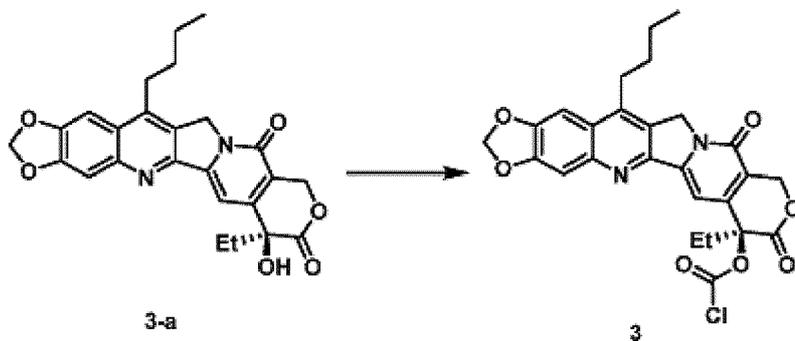
Пример 2



[0309] Соединение **2-a** синтезировали в соответствии с процедурой, описанной Burke, P. J., Jeffrey, S. C. et al. in *Bioconjugate Chem.* 2009, 20, 1242-1250. Соединение **2-a** (50 мг, 0,108 ммоль) растворяли в DCM (1 мл). К реакционной смеси добавляли DMAP (13 мг, 0,11 ммоль), а затем Woc_2O (24 мг, 0,11 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 5 минут, после чего наблюдали полное превращение в желаемый продукт. Защищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии 10G Biotage Ultra 0-5% MeOH в DCM. Фракции, содержащие желаемый продукт, концентрировали в вакууме с получением соединения **2-b** в виде твердого вещества желтого цвета (49 мг, 0,087 ммоль, 80%). $R_t=2,24$ мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ вычислено для $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_8$ 564,23, обнаружено 564,10.

[0310] Соединение **2-b** (49 мг, 0,087 ммоль) растворяли в безводном DCM (2 мл). Добавляли DMAP (37 мг, 0,304 ммоль) и реакционную смесь охлаждали до 0°C . К реакционной смеси по каплям добавляли трифосген (12 мг, 0,039 ммоль), растворенный в 10 мг/мл в DCM, в течение 15 минут. Аликвоту объемом 2 мкл гасили 98 мкл разбавителя MeOH и вводили в UPLC-MS. Полное превращение в аддукт MeOH наблюдали с помощью UPLC-MS. Реакционную смесь (соединение **2**) можно использовать непосредственно на стадиях конденсации с подходящими линкерами. $R_t=2,09$ мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ вычислено для $\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_{10}$ 622,24, обнаружено 622,02.

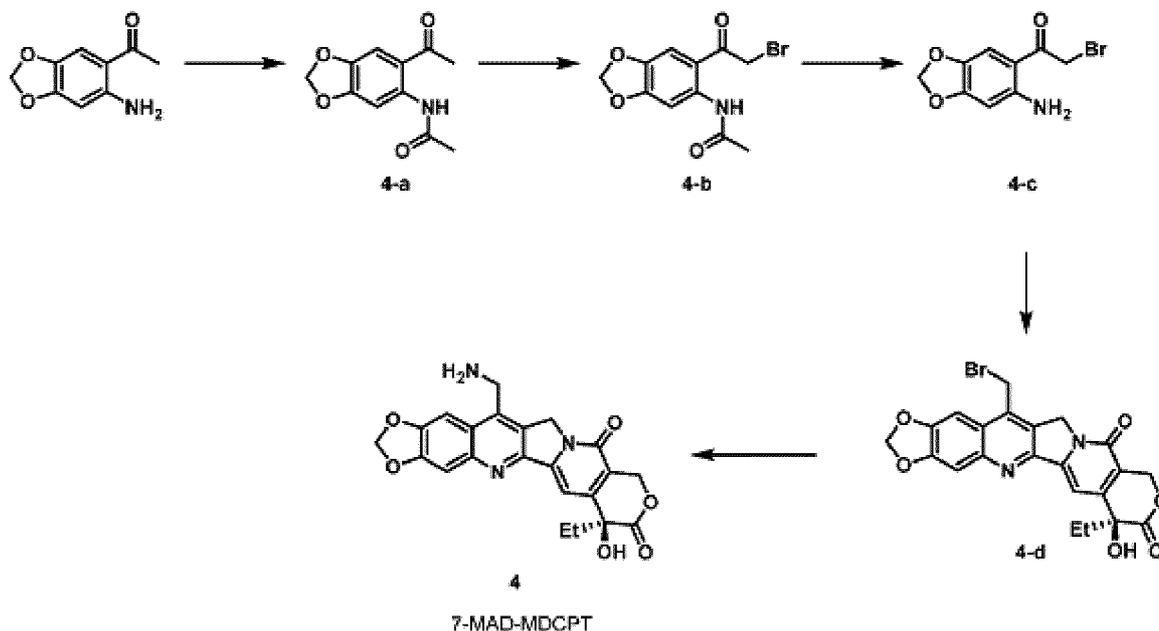
Пример 3



[0311] Соединение **3-a** (150 мг, 0,334 ммоль) растворяли в безводном DCM (2 мл). Добавляли DMAP (143 мг, 1,17 ммоль). Трифосген (45 мг, 0,15 ммоль), растворенный в безводном DCM (50 мг/мл), добавляли по каплям в течение 5 минут. Реакционную смесь перемешивали 30 минут при комнатной температуре. Аликвоту реакционной смеси объемом 2 мкл гасили 98 мкл разбавителя MeOH. Наблюдали почти полное превращение в карбонат MeOH, указывая на образование хлорформиата. Продукт **3** можно использовать без дополнительной очистки на стадиях конденсации с подходящими линкерами. $R_t=1,55$ мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ вычислено для $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_8$ 507,18, обнаружено 507,06.

Пример 4

Получение соединения производное 7-метиламино - метилendioкси камптотecin (указанного в настоящем описании как 7-MAD-MDCPT или соединение 4)

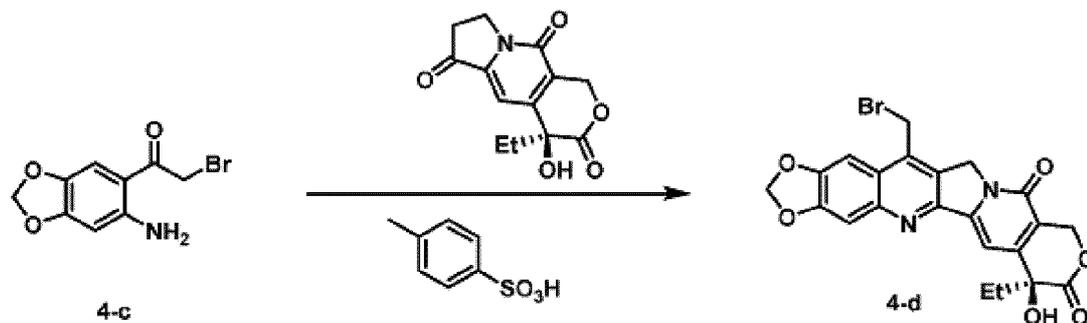


[0312] 6-Амино-3,4-(метилendioкси)ацетофенон (5,00 г, 27,9 ммоль) растворяли в DCM (100 мл). Реакционную смесь охлаждали до 0°C и добавляли DIPEA (7,29 мл, 41,9 ммоль) с последующим медленным добавлением ацетилхлорида (2,49 мл, 34,9 мл). Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение 30 минут. Полное превращение наблюдали посредством UPLC-MS. Реакцию гасили MeOH (5 мл) и реакционную смесь концентрировали в вакууме с получением соединения **4-a** в виде твердого вещества белого цвета, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. Rt=1,37 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₁₁H₁₂NO₄ 222,08, обнаружено 222,11.

[0313] Соединение **4-a** (27,9 ммоль) из предыдущей стадии растворяли в AcOH (100 мл). Медленно добавляли 33% HBr в AcOH (9,78 мл, 55,8 ммоль). По каплям в течение 15 минут добавляли бром (1,44 мл, 27,9 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут, при этом наблюдали превращение в желаемый продукт. Реакционную смесь выливали в ледяную воду, осадок собирали фильтрованием и промывали водой. Фильтрат сушили с получением порошка желтого цвета, который представлял собой смесь целевого продукта, соединения **4-b**, с исходным веществом и примесями дибромистого продукта, который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки (7,2 г, 24 ммоль, 86%). Rt=1,58 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₁₁H₁₁BrNO₄ 299,99, обнаружено 299,90.

[0314] Соединение **4-b** (7,2 г, 24 ммоль) растворяли в EtOH (100 мл). Добавляли концентрированный HBr (5 мл), и реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 60 минут. Наблюдали почти полное превращение в незащищенный продукт. Реакционную смесь концентрировали в вакууме, разбавляли

DCM (200 мл) и H₂O (200) мл. Водную фазу экстрагировали DCM (3 x 200 мл), собранные органические фазы сушили посредством MgSO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией с 0-10% MeOH в DCM. Фракции, содержащие желаемый продукт с небольшими примесями, концентрировали с получением соединения **4-c** в виде порошка желтого цвета (4,05 г, 15,7 ммоль, 65%). Rt=1,57 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₉H₉BrNO₃ 257,98, обнаружено 257,71.



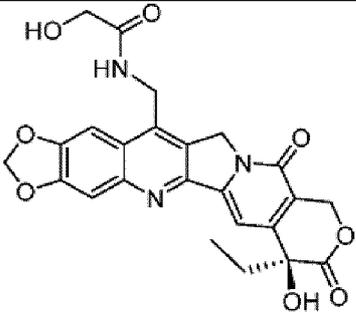
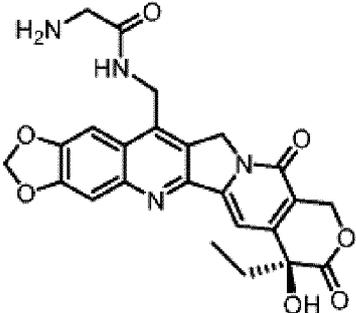
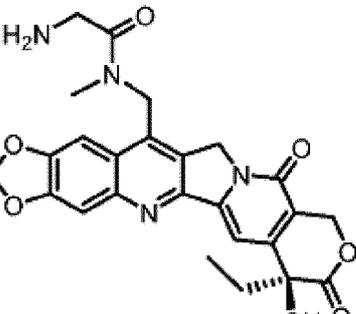
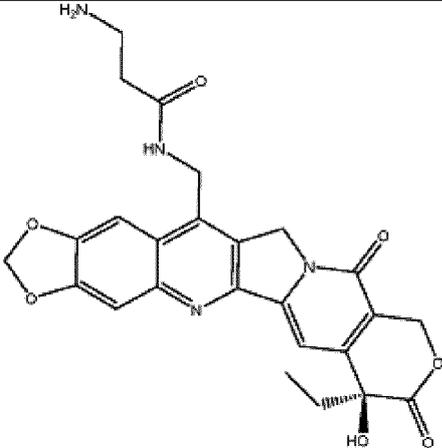
[0315] Соединение **4-c** (1,00 г, 3,87 ммоль), p-TSA (667 мг, 3,87 ммоль) и 4-этил-4-гидрокси-7,8-дигидро-1H-пирано[3,4-f]индолизин-3,6,10(4H)-трион (1,02 г, 3,87 ммоль, получен от компании Avra Laboratories Pvt. Ltd.) помещали в сосуд. DCM (5 мл) добавляли для гомогенизации твердых веществ, а затем упаривали в атмосфере азота. Потом чистые твердые вещества нагревали до 120°C в высоком вакууме (1 мбар (~0,001 атм)) в течение 60 минут. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, сырой продукт осаждали H₂O, фильтровали и промывали H₂O. Осадок очищали с помощью колоночной хроматографии с 0-10% MeOH в DCM. Фракции, содержащие желаемый продукт, концентрировали в вакууме с получением соединения **4-d** в виде твердого вещества коричневого цвета (989 мг, 2,04 ммоль, 53%). Rt=1,57 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₉H₉BrNO₃ 257,98, обнаружено 257,71. Rt=1,62 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₂₂H₁₇BrN₂O₆ 485,03, обнаружено 484,95.

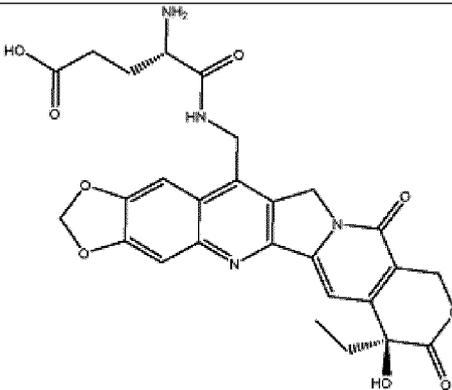
[0316] Соединение **4-d** (188 мг, 0,387 ммоль) растворяли в EtOH (5 мл). Добавляли гексаметиленetetрамин (163 мг, 1,16 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 90 минут. Реакционную смесь охлаждали и добавляли водный концентрированный раствор HCl (0,1 мл). Реакционную смесь концентрировали и очищали препаративной ВЭЖХ. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением соединения **4** в виде твердого вещества грязнобелого цвета (109 мг, 0,259 ммоль, 67%).

[0317] Следующие соединения могут быть получены из 7-MAD-MDCPT (соединение **4**) или из соединения **4-d**, используя обычные методы:

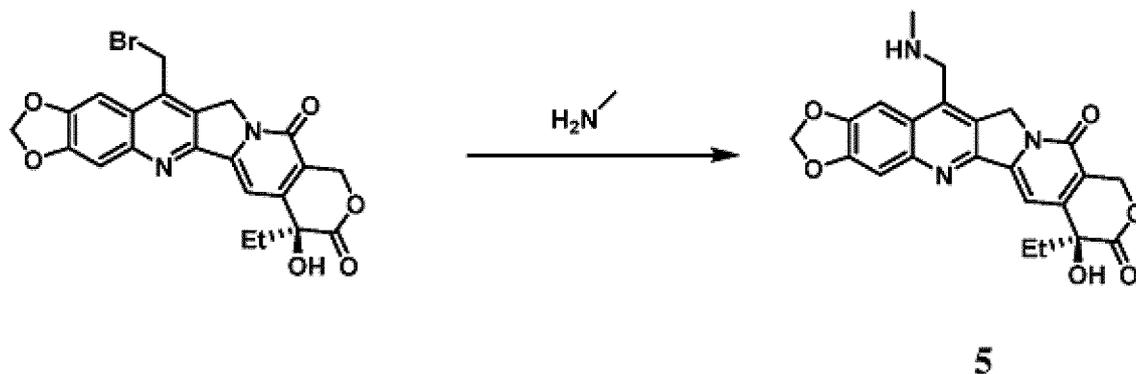
Таблица I

Соедин	Структура	Исходная	Вычисле	Обнаруже	RT
--------	-----------	----------	---------	----------	----

ение №		точная масса	нное значени е MS (m/z) [M+H] ⁺	нное значение MS (m/z)	
4a		479,13	480,14	480,08	1,20
4b		478,15	479,16	479,11	1,05
4c		492,16	493,17	493,00	1,4
4d		492,16	493,17	493,20	0,99

4e		550,17	551,18	551,20	0,94
----	---	--------	--------	--------	------

Пример 5

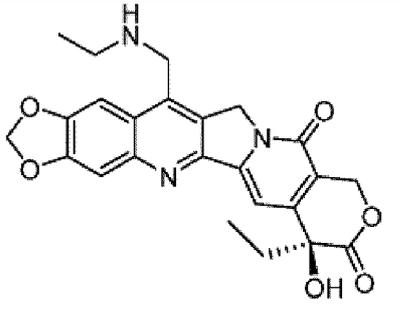
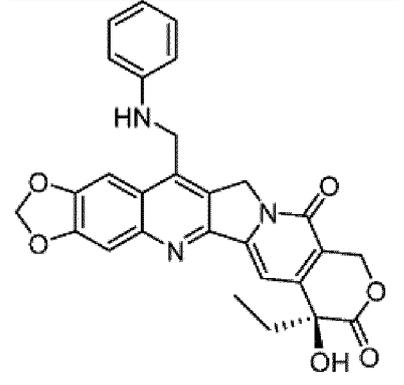
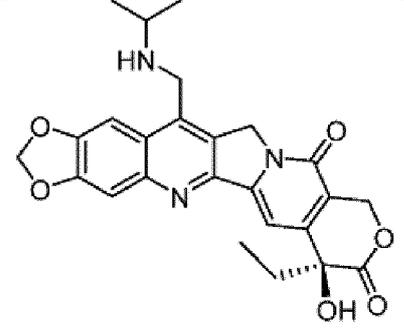
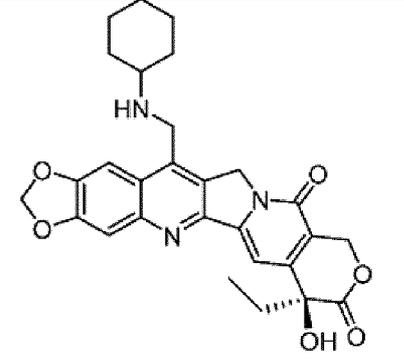
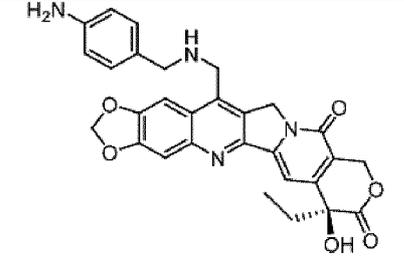


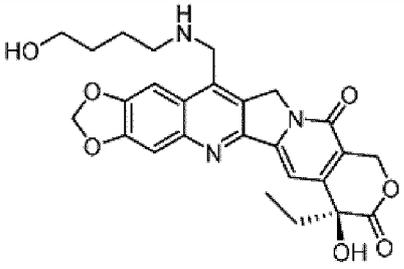
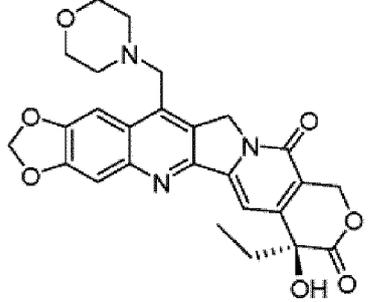
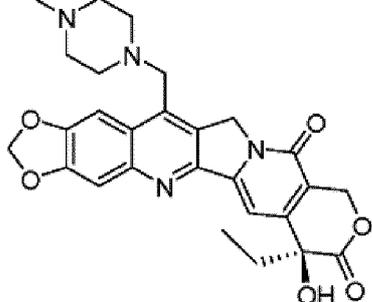
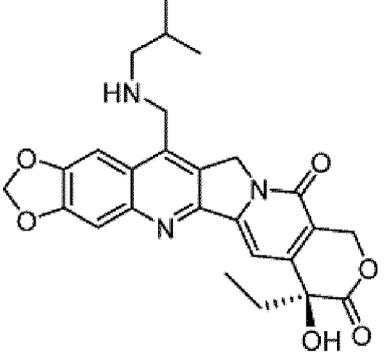
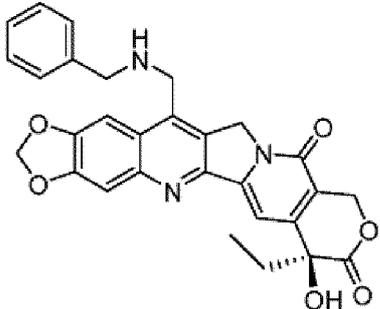
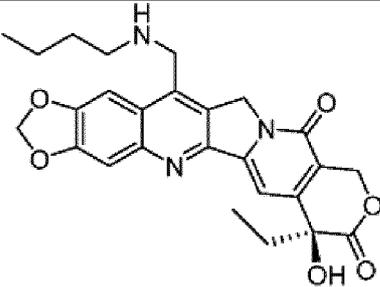
[0318] Субстрат (**4-d** из примера 4, 10,0 мг, 20,6 мкмоль) растворяли в безводном ДМФ (0,25 мл). Добавляли метиламин (2М в ТГФ, 0,031 мл, 62 мкмоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут, затем гасили AcOH (20 мкл). Реакционную смесь очищали препаративной ВЭЖХ. Фракции, содержащие желаемый продукт (**5**), лиофилизировали с получением твердого вещества желтого цвета (3,27 мг, 7,51 мкмоль, 36%). $R_t=1,57$ мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[M+H]^+$ вычислено для $C_9H_9BrNO^3$ 257,98, обнаружено 257,71. $R_t=0,93$ мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[M+H]^+$ вычислено для $C_{23}H_{22}N_3O_6$ 436,15, обнаружено 435,78.

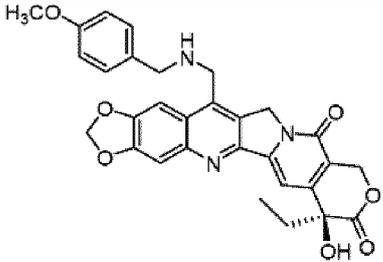
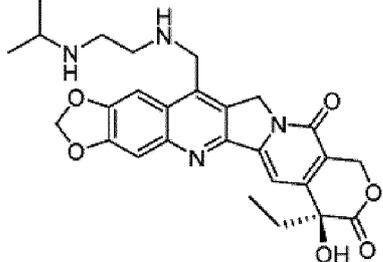
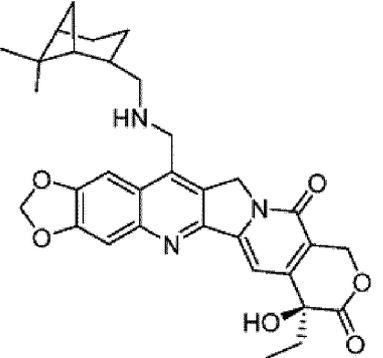
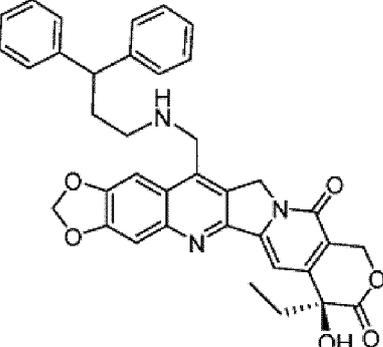
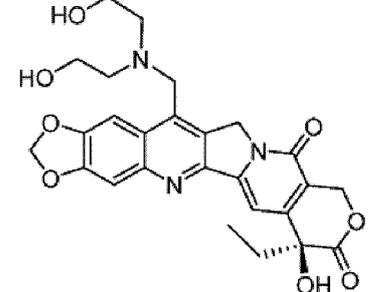
[0319] Соединения **примеров 5a - 5aa** получали в соответствии с общими процедурами, описанными для соединения **5**.

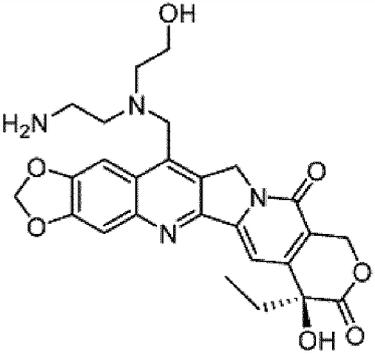
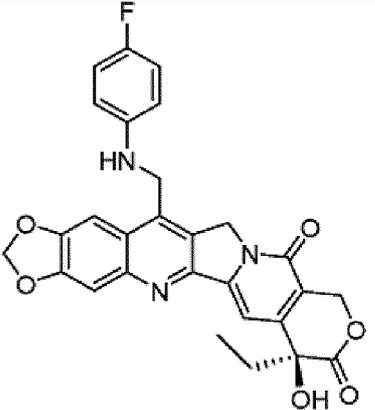
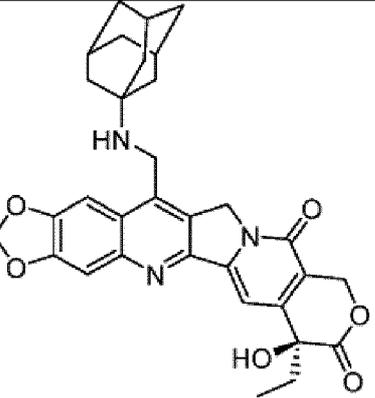
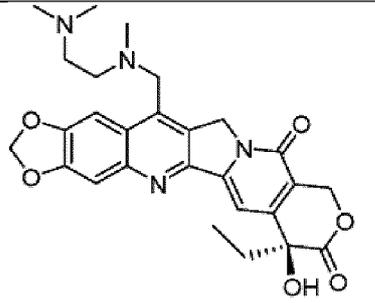
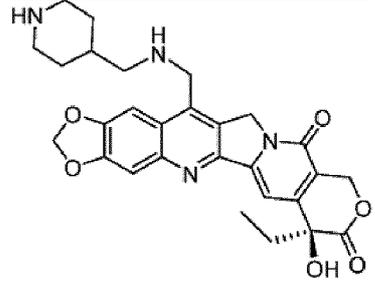
Таблица II

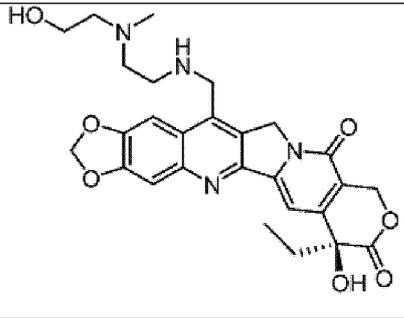
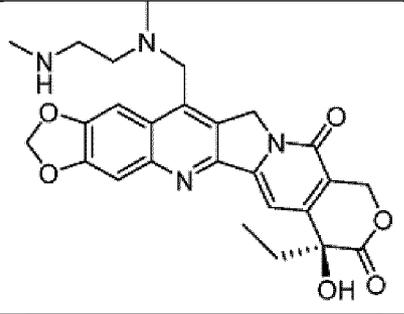
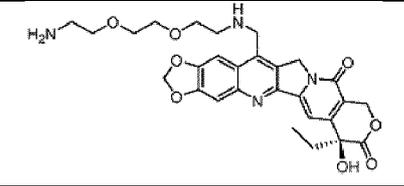
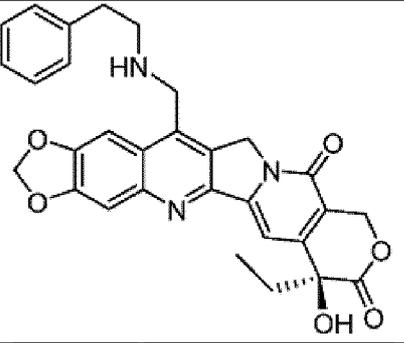
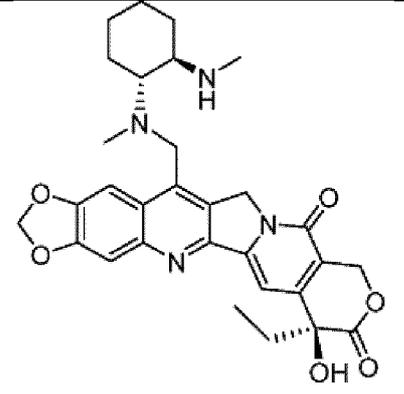
Соединение №	Структура	Исходная точная масса	Вычисленное значение MS (m/z) $[M+H]$	Замеренное значение MS(m/z)	RT

5a		449,15868 5	450,17	450,14	1,19
5b		497,15868 5	498,17	498,05	1,22
5c		463,17433 6	464,18	464,00	0,98
5d		503,20563 6	504,22	504,16	1,16
5e		526,18523 5	527,20	526,08	1,11

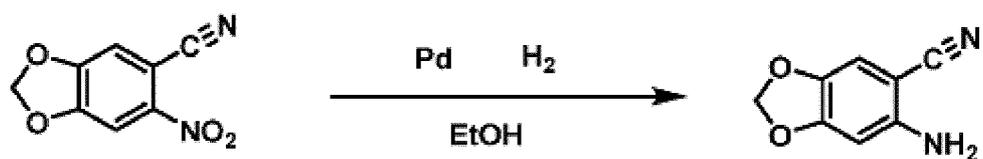
5f		493,1849	494,19	493,88	1,03
5g		491,16925	492,18	491,74	1,19
5h		504,20088 5	505,21	504,93	1,10
5i		477,18998 6	478,20	478,26	1,30
5j		511,17433 6	512,18	512,21	1,20
5k		477,18998 6	478,20	477,68	1,13

5l		541,1849	542,19	542,37	1,30
5m		506,21653 5	507,23	507,94	0,76
5n		557,25258 6	558,26	557,89	1,51
5o		615,23693 6	616,25	615,60	1,56
5p		509,17981 5	510,19	509,69	1,09

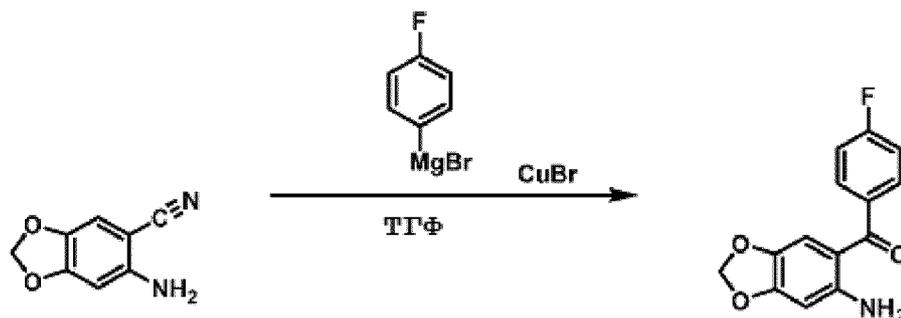
5q		508,19579 9	509,21	508,91	1,11
5r		515,14926 4	516,16	515,09	1,33
5s		555,23693 6	556,25	555,85	1,49
5t		506,21653 5	507,23	506,58	1,17
5u		518,21653 5	519,23	519,09	1,00

5w		522,21144 9	523,22	522,68	1,04
5x		492,20088 5	493,21	492,71	1,07
5y		552,22201 4	553,23	553,14	1,08
5z		525,18998 6	526,20	525,59	1,31
5aa		546,24783 5	547,26	546,64	1,26

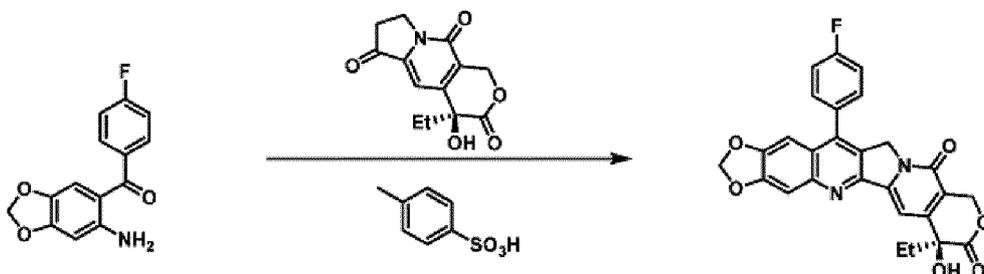
Пример 6



[0320] 6-Нитро-1,3-бензодиоксол-5-карбонитрил (2,00 г, 10,4 ммоль) растворяли в EtOH (50 мл). Реакционную смесь помещали в атмосферу азота. К реакционной смеси добавляли Pd/C (2,22 г, 10% мас., 2,08 ммоль). Реакционную смесь помещали в атмосферу водорода. Реакционную смесь перемешивали 2 часа. Реакционную смесь фильтровали через слой целита и промывали MeOH. Элюент концентрировали в вакууме и очищали флэш-хроматографией с 0-10% DCM в MeOH. Фракции, содержащие желаемый продукт, концентрировали с получением твердого вещества красного цвета (1,46 г, 9,00 ммоль, 87%). $R_t=1,14$ мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[M+H]^+$ вычислено для $C_8H_7N_2O_2$ 163,05, обнаружено 162,37.



[0321] 6-Амино-1,3-бензодиоксол-5-карбонитрил (50 мг, 0,31 ммоль) помещали в атмосферу азота и растворяли в безводном ТГФ (1 мл). Добавляли CuBr (1,5 мг, 0,010 ммоль), а затем 4-фторфенилбромид магния 1М в ТГФ (1,23 мл). Реакционную смесь нагревали до 60°C в течение 30 минут, потом охлаждали до комнатной температуры. К реакционной смеси медленно добавляли 15% раствор H_2SO_4 и перемешивали в течение 30 минут. Реакционную смесь выливали в насыщенный $NaHCO_3$ (50 мл) и экстрагировали EtOAc (3 × 50 мл). Органический слой сушили над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии 10G Biotage Ultra 0-10% EtOAc в Hex. Фракции, содержащие желаемый продукт, концентрировали в вакууме с получением твердого вещества красного цвета (46,2 мг, 0,178 ммоль, 58%). $R_t=1,81$ мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[M+H]^+$ вычислено для $C_{14}H_{11}FNO_3$ 260,07, обнаружено 259,46.



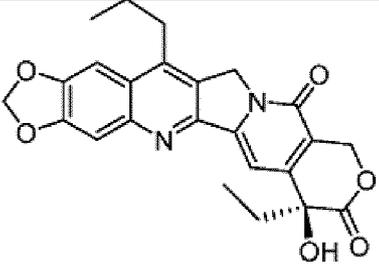
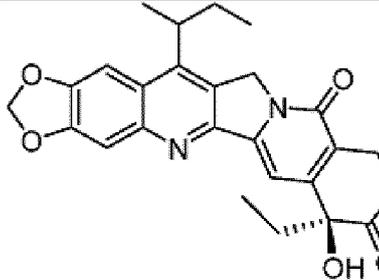
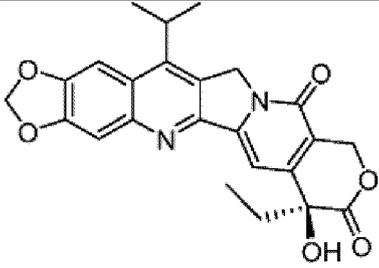
6

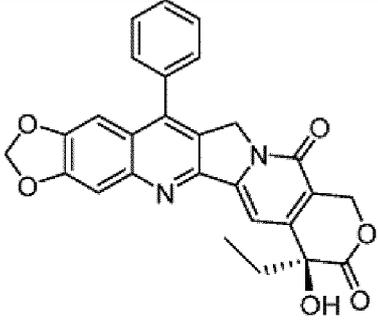
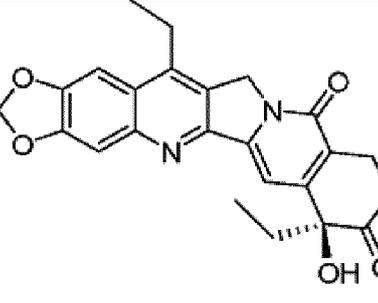
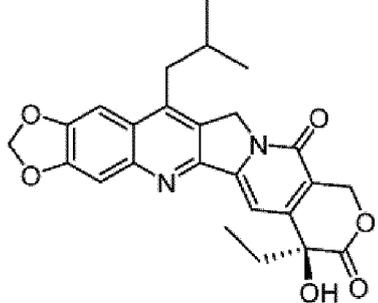
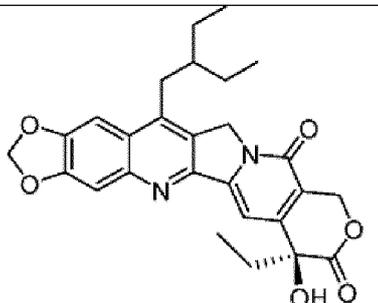
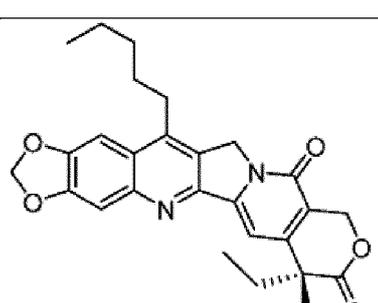
[0322] Субстрат (46,2 мг, 0,178 ммоль), p-TSA (30,7 мг, 0,178 ммоль) и 4-этил-4-гидрокси-7,8-дигидро-1H-пирано[3,4-г]индолизин-3,6,10(4H)-трион (46,9 мг, 0,178 ммоль) загружали в сцинтилляционный флакон. Для гомогенизации твердых веществ добавляли

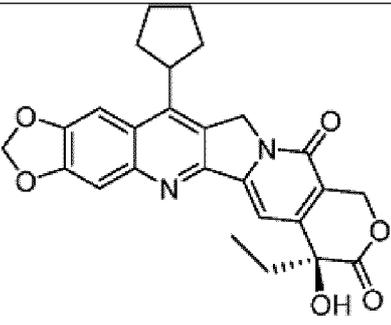
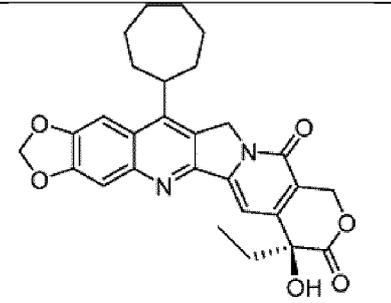
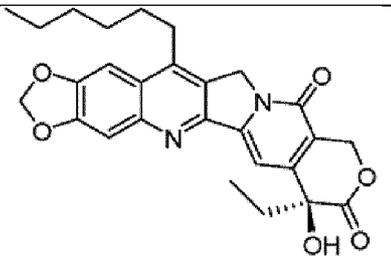
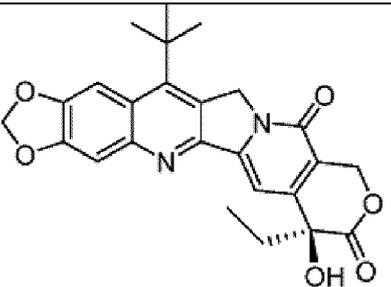
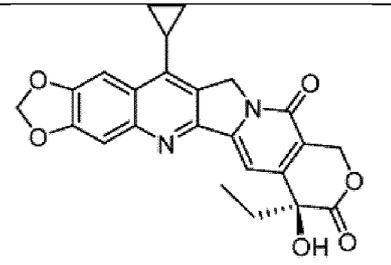
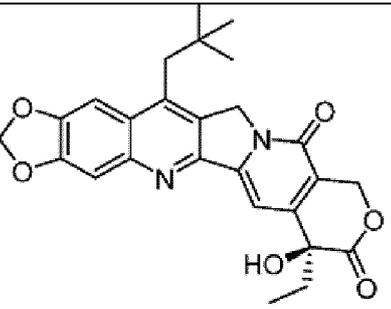
DCM (1 мл). Растворитель концентрировали в атмосфере азота. Чистые твердые частицы нагревали до 120°C в высоком вакууме (1 мбар) в течение 60 минут. Реакционную смесь повторно растворяли в DCM (50 мл), промывали H₂O, отмывку органической фазы сушили с помощью MgSO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии 10G Biotage Ultra 0-10% MeOH в DCM. Фракции, содержащие желаемый продукт (6), концентрировали в вакууме с получением твердого вещества красного цвета (32,9 мг, 0,0676 ммоль, 38%). Rt=1,81 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₂₇H₂₀FN₂O₆ 487,13, обнаружено 487,19.

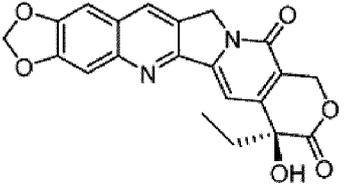
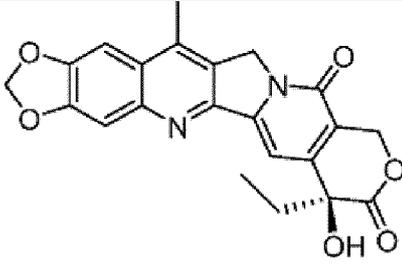
[0323] Соединения **примеров 6a-6c** синтезировали с использованием процедуры, аналогичной описанной выше для соединения **6**.

Таблица III

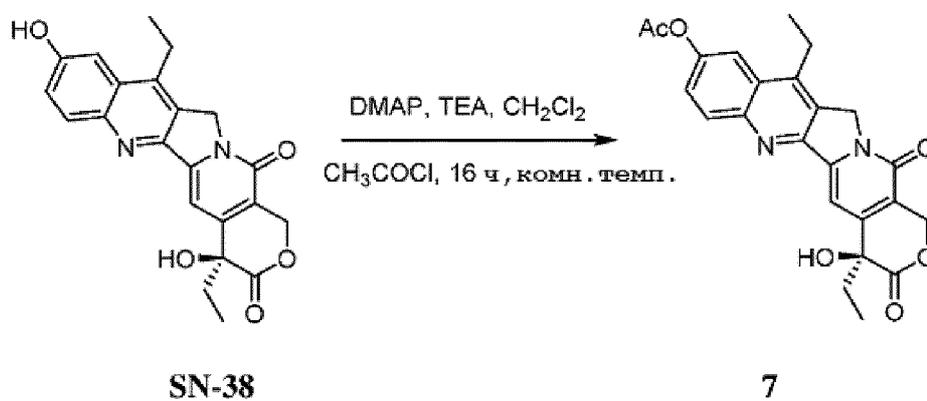
Соединение №	Структура	Исходная точная масса	Вычисленное значение MS (m/z) [M+H] ⁺	Обнаруженное значение MS (m/z)	RT
6a		434,14778 6	435,16	434,81	1,62
6b		448,16343 7	449,17	448,78	1,71
6c		434,14778 6	435,16	434,81	1,59

6d		468,13213 6	469,14	469,15	1,77
6e		420,13213 6	421,14	420,85	1,48
6f		448,16343 7	449,17	448,78	1,76
6g		476,19473 7	477,20	476,81	2,00
6h		462,17908 7	463,19	462,94	1,93

6i		460,16343 7	461,17	460,80	1,79
6j		488,19473 7	489,20	489,12	2,03
6k		476,19473 7	477,20	478,07	2,06
6l		448,16343 7	449,17	448,87	1,69
6m		432,13213 6	433,14	433,16	1,56
6n		462,17908 7	463,19	463,04	1,83

6o		392,10083 6	393,11	393,01	1,31
6p					

Пример 7



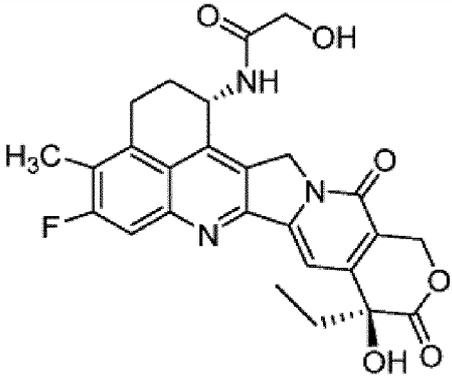
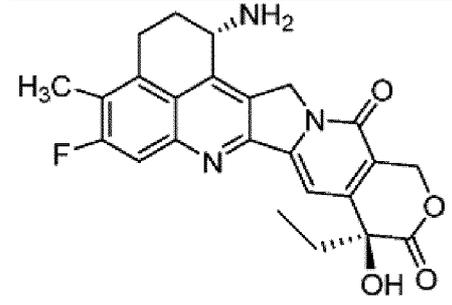
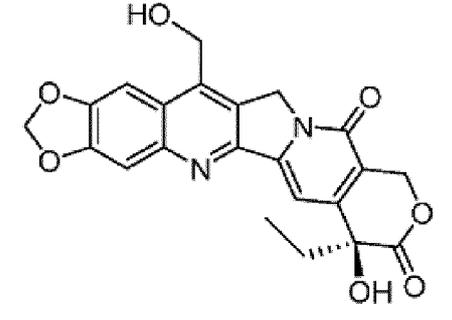
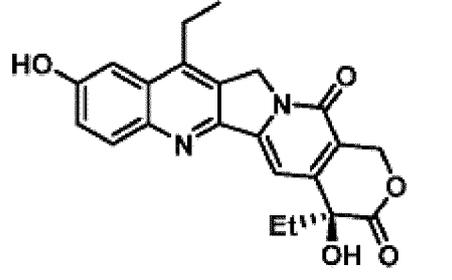
[0324] 7-Этил-10-гидрокси-камптотецин (SN-38) (76,0 мг, 0,19 ммоль) растворяли в дихлорметане с последующим добавлением триэтиламина (128 мкл, 0,92 ммоль) и DMAP (2,60 мг, 0,02 ммоль). Смесь охлаждали до 0°C на ледяной бане с последующим добавлением по каплям ацетилхлорида (15,9 мкл, 0,22 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном, промывали насыщенным NH_4Cl , водой и насыщенным соевым раствором. Затем органическую фазу сушили над MgSO_4 , фильтровали, концентрировали и очищали флэш-хроматографией на колонке с силикагелем Biotage ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 0-15%) с получением ацетилированного SN-38 (7). Вычисленное значение MS (m/z) 435,15 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, обнаружено 435,07.

Пример 8

[0328] Соединения в примере 8 получали в соответствии с известными опубликованными процедурами и общими методами.

Таблица IV

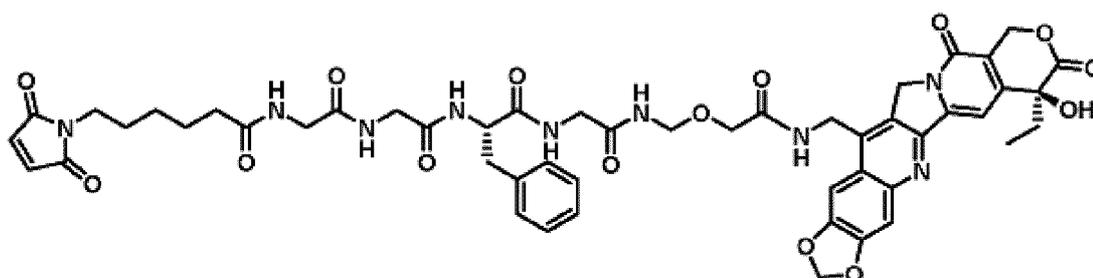
Соединение №	Структура	Вычисленное значение MS (m/z) [$\text{M}+\text{H}$] ⁺	Обнаруженное значение MS (m/z)	RT
--------------	-----------	--	------------------------------------	----

8a		494,17	494,05	1,23
8b				
8c		423,12	423,04	1,29
8d				

Получения соединения камптотецин-линкер

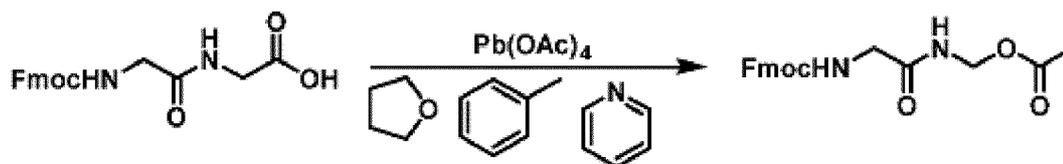
Пример 1-1

Получение MC-Gly-Gly-Phe-Gly-аминометоксиацетил-7-MAD-MDCPT



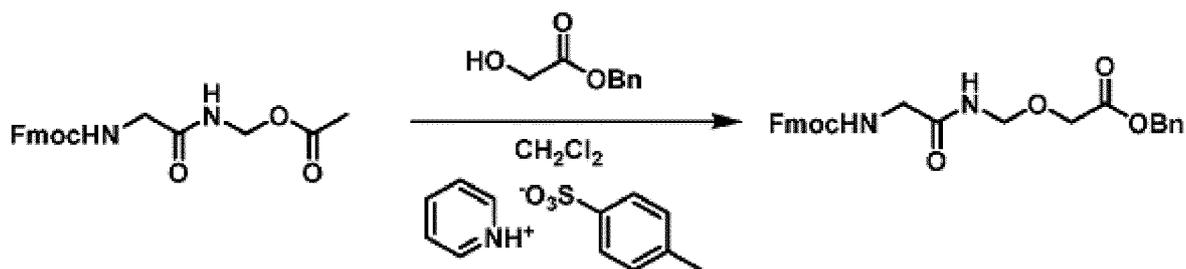
Пример 1-1

Синтез MC-GGFG-гемиамиаль-гликолевая кислота



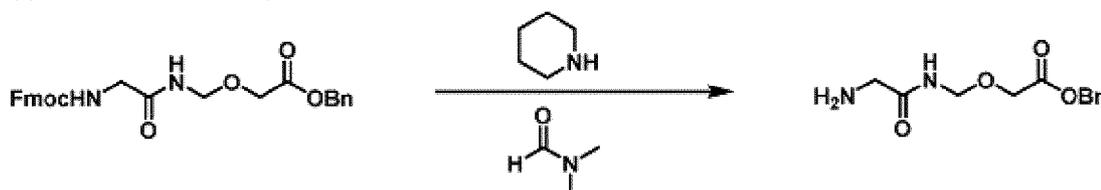
[0326] На основании опубликованной процедуры (WO 2015/155998 PCT/JP2015/002020), Fmoc-Gly-Gly-OH (4,70 г, 13,3 ммоль) частично растворяли в ТГФ (120 мл), толуоле (40 мл) и пиридине (2 мл). К раствору добавляли тетраацетат свинца (7,35 г, 16,6 ммоль). Раствор приобретал оранжевый цвет. Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником. Через 1 час раствор стал бесцветным, образовался белый осадок. Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов, затем фильтровали через слой целита, промывали EtOAc и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали с помощью колоночной хроматографии 100G KP-Sil 10-100% EtOAc в Hex. Фракции, содержащие желаемый продукт, концентрировали в вакууме с получением бесцветного твердого вещества (3,39 г, 9,19 ммоль, 69%). Rt=1,85 мин, общий метод UPLC. Наблюдается только иминий вследствие фрагментации гемиаминала в соответствии с MS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ вычислено для $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_3$ 309,12, обнаружено 309,13.

Замещение PPTS:



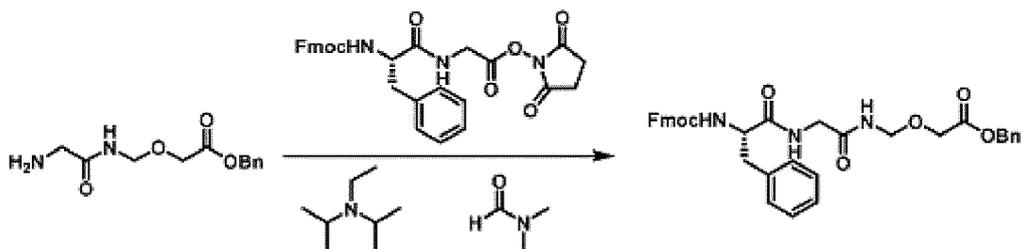
[0327] Субстрат (3,39 г, 9,19 ммоль) растворяли в безводном DCM (50 мл). Добавляли бензилгликоат (13,05 мл, 91,94 ммоль), затем PPTS (231 мг, 0,919 ммоль) и реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение ночи. Почти полное преобразование наблюдали посредством UPLC-MS. Реакционную смесь разбавляли EtOAc (200 мл), промывали водой (3×200 мл), сушили посредством MgSO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали колоночной хроматографией с 10-100% EtOAc в Hex. Фракцию, содержащую желаемый продукт, концентрировали с получением порошка белого цвета (4,30 г, 9,06 ммоль, 99%). Rt=2,18 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[\text{M}+\text{Na}]^+$ вычислено для $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{NaO}_6$ 497,17, обнаружено 497,06.

Удаление Fmoc-защиты:



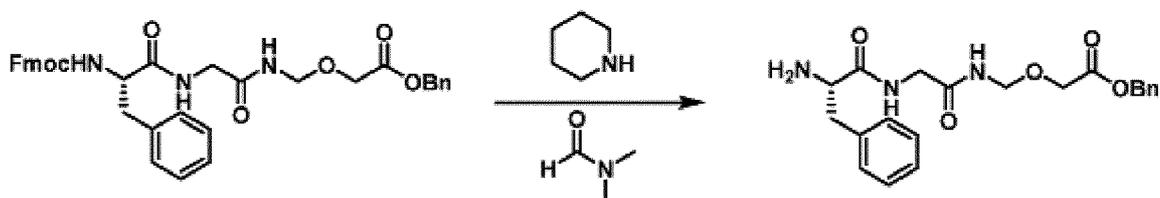
[0328] Субстрат (1,00 г, 2,11 ммоль) растворяли в 20% пиперидине в ДМФ и перемешивали в течение 20 минут. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

Fmoc-Phe-Osu конденсация:



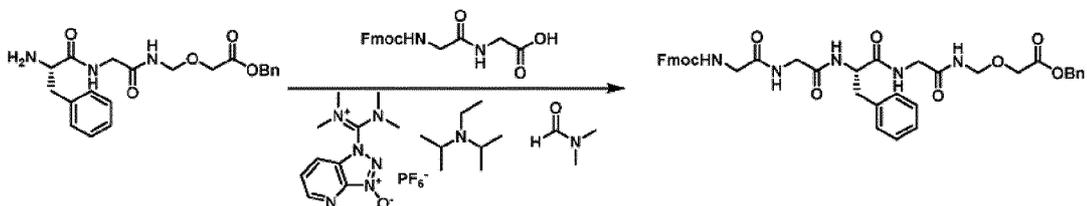
[0329] Неочищенный продукт (2,11 ммоль) из предыдущей стадии растворяли в ДМФ (2 мл). Добавляли DIPEA (0,73 мл, 4,2 ммоль), а затем Fmoc-Phe-OSu (1,71 г, 3,16 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при комнатной температуре, затем концентрировали в вакууме и очищали колоночной хроматографией 100G KP-Sil, с 10-100% EtOAc в Hex. Фракции, содержащие желаемый продукт, концентрировали с получением твердого вещества белого цвета (910 мг, 1,46 ммоль, 70%). Rt=2,28 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+Na]⁺ вычислено для C₃₆H₃₅N₃NaO₇ 644,24, обнаружено 644,04.

Удаление Fmoc-защиты:



[0330] Субстрат (910 мг, 1,46 ммоль) растворяли в 20% пиперидине в ДМФ и перемешивали в течение 20 минут. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

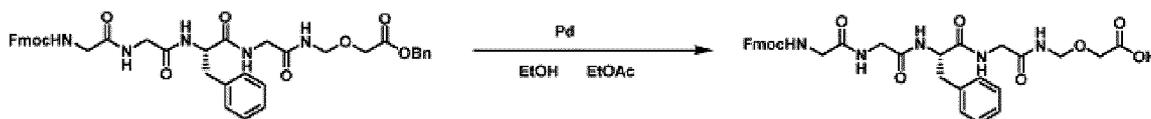
Fmoc дипептидная конденсация:



[0331] Неочищенный продукт (1,46 ммоль) из предыдущей стадии растворяли в безводном ДМФ (2 мл). В реакционную смесь добавляли DIPEA (1,00 мл, 5,76 ммоль) и Fmoc-Gly-Gly-OH (1,07 г, 3,02 ммоль), затем HATU (1,09 г, 2,88 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут. Реакцию гасили AcOH и очищали препаративной ВЭЖХ на колонке диаметром 50 мм, с 10-95% MeCN в H₂O с 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие желаемый продукт, концентрировали в вакууме, получая твердое

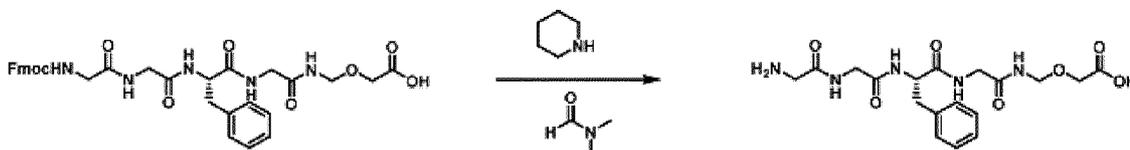
вещество белого цвета (650 мг, 0,88 ммоль, 61%). $R_t=2,13$ мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[M+Na]^+$ вычислено для $C_{40}H_{41}N_5NaO_9$ 758,28, обнаружено 758,13.

Pd-катализируемое снятие защитной группы бензилового эфира:



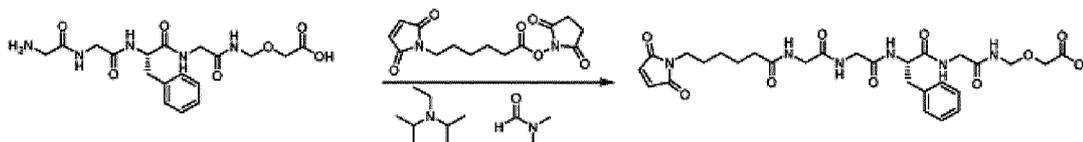
[0332] Субстрат (650 мг, 0,88 ммоль) суспендировали в смеси 2:1 EtOH:EtOAc (12 мл) и помещали в атмосферу азота. К раствору добавляли Pd/C (10% масс./масс., 132 мг, 0,124 ммоль). Через реакционную смесь барботировали водород (1 атм) в течение 1 часа. Реакционную смесь фильтровали через целит, промывали MeOH и концентрировали в вакууме. Продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

Удаление Fmoc-защиты:



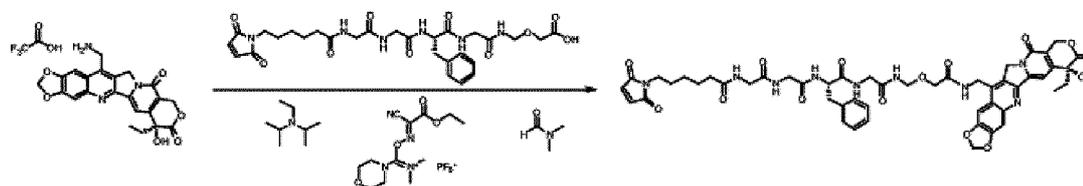
[0333] Неочищенное твердое вещество (0,88 ммоль) с предыдущей стадии растворяли в ДМФА (8 мл). Добавляли пиперидин (2 мл). Перемешивали в течение 10 минут. Реакционную смесь концентрировали в вакууме с получением твердого вещества белого цвета. Используется на следующем этапе без дополнительной очистки.

MC-OSu конденсация:



[0334] Неочищенный продукт (0,88 ммоль) из предыдущей стадии растворяли в ДМФ (10 мл). Добавляли DIPEA (1 мл), затем MC-OSu (407 мг, 1,32 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 10 минут. Полное превращение наблюдали посредством UPLC-MS. Добавляли AcOH (1 мл), чтобы погасить реакцию. Очищали препаративной ВЭЖХ на колонке с диаметром 50 мм с 10-95% MeCN в H_2O с 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением твердого вещества белого цвета (453 мг, 0,735 ммоль, 83%). $R_t=1,21$ мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[M+H]^+$ вычислено для $C_{28}H_{37}N_6O_{10}$ 617,26, обнаружено 617,07.

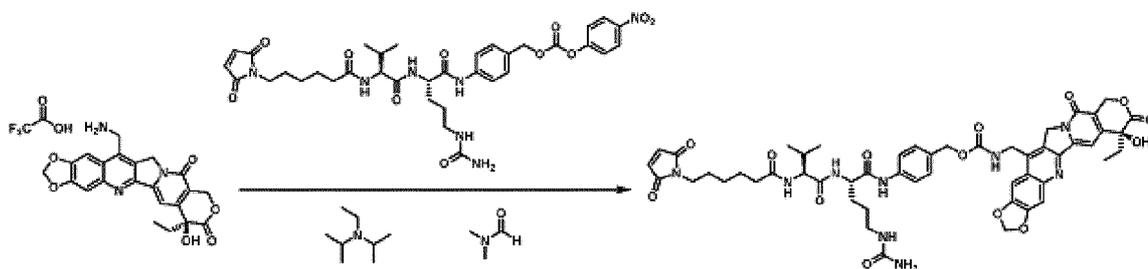
Конденсация MC-GGFG-Гликолевого линкера с 7-MAD-MDCPT:



[0335] MC-GGFG-Гликолевую кислоту (46 мг, 0,075 ммоль) растворяли в ДМФ (0,5 мл). Добавляли DIPEA (26 мкл, 0,149 ммоль), затем COMU (32 мг, 0,075 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при комнатной температуре. Раствор активированной кислоты добавляли непосредственно к твердому веществу 7-MAD-MDCPT (из примера 4). Полное превращение наблюдали посредством UPLC-MS через 5 минут. Реакцию гасили АсОН, продукт очищали препаративной ВЭЖХ с 10-95% MeCN в H₂O с 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением желаемого продукта в виде твердого вещества белого цвета (8,00 мг, 7,84 мкмоль, 21%). Rt=1,93 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₅₀H₅₄N₉O₁₅ 1020,37, обнаружено 1020,09.

Пример 2-1

Получение MC-Val-Cit-PABA-7-MAD-MDCPT

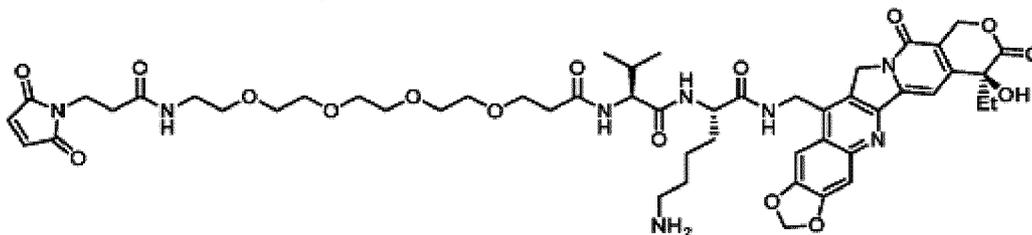


Пример 2-1

[0336] 7-MAD-MDCPT соль ТФУ (20,0 мг, 0,0374 ммоль) и MC-Val-Cit-PABA-PNP (82,7 мг, 0,112 ммоль) растворяли в безводном ДМФ (0,5 мл). Добавляли DIPEA (26 мкл, 0,149 ммоль). Через 10 минут наблюдали полное превращение посредством UPLC-MS. Реакцию гасили АсОН и очищали препаративной ВЭЖХ с диаметром колонки 21 мм 10-95% MeCN в H₂O с 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением порошка белого цвета (2,4 мг, 2,4 мкмоль, 6%). Rt=1,59 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₅₁H₅₈N₉O₁₄ 1020,41, обнаружено 1020,09.

Пример 3-1

Получение MP-PEG4-Val-Lys-7-MAD-MDCPT



Пример 3-1

Твердофазный пептидный синтез MP-PEG4-VK(Вос)-ОН

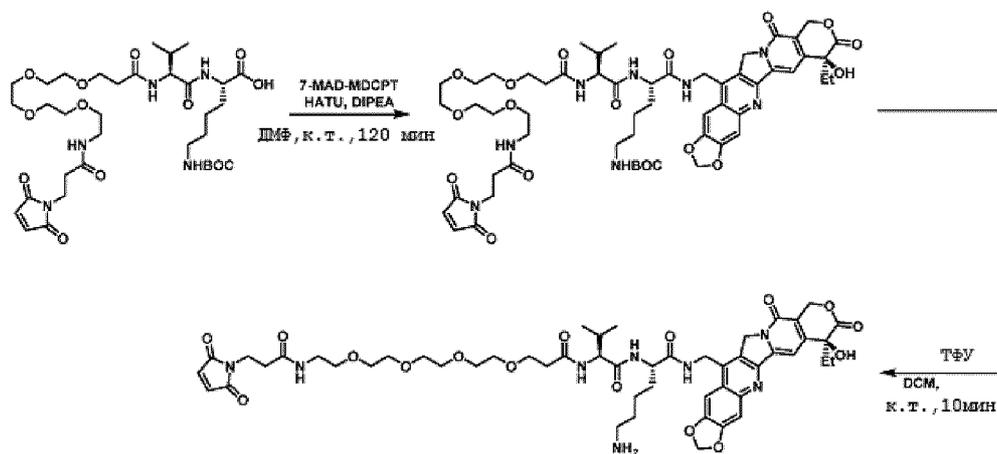
[0337] 2-Хлортритиловую смолу (1,6 ммоль/г, 2 грамма) добавляли в реакционный сосуд и промывали ДМФ 2 раза. Смолу насыщали в 20 мл ДМФ в течение 10 минут, а затем ее осушали. Fmoc-Lys(Вос)-ОН (937 мг, 2 ммоль) и DIPEA (0,7 мл, 4 ммоль),

растворенные в 10 мл ДМФ, добавляли к смоле и встряхивали в течение 30 минут при комнатной температуре. К смоле добавляли MeOH (5 мл) и встряхивали в течение 5 минут, затем осушали и промывали ДМФ 5 раз. Предполагалось, что замещение составляет 1 ммоль/г. Смолу промывали 3 раза DCM, промывали MeOH 3 раза, затем сушили в высоком вакууме в течение ночи. Приготовленную Fmoc-Lys(Вос)-2-хлортритиловую смолу (1 грамм) добавляли в реакционный сосуд. Смолу промывали ДМФ 3 раза и насыщали в 10 мл ДМФ в течение 10 минут, затем осушали. Удаляли Fmoc-защиту с использованием общей процедуры снятия защиты. При использовании общей процедуры, Fmoc-Val-OH конденсировали со смолой с последующей общей процедурой снятия защиты. MP-PEG4-OH связывали с использованием общей процедуры конденсации. Затем смолу промывали DCM 3 раза, затем MeOH 3 раза и помещали в высокий вакуум на ночь. Пептид отщепляли от смолы путем перемешивания смолы в растворе 1 мл уксусной кислоты, 2 мл гексафторизопропанола и 7 мл DCM в течение 1 часа. Затем смолу фильтровали и промывали DCM 3 раза, далее раствор концентрировали в вакууме. Белый порошок растворяли в смеси 2:1 DMA:H₂O (3 мл) и очищали препаративной ВЭЖХ с использованием колонки с обращенной фазой Phenomenex Max-RP 4 мкм Synergi 80Å размером 30 × 250 мм с использованием описанного ниже градиента элюирования 5-60-95% MeCN (0,05% ТФУ) в водном растворе 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением порошка белого цвета (343 мг, 0,461 ммоль, 46%). Rt=1,50 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₃₄H₅₇N₅O₁₃ 744,16, обнаружено 744,40.

Градиент элюирования 5-60-95%

Время (мин)	Поток (мл/мин)	% MeCN
Исходное	8	5
3	8	5
5	15	5
48	15	60
50	15	95
55	15	95
56	15	5
60	15	5

[0338] Конденсация MP-PEG4-VK(Вос)-OH с 7-MAD-MDCPT и Снятие Вос-защиты

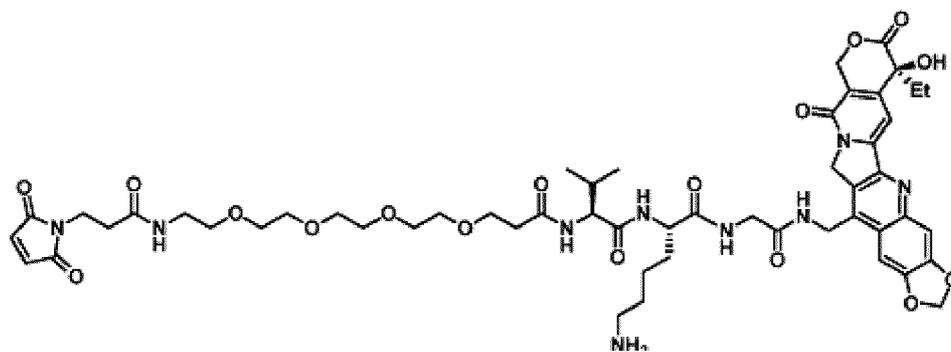


[0339] MP-PEG4-VK(Вос)-ОН (30 мг, 0,040 ммоль) растворяли в безводном ДМФ (0,5 мл) и DIPEA (50 мкл, 0,28 ммоль). К раствору добавляли HATU (15,3 мг, 0,0403 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут. Раствор активированной кислоты добавляли непосредственно к твердому 7-MAD-MDCPT (17 мг, 0,04 ммоль). Наблюдали завершение реакции посредством UPLC-MS. Полное преобразование наблюдали через 120 минут. Реакционную смесь подкисляли АсОН (50 мкл, 0,87 ммоль) и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с использованием обращенно-фазовой колонки Phenomenex Max-RP 4 мкм Synergi 80Å 21 × 250 мм, используя описанный ранее градиент элюирования 5-60-95% MeCN (0,05% ТФУ) в водном растворе 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением порошка желтого цвета (5 мг, 0,0044 ммоль, 11%). $R_t=1,70$ мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[M+H]^+$ вычислено для $C_{57}H_{75}N_7O_{18}$ 1146,52, обнаружено 1147,19.

[0340] MP-PEG4-VK(Вос)-7-MAD-MDCPT растворяли в 20% ТФУ в DCM. Завершение реакции контролировали с помощью UPLC-MS. Преобразование завершалось через 10 минут. Реакционную смесь концентрировали в вакууме, повторно растворяли в 10% АсОН в смеси 2:1 DMA:H₂O и очищали препаративной ВЭЖХ с использованием обращенно-фазовой колонки Phenomenex Max-RP 4 мкм Synergi 80Å 21 × 250 мм с описанным ранее градиентом элюирования 5-60-95% MeCN (0,05% ТФУ) в водном 0,05% ТФУ. Собирали фракции с поглощением при длине волны 385 нм. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением соединения **3-1** в виде порошка желтого цвета (2,5 мг, 0,0023 ммоль, 55%). $R_t=1,12$ мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[M+H]^+$ вычислено для $C_{52}H_{67}N_7O_{16}$ 1046,47, обнаружено 1047,26.

Пример 4-1

Получение MP-PEG4-Val-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT



Пример 4-1

Твердофазный пептидный синтез MP-PEG4-VK(Вос)G-ОН

[0341] Незащищенный глицин, предварительно включенный в 2-хлортритиловую смолу с концентрацией 1,1 ммоль/г, приобретали у компании VASChem. В реакционный сосуд добавляли смолу (1 грамм). Смолу промыли ДМФ 4 раза и полностью осушали. Смолу насыщали путем встряхивания в ДМФ в течение 30 минут и осушали. С использованием общей процедуры конденсации, Fmoc-Lys(Вос)-ОН присоединяли к смоле. Используя общую процедуру снятия защиты, осуществляли снятие Fmoc-защиты. Используя общую процедуру конденсации, Fmoc-Val-ОН присоединяли к смоле с последующей общей процедурой снятия защиты. MP-PEG4-ОН конденсировали с использованием общей процедуры конденсации. Затем смолу промывали DCM 3 раза, далее MeOH 3 раза и помещали в высокий вакуум на ночь. Пептид отщепляли от смолы путем перемешивания смолы в растворе 1 мл уксусной кислоты, 2 мл гексафторизопропанола и 7 мл DCM в течение 1 часа. Потом смолу фильтровали и промывали DCM 3 раза, затем раствор концентрировали в вакууме. Белый порошок растворяли в смеси 2:1 DMA:H₂O (3 мл) и очищали препаративной ВЭЖХ с использованием колонки с обращенной фазой Phenomenex Max-RP 4 мкм Synergi 80Å 30 × 250 мм с описанным ниже градиентом элюирования MeCN (0,05% ТФУ) 5-60-95% в водном растворе 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением порошка белого цвета (354 мг, 0,442 ммоль, 40%). Rt=1,39 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₃₆H₅₉N₆O₁₄ 801,42, обнаружено 801,02.

Градиент элюирования 5-60-95%

Время (мин)	Поток (мл/мин)	% MeCN
Начальное	8	5
3	8	5
5	15	5
48	15	60
50	15	95
55	15	95
56	15	5
60	15	5

Общая процедура удаления Fmoc-защиты

[0342] К смоле добавляли раствор 20% пиперидина в ДМФ (10 мл), встряхивали в течение 1 минуты и осушали. К смоле добавляли еще 10 мл 20% пиперидина в ДМФ, встряхивали в течение 30 минут и осушали. Смолу промывали ДМФ 4 раза и полностью осушали.

Общая процедура конденсации

[0343] Получали раствор Fmoc аминокислоты (3 ммоль), HATU (3 ммоль), DIPEA (6 ммоль) в ДМФА (10 мл). Раствор добавляли к смоле и встряхивали в течение 60 минут. Реакционный сосуд осушали и промывали ДМФ 4 раза.

Синтез MP-PEG4-VK(Boc)G-OSu

[0344] MP-PEG4-VKG-OH (90,0 мг, 0,112 ммоль) растворяли в безводном ДМФ (0,3 мл) и добавляли DIPEA (0,05 мл, 0,302 ммоль). В реакционный сосуд добавляли TSTU (67,6 мг, 0,224 ммоль) и контролировали превращение в активированный эфир N-гидроксисукцинимид (OSu) посредством UPLC-MS. Полное преобразование наблюдали через 5 минут. Реакционную смесь подкисляли AcOH (0,05 мл, 0,874 ммоль). Реакционную смесь очищали флэш-хроматографией Biotage с использованием колонки с силикагелем 10G Ultra с градиент элюирования 0-10% MeOH в DCM. Фракции, содержащие желаемый продукт, концентрировали в вакууме с получением твердого вещества белого цвета, которое представляло собой желаемый продукт MP-PEG4-VK(Boc)G-OSu (91,2 мг, 0,102 ммоль, 90%). Rt = 1,48 Общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₄₀H₆₂N₇O₁₆ 898,44, обнаружено 898,33.

Конденсация MP-PEG4-VK(Boc)G-OSu с 7-MAD-MDCPT

[0345] Раствор 7-MAD-MDCPT (24 мг, 0,057 ммоль), растворенный в безводном ДМФ (0,48 мл), добавляли непосредственно в реакционный сосуд с MP-PEG4-VK(Boc)G-OSu (50 мг, 0,056 ммоль). В реакционный сосуд добавляли DIPEA (0,05 мл, 303 ммоль). Прозрачный желтый раствор становился непрозрачным при добавлении основания. Завершение реакции контролировали с помощью UPLC-MS. Полное превращение в желаемый конденсированный продукт наблюдали через 5 минут. Реакционную смесь подкисляли AcOH (0,05 мл, 0,87 ммоль) и очищали фильтрованием через колонку с силикагелем с градиентом элюирования 0-10% MeOH в DCM. Элюент концентрировали в вакууме с получением твердого вещества желтого цвета, которое представляло собой желаемый продукт MP-PEG4-VKG-7-MAD-MDCPT (32 мг, 0,027 ммоль, 48%). Rt=1,59 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₅₈H₇₇N₉O₁₉ 1204,54, обнаружено 1204,25.

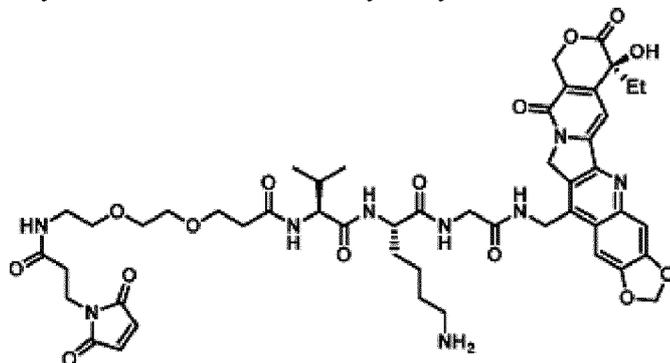
Снятие Boc-защиты с MP-PEG4-VK(Boc)G-7-MAD-MDCPT

[0346] MP-PEG4-VK(Boc)-G-7-MAD-MDCPT растворяли в 20% ТФУ в DCM. Завершение реакции контролировали с помощью UPLC-MS. Полное преобразование наблюдали через 10 минут. Реакционную смесь концентрировали в вакууме, повторно растворяли в 10% AcOH в смеси 2:1 DMA:H₂O и очищали препаративной ВЭЖХ с использованием колонки с обращенной фазой Phenomenex Max-RP 4 мкм Synergi 80Å 21 ×

250 мм с описанным ранее градиентом элюирования 5-60-95%MeCN (0,05% ТФУ) в водном 0,05% ТФУ. Собирали фракции с поглощением при длине волны 385 нм. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением соединения примера 4-1 в виде порошка желтого цвета (33 мг, 030 ммоль, 80%). Rt=1,12 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₅₃H₆₉N₉O₁₇ 1104,49, обнаружено 1104,70.

Пример 4-2

Получение MP-PEG2-Val-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT

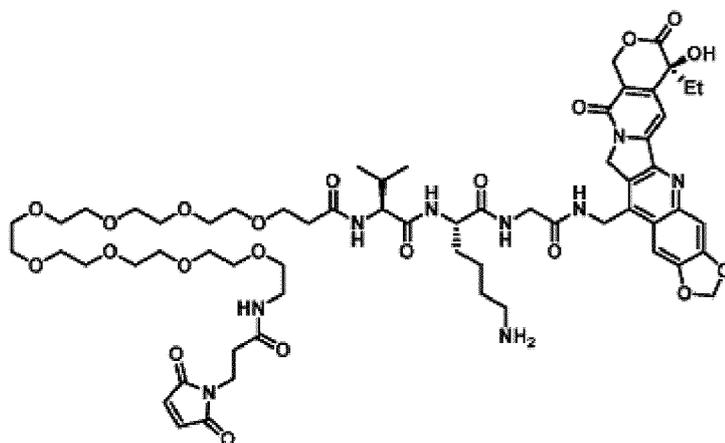


Пример 4-2

[0347] Соединение примера 4-2 синтезировали с использованием общей процедуры, описанной в **примере 4-1**, путем замены PEG4 на PEG2.[0001]

Пример 4-3

Получение MP-PEG8-Val-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT

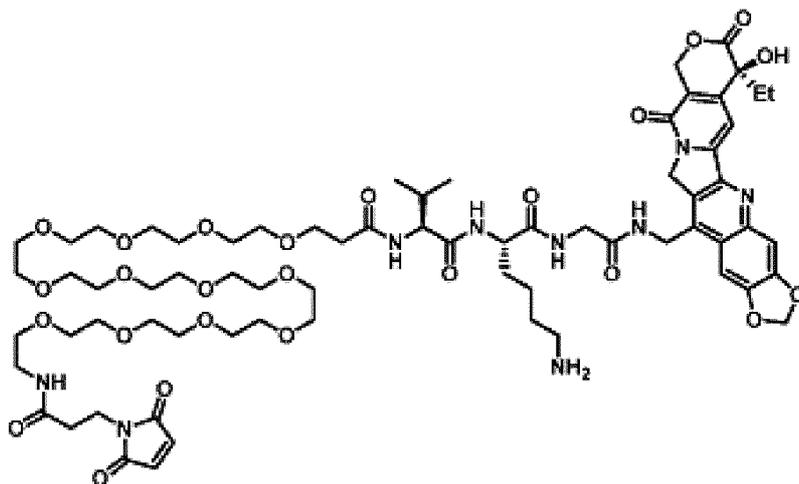


Пример 4-3

[0348] Соединение примера 4-3 синтезировали с использованием общей процедуры, описанной в **примере 4-1**, путем замены PEG4 на PEG8.

Пример 4-4

Получение MP-PEG12-Val-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT



Пример 4-4

[0349] Соединение примера 4-4 синтезировали с использованием общей процедуры, описанной в **примере 4-1**, заменой PEG4 на PEG12.

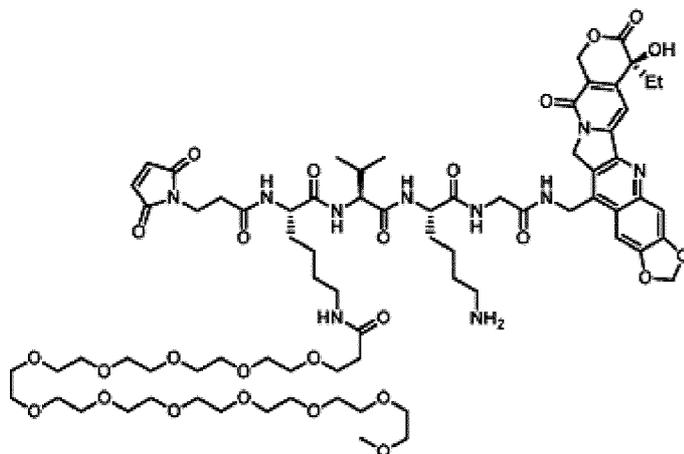
[0350] В следующей таблице приведены характеристики для соединений примера 4-2, примера 4-3 и примера 4-4.

Таблица V

Соединение №	Исходная точная масса	Вычисленное значение MS (m/z) [M+H] ⁺	Обнаруженное значение MS (m/z)	RT
Пример 4-2	1015,428712	1016,44	1016,29	1,14
Пример 4-3	1279,586001	1280,60	1280,54	1,20
Пример 4-4	1455,69086	1456,70	1456,71	1,24

Пример 4-5

Получение MP-Lys[(C(O)(CH₂CH₂O)₁₂-CH₃]-Val-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT



Пример 4-5

Твердофазный пептидный синтез MP-Lys[(C(O)(CH₂CH₂O)₁₂-CH₃]-Val-Lys(Boc)-Gly-OH:

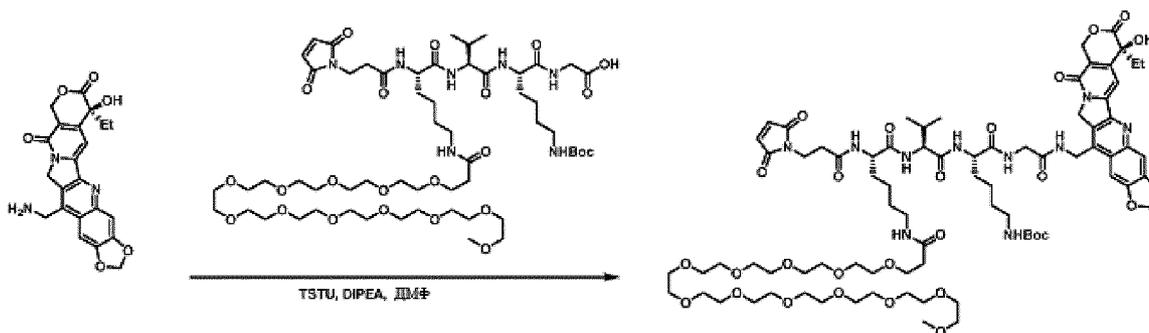
[0351] Незащищенный глицин, предварительно включенный в 2-хлортритиловую смолу с концентрацией 0,87 ммоль/г, приобретали у компании Iris Biotech. В реакционный сосуд добавляли смолу (0,287 грамма, 0,25 ммоль). Смолу промывали ДМФ 3 раза и полностью осушали. Смолу насыщали встряхиванием в ДМФ в течение 30 минут и осушали. Fmoc-Lys(Вос)-ОН конденсировали со смолой с использованием общей процедуры конденсации. Удаляли Fmoc-защиту с использованием общей процедуры снятия защиты. При использовании общей процедуры конденсации, Fmoc-Val-ОН конденсировали со смолой с последующей общей процедурой снятия защиты. Fmoc-Lys(PEG12)-OSu (WO 2015057699) конденсировали с использованием общей процедуры конденсации без добавления НАТУ. Удалили Fmoc-защиту с использованием общей процедуры снятия защиты. Эфир N-гидроксисукцинимид 3-(малеимидо)пропионовой кислоты конденсировали с использованием общей процедуры конденсации без добавления НАТУ. Затем смолу промывали DCM 3 раза, потом Et₂O 3 раза и помещали в высокий вакуум на ночь. Пептид отщепляли от смолы путем перемешивания смолы в растворе 1 мл уксусной кислоты, 2 мл трифторэтанола и 7 мл DCM в течение 1 часа. Затем смолу фильтровали и промывали DCM 3 раза, потом раствор концентрировали в вакууме. Неочищенное вещество растворяли в ДМСО (2 мл) и очищали препаративной ВЭЖХ с использованием обращенно-фазовой колонки Phenomenex Max-RP 4 мкм Synergi 80Å 21 × 250 мм с градиентом элюирования 5-60-95% MeCN (0,1% муравьиная кислота) в 0,1% водном растворе муравьиной кислоты. Фракции, содержащие желаемый продукт, концентрировали, чтобы получить вязкое масло. Масло растворяли в MeCN (2 мл) и осаждали Et₂O. Продукт собирали фильтрованием с получением бесцветного твердого аморфного вещества (170,7 мг, 0,136 ммоль, 55%). Rt=1,32 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₅₇H₁₀₂N₇O₂₃ 1252,70, обнаружено 1252,79.

Общая процедура удаления Fmoc-защиты

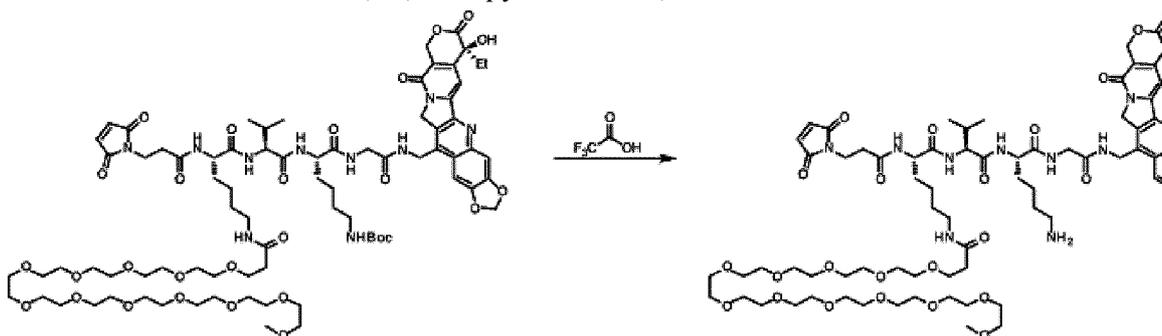
[0352] К смоле добавляли раствор 20% пиперидина в ДМФ (5 мл), встряхивали в течение 1 минуты и осушали. К смоле добавляли дополнительно 5 мл 20% пиперидина в ДМФ, встряхивали в течение 30 минут и осушали. Смолу промывали ДМФА 4 раза и полностью осушали.

Общая процедура конденсации

Готовили раствор в ДМФ (5 мл) Fmoc аминокислоты (0,75 ммоль), НАТУ (0,75 ммоль), DIPEA (1,5 ммоль). Раствор добавляли к смоле и встряхивали в течение 60 минут. Реакционный сосуд осушали и промывали ДМФ 4 раза.



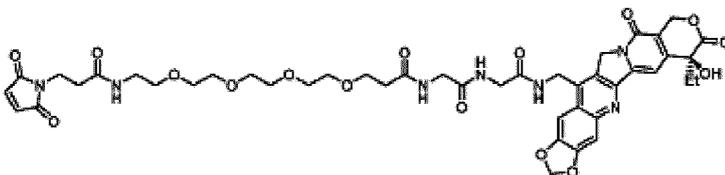
[0354] MP-Lys[(C(O)(CH₂CH₂O)₁₂-CH₃]-Val-Lys(Boc)-Gly-OH (59,4 мг, 0,0475 ммоль) растворяли в безводном ДМФ (0,1 мл). Добавляли DIPEA (12,4 мкл, 0,0712 ммоль), затем TSTU (14,3 мг, 0,0475 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 10 минут для полной активации кислоты до NHS сложного эфира. В реакционную смесь добавляли 7-MAD-MDCPT (10,0 мг, 0,02373 ммоль, 100 мг/мл в ДМФ). Полное преобразование наблюдали через 5 минут. Реакцию гасили AcOH (25 мкл) и очищали препаративной ВЭЖХ 5-60-95% MeCN в H₂O 0,1% ТФУ. Фракции, содержащие желаемый продукт, концентрировали в вакууме с получением твердого вещества желтого цвета (12,3 мг, 0,00740 ммоль, 31%). Rt=1,56 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₇₉H₁₁₈N₁₀O₂₈ 1655,82, обнаружено 1655,89.



[0355] Соединение растворяли в 20% ТФУ в DCM. Завершение реакции контролировали с помощью UPLC-MS. Полное преобразование наблюдали через 10 минут. Реакционную смесь концентрировали в вакууме, повторно растворяли в 40% MeCN в H₂O 0,05% TFA и лиофилизировали с получением соединения **примера 4-5** в виде порошка желтого цвета, предположительно являющегося солью ТФУ (12,99 мг, 0,00778 ммоль, 105,16%). Rt=1,27 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₇₄H₁₁₁N₁₀O₂₆ 1555,77, обнаружено 1555,86.

Пример 5-1

Получение MP-PEG4-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT



Пример 5-1

[0356] Пептид MP-PEG4-Gly-Gly-ОН синтезировали твердофазным пептидным синтезом с использованием следующей общей процедуры.

Общая процедура насыщения:

[0357] Смолу с незащищенной аминокислотой (200 мг), предварительно включенную в концентрации 1,1 ммоль/г в 2-хлортритиловую смолу приобретали у компании VASChem. Смолу добавляли в реакционный сосуд. Смолу промывали ДМФ (4 × 2 мл) и полностью осушали. Смолу насыщали встряхиванием в ДМФ (2 мл) в течение 30 минут и осушали.

Общая процедура удаления Fmoc-защиты:

[0358] К смоле добавляли раствор 20% пиперидина в ДМФ (2 мл), встряхивали в течение 1 минуты и осушали. Дополнительно 2 мл 20% пиперидина в ДМФ добавляли к смоле, встряхивали в течение 30 минут и осушали. Смолу промывали ДМФ (4 × 2 мл) и полностью осушали.

Общая процедура конденсации:

[0359] Получали раствор в ДМФА (2 мл) Fmoc аминокислоты (0,6 ммоль), HATU (0,6 ммоль), DIPEA (0,6 ммоль). Раствор добавляли к смоле и встряхивали в течение 60 минут. Реакционный сосуд осушали и промывали ДМФ (4 × 2 мл) и полностью осушали.

Общая процедура отщепления:

[0360] Пептид отщепляли от смолы путем перемешивания смолы в растворе 1:2:7 AcOH:гексафторизопропанол:DCM (5 мл) в течение 1 часа. Затем смолу фильтровали и промывали DCM (3 × 10 мл), далее раствор концентрировали в вакууме и очищали препаративной ВЭЖХ на обращенно-фазовой колонке Phenomenex Max-RP 4 мкм Synergi 80Å 21 × 250 мм с использованием градиента элюирования 5-60-95% MeCN (0,05% ТФУ) в водном растворе 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением порошка белого цвета.

[0361] Используя общую процедуру твердофазного синтеза пептидов, синтезировали пептид MP-PEG4-Gly-Gly-ОН с получением порошка белого цвета (45 мг, 0,085 ммоль, 42%). Rt=0,83 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₂₂H₃₅N₄O₁₁ 531,23, обнаружено 530,82.

Процедура конденсации TSTU:

[0362] Пептид (45 мг, 0,085 ммоль) растворяли в 0,2 мл ДМФ. Добавляли TSTU (28 мг, 0,093 ммоль, 1,1 экв.). Добавляли DIPEA (1,2 экв.) и реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут. Реакцию гасили AcOH. Очищали посредством FCC 0-10% MeOH в DCM. Фракции, содержащие желаемый продукт, концентрировали в вакууме с получением белого порошка (10 мг, 0,016 ммоль, 19%). Rt=0,96 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₂₆H₃₈N₅O₁₃ 628,25, обнаружено 627,94.

[0363] 7-MAD-MDCPT (1,1 экв.) 20 мг/мл в ДМФ добавляли непосредственно к пептиду сложного эфира NHS. Добавляли DIPEA (18 мкл, 0,10 ммоль, 1,2 экв.) и перемешивали в течение 30 минут. Реакцию гасили AcOH и очищали препаративной ВЭЖХ. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением

порошка белого цвета. Rt=1,25 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₄₄H₅₂N₇O₁₆ 934,35, обнаружено 934,52.

Общая процедура снятия защиты:

[0364] Соединения лекарственное средство-линкер на основе пептидов с кислото-неустойчивыми защитными группами растворяли в 20% ТФУ в DCM (2 мл) и перемешивали в течение 30 минут. Реакционную смесь концентрировали в вакууме.

[0365] Соединения 5-1a - 5-1s синтезировали с использованием общей процедуры, описанной для примера 5-1. В каждом примере лекарственный фрагмент, имеющий формулу CPT5, связан через N-связь на аминотетил азоте, как показано для примера 5-1.

Таблица VI

Соединение №	Z'-A	S* или L ^P (S*)	RL	Y	Камптотецин (N связь)
Пример 5-1a	Mal- CH ₂ CH ₂ C(O)-	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₄ - CH ₂ CH ₂ C(O)-	Gly-Gly- Gly	-	7-MAD- MDCPT
Пример 5-1b	Mal- CH ₂ CH ₂ C(O)-	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₄ - CH ₂ CH ₂ C(O)-	Val-Gly- Gly	-	7-MAD- MDCPT
Пример 5-1c	Mal- CH ₂ CH ₂ C(O)-	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₄ - CH ₂ CH ₂ C(O)-	Val-Glu- Gly	-	7-MAD- MDCPT
Пример 5-1d	Mal- CH ₂ CH ₂ C(O)-	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₄ - CH ₂ CH ₂ C(O)-	Val-Gln- Gly	-	7-MAD- MDCPT
Пример 5-1e	Mal- CH ₂ CH ₂ C(O)-	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₄ - CH ₂ CH ₂ C(O)-	Leu-Lys- Gly	-	7-MAD- MDCPT
Пример 5-1f	Mal- CH ₂ CH ₂ C(O)-	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₄ - CH ₂ CH ₂ C(O)-	Gly-Val- Lys-Gly	-	7-MAD- MDCPT
Пример 5-1g	Mal- CH ₂ CH ₂ C(O)-	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₄ - CH ₂ CH ₂ C(O)-	Val-Lys- Gly-Gly	-	7-MAD- MDCPT
Пример 5-1h	Mal- CH ₂ CH ₂ C(O)-	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₄ - CH ₂ CH ₂ C(O)-	Phe-Lys- Gly	-	7-MAD- MDCPT
Пример 5-1i	Mal-(CH ₂) ₅ C(O)-	-	Val-Lys- Gly	-	7-MAD- MDCPT
Пример 5-1j	Mal- CH ₂ CH ₂ C(O)-	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₄ - CH ₂ CH ₂ C(O)-	Leu-Leu- Gly	-	7-MAD- MDCPT
Пример 5-1k	Mal-(CH ₂) ₅ C(O)-	-	Gly-Gly- Phe-Gly	-	7-MAD- MDCPT
Пример 5-1l	Mal-(CH ₂) ₅ C(O)-	-	Gly-Gly- Phe-Gly-	-	7-MAD- MDCPT

			Gly		
Пример 5-1m	Mal- CH ₂ CH ₂ C(O)-	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₄ - CH ₂ CH ₂ C(O)-	Val-Lys- Ala	-	7-MAD- MDCPT
Пример 5-1n	Mal- CH ₂ CH ₂ C(O)-	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₄ - CH ₂ CH ₂ C(O)-	(Gly) ₄	-	7-MAD- MDCPT
Пример 5-1o	Mal- CH ₂ CH ₂ C(O)-	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₄ - CH ₂ CH ₂ C(O)-	Val-Cit- Gly	-	7-MAD- MDCPT
Пример 5-1p	Mal- CH ₂ CH ₂ C(O)-	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₄ - CH ₂ CH ₂ C(O)-	Val-Gly	-	7-MAD- MDCPT
Пример 5-1q	Mal- CH ₂ CH ₂ C(O)-	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₄ - CH ₂ CH ₂ C(O)-	Val-Lys-β- Ala	-	7-MAD- MDCPT
Пример 5-1r	Mal- CH ₂ CH ₂ C(O)-	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₄ - CH ₂ CH ₂ C(O)-	Val-Lys- Glu	-	7-MAD- MDCPT
Пример 5-1s	Mal- CH ₂ CH ₂ C(O)-	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₄ - CH ₂ CH ₂ C(O)-	Val-Glu- Glu	-	7-MAD- MDCPT

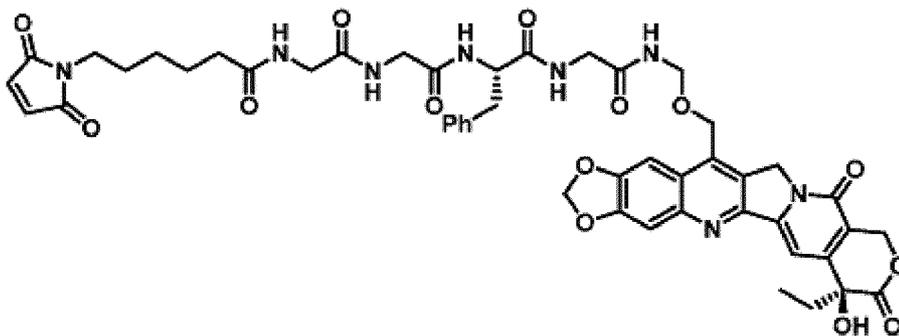
Характеристики:

Соединение №	Исходная точная масса	Вычисленное значение MS (m/z) [M+H]⁺	Обнаруженное значение MS (m/z)	RT
Пример 5-1a	990,360692	991,37	991,55	1,23
Пример 5-1b	1032,407643	1033,42	1033,55	1,33
Пример 5-1c	1104,428772	1105,44	1105,53	1,34
Пример 5-1d	1103,444756	1104,45	1104,66	1,31
Пример 5-1e	1117,496792	1118,51	1118,63	1,21
Пример 5-1f	1160,502606	1161,51	1161,31	1,13
Пример 5-1g	1160,502606	1161,51	1161,70	1,11
Пример 5-1h	1151,481142	1152,49	1152,68	1,22
Пример 5-1i	898,386119	899,40	899,31	1,23
Пример 5-1j	1102,485893	1103,50	1103,40	1,60
Пример 5-1k	932,334084	933,34	933,16	1,51
Пример 5-1l	989,355547	990,37	990,58	1,46
Пример 5-1m	1117,496792	1118,51	1118,63	1,18
Пример 5-1n	1047,382156	1048,39	1048,49	1,23

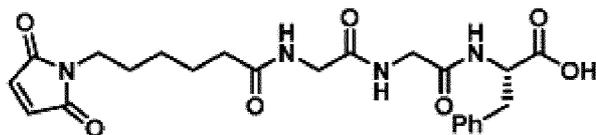
Пример 5-1o	1132,471305	1133,48	1133,57	1,30
Пример 5-1p	975,386179	976,40	976,61	1,37
Пример 5-1q	1117,496792	1118,51	1118,63	0,99
Пример 5-1r	1175,502271	1176,51	1176,41	1,11
Пример 5-1s	1176,449901	1177,46	1177,03	1,24

Пример 6-1

Получение MC-Gly-Gly-Phe-Gly-7-NHCH₂OCH₂-MDCPT

**Пример 6-1**

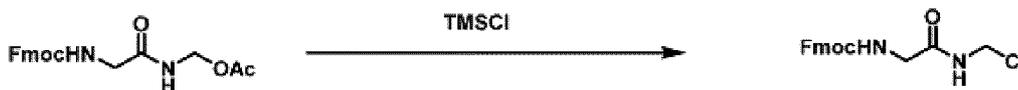
Твердофазный пептидный синтез MC-Gly-Gly-Phe-OH



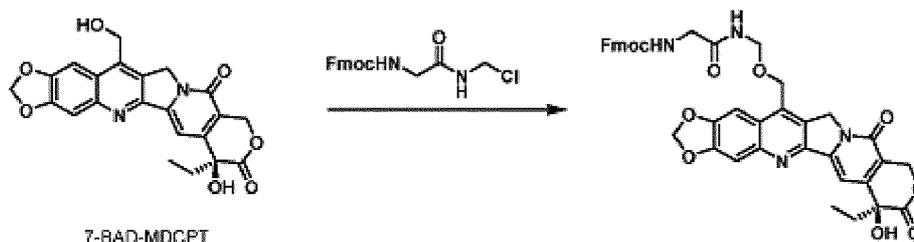
[0366] Незащищенный фенилаланин в концентрации 1,1 ммоль/г, предварительно включенный в 2-хлортритиловую смолу, приобретали у компании VACHEM. В реакционный сосуд добавляли смолу (1 грамм). Смолу промыли ДМФ 4 раза и полностью осушали. Смолу насыщали встряхиванием в ДМФ в течение 30 минут и осушали. С использованием общей процедуры конденсации, Fmoc-Gly-OH конденсировали со смолой. Удалили Fmoc-защиту с использованием общей процедуры снятия защиты. С использованием общей процедуры конденсации, Fmoc-Gly-OH конденсировали со смолой с последующей общей процедурой снятия защиты. Конденсировали MC-OH с использованием общей процедуры конденсации. Затем смолу промывали DCM 3 раза, далее MeOH 3 раза и помещали в высокий вакуум на ночь. Пептид отщепляли от смолы путем перемешивания смолы в растворе 1 мл уксусной кислоты, 2 мл гексафторизопропанола и 7 мл DCM в течение 1 часа. Потом смолу фильтровали и промывали DCM 3 раза, и раствор концентрировали в вакууме. Твердое вещество белого цвета очищали препаративной ВЭЖХ с использованием обращенно-фазовой колонки Phenomenex Max-RP 4 мкм Synergi 80Å 30 × 250 мм, используя градиент элюирования 5-60-95% MeCN (0,05% ТФУ) в 0,05% водном растворе ТФУ. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением порошка белого цвета (207 мг, 0,438

ммоль, 44%). $R_t=1,28$ мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[M+H]^+$ вычислено для $C_{23}H_{29}N_4O_7$ 473,20, обнаружено 473,00.

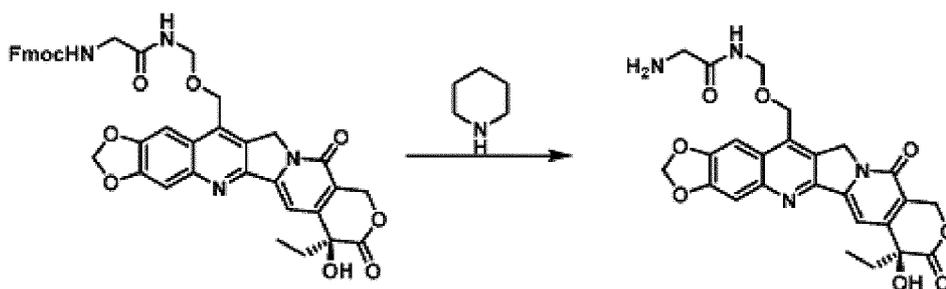
Получение FmocGly-7-NHCH₂OCH₂-MDCPT



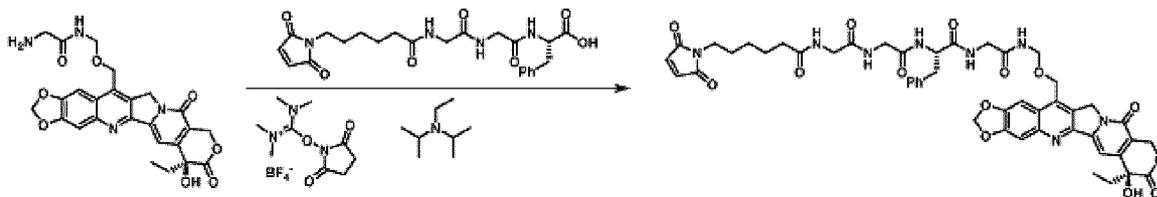
[0367] Субстрат (52 мг, 0,014 ммоль) растворяли в DCM (1 мл). Добавляли TMSCl (0,25 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 20 минут, затем концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт использовали непосредственно на следующей стадии.



[0368] Активированный линкер с предыдущей стадии растворяли в безводном DCM (1 мл) и добавляли непосредственно к твердому веществу 7-BAD-MDCPT (20,0 мг, 0,0474 ммоль). Реакционный сосуд герметично закрывали при перемешивании при 60°C в течение 24 часов. Реакцию гасят MeOH и концентрируют в вакууме. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии 10G Biotage Ultra 0-10% MeOH в DCM. Фракции, содержащие желаемый продукт и примеси свободного лекарственного средства, концентрировали в вакууме с получением твердого вещества желтого цвета (25 мг, чистота 50% 0,017 ммоль, 36%). $R_t=1,77$ мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[M+H]^+$ вычислено для $C_{40}H_{35}N_4O_{10}$ 731,24, обнаружено 731,07.



[0369] Субстрат (0,017 ммоль) растворяли в 20% пиперидине в ДМФ (1 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 5 минут, затем концентрировали в вакууме. Реакционную смесь очищали препаративной ВЭЖХ 21 мм с 10-95% MeCN в H₂O с 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением твердого вещества желтого цвета (5,2 мг, 0,010 ммоль, 60%). $R_t=1,02$ мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[M+H]^+$ вычислено для $C_{25}H_{24}N_4O_8$ 509,17, обнаружено 509,00.

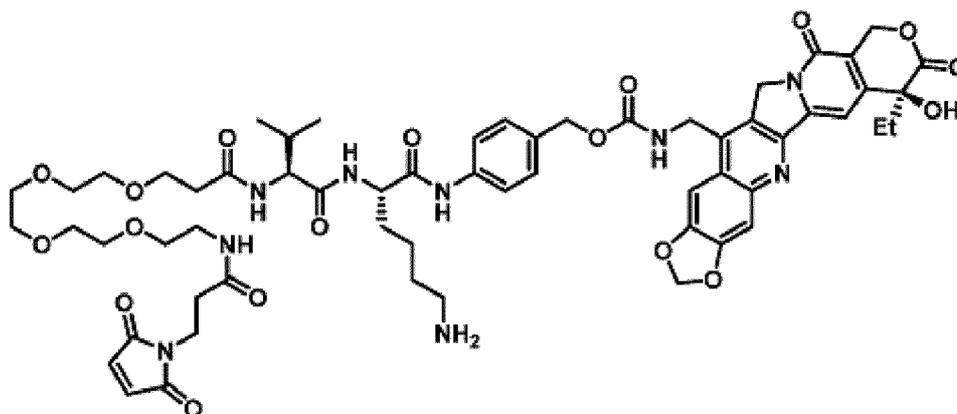


Пример 6-1

[0370] MC-GGFG-OH (14,5 мг, 0,0307 ммоль) растворяли в ДМФ (0,5 мл). Добавляли DIPEA (9 мкл, 0,05 ммоль), затем TSTU (9,3 мг, 0,031 ммоль). Реакционную смесь перемешивали 5 минут. Полное превращение в продукт сложного эфира NHS наблюдали посредством UPLC-MS. Раствор активированного NHS эфира добавляли непосредственно к твердому веществу лекарственное средство-Gly. Полное превращение наблюдали посредством UPLC-MS через 5 минут. Реакцию гасили AcOH и очищали с помощью Препаративной ВЭЖХ. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением порошка желтого цвета (3,30 мг, 3,43 мкмоль, 34%). $R_t=1,53$ мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[M+H]^+$ вычислено для $C_{48}H_{51}N_8O_{14}$ 963,35, обнаружено 963,14.

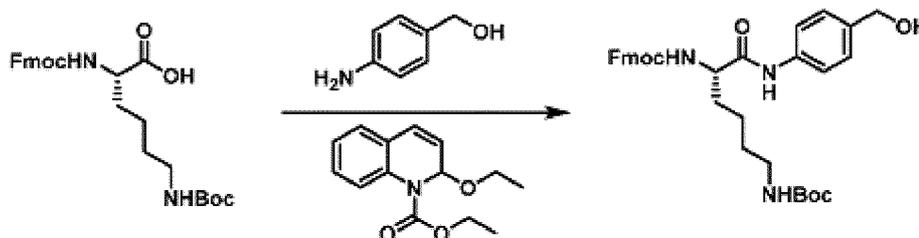
Пример 7-1

Получение MP-PEG4-Val-Lys-PABA-7-MAD-MDCPT



Пример 7-1

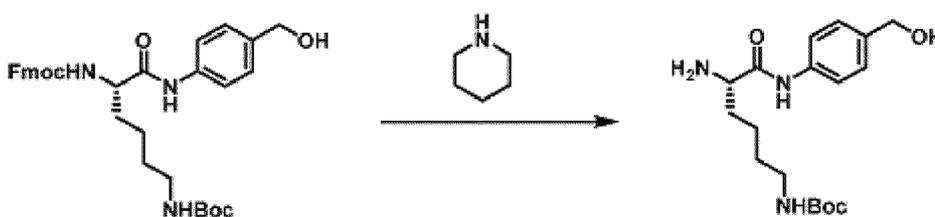
EEDQ конденсация Fmoc-Lys(Boc)-PABA



[0371] Fmoc-Lys(Boc)-OH (500 мг, 1,07 ммоль) суспендировали в 1 мл DCM и перемешивали. Добавляли EEDQ (528 мг, 2,13 ммоль), затем PABA (263 мг, 2,13 ммоль). Реагенты становились растворимыми через 1 минуту и затем осаждались из смеси через

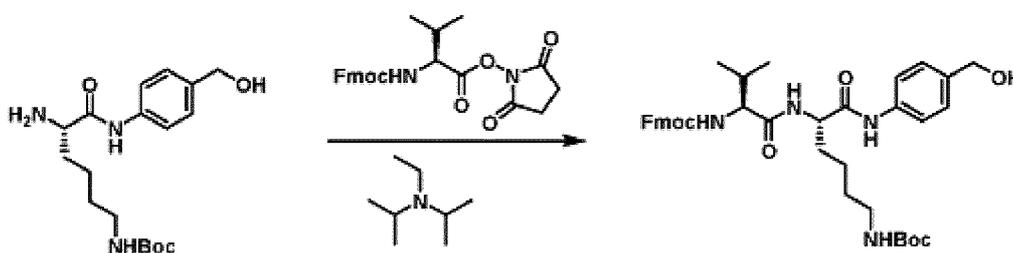
10 минут. Полное превращение наблюдали посредством UPLC-MS. Осадок фильтровали и промывали DCM (3 x 50 мл). Желаемый продукт получали в виде твердого вещества белого цвета (612 мг, 1,07 ммоль, количественный выход). Продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. $R_t=2,08$ мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[M+H]^+$ вычислено для $C_{33}H_{40}N_3O_6$ 574,29, обнаружено 574,28.

Снятие защиты



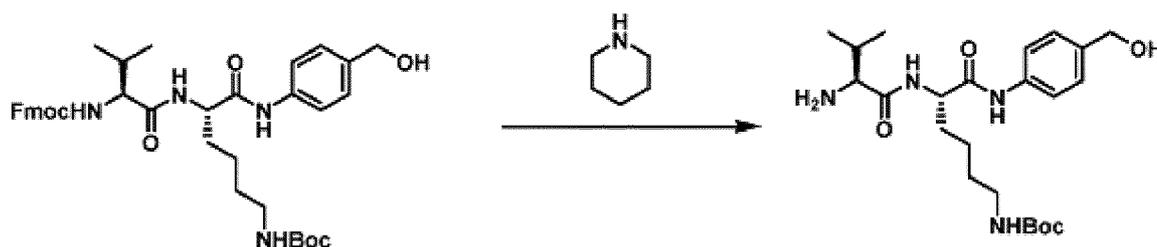
[0372] Субстрат (612 мг, 1,07 ммоль) растворяли в 5 мл 20% пиперидина в растворе ДМФ. Реакционную смесь перемешивали 10 минут при комнатной температуре. Полное превращение наблюдали посредством UPLC-MS. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. $R_t=0,80$ мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[M+H]^+$ вычислено для $C_{18}H_{30}N_3O_4$ 352,22, обнаружено 351,69.

Конденсация Fmoc-Val-OSu



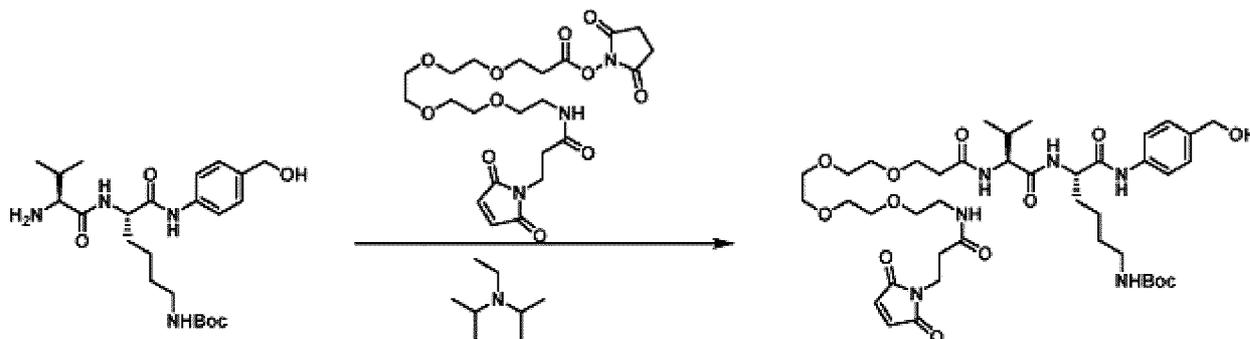
[0373] Неочищенный субстрат (1,07 ммоль) из предыдущей стадии растворяли в ДМФ (2 мл). Добавляли Fmoc-Val-OSu (581 мг, 1,33 ммоль), затем DIPEA (0,37 мл, 2,13 ммоль) и перемешивали в течение 30 минут. Полное превращение наблюдали посредством UPLC-MS. Реакцию гасили AcOH, концентрировали в вакууме и очищали с помощью FCC 100G KP-Sil 0-10% MeOH в DCM. Фракции, содержащие желаемый продукт, концентрировали в вакууме с получением твердого вещества белого цвета (716 мг, 1,06 ммоль, 99%). $R_t=2,12$ мин, общий метод UPLC. MS (m/z) $[M+H]^+$ вычислено для $C_{38}H_{49}N_4O_7$ 673,36, обнаружено 673,31.

Снятие защиты



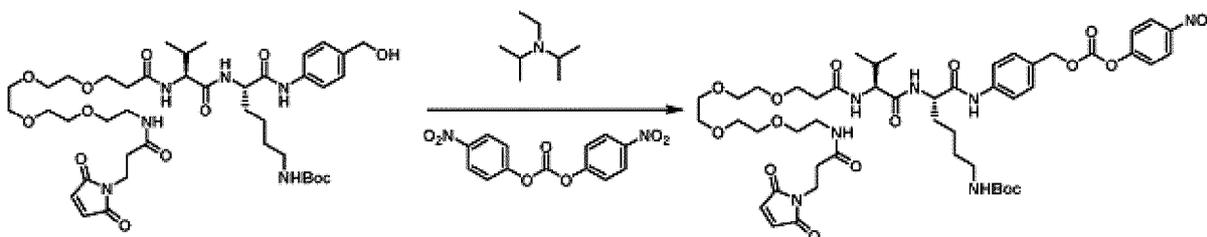
[0374] Субстрат (716 мг, 1,06 ммоль) растворяли в 5 мл 20% пиперидина в растворе ДМФ. Реакционную смесь перемешивали в течение 10 минут при комнатной температуре. Полное превращение наблюдали посредством UPLC-MS. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. Rt=0,94 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₂₃H₃₉N₄O₅ 451,29, обнаружено 450,72.

Конденсация MP-PEG4-OSu



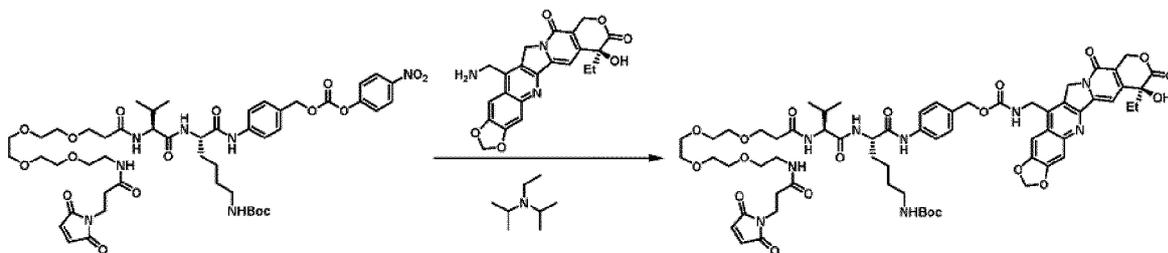
[0375] Неочищенный субстрат (1,06 ммоль) из предыдущей стадии растворяли в ДМФ (1 мл). Добавляли MP-PEG4-OSu (1,09 мг, 2,13 ммоль), затем DIPEA (0,55 мл, 3,19 ммоль) и перемешивали в течение 30 минут. Полное превращение наблюдали посредством UPLC-MS. Неочищенную реакционную смесь использовали на следующей стадии. Rt=1,40 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₄₁H₆₅N₆O₁₃ 849,46, обнаружено 849,06.

Активация PNP



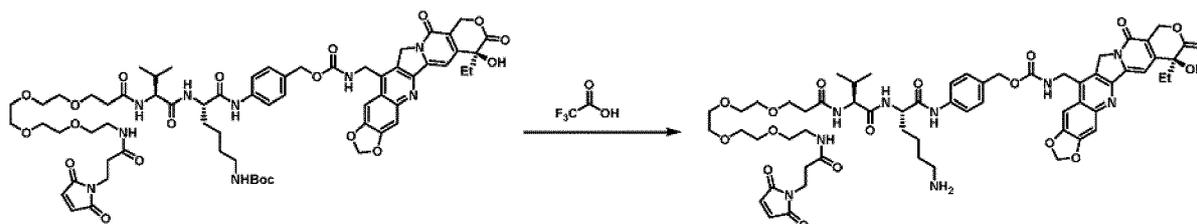
[0376] К неочищенной реакционной смеси из предыдущей стадии добавляли бис-нитрофенол карбонат (969 мг, 3,19 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут. Полное превращение наблюдали посредством UPLC-MS. Реакцию гасили AcOH и очищали препаративной ВЭЖХ 50 мм 10-50-70-95% MeCN в H₂O с 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие желаемый продукт, концентрировали в вакууме с использованием метода ВЭЖХ с лиофилизацией на приборе Genevac. Концентрированные фракции давали твердое вещество белого цвета (621 мг, 0,612 ммоль, 58%). Rt=1,26 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₄₈H₆₈N₇O₁₇ 1014,47, обнаружено 1014,25.

Конденсация 7-MAD-MDCPT



[0377] 7-MAD-MDCPT (10 мг, 24 мкмоль), растворенный в 50 мг/мл в ДМФ, добавляли непосредственно к активированному линкеру (93 мг, 0,092 мкмоль). Добавляли DIPEA (0,047 мл, 36 мкмоль) и реакционную смесь перемешивали. Через 10 минут наблюдали медленное превращение реакционной смеси в продукт. Для ускорения реакции добавляли каталитическое количество DMAP (0,01 мг). Полное превращение наблюдали посредством UPLC-MS через 30 минут. Реакцию гасили АсОН и очищали препаративной ВЭЖХ 21мм 10-36-54-95% MeCN в H₂O с 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением порошка желтого цвета (22,4 мг, 17,3 мкмоль, 72,5%). Rt=1,66 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₆₄H₈₂N₉O₂₀ 1296,57, обнаружено 1296,54.

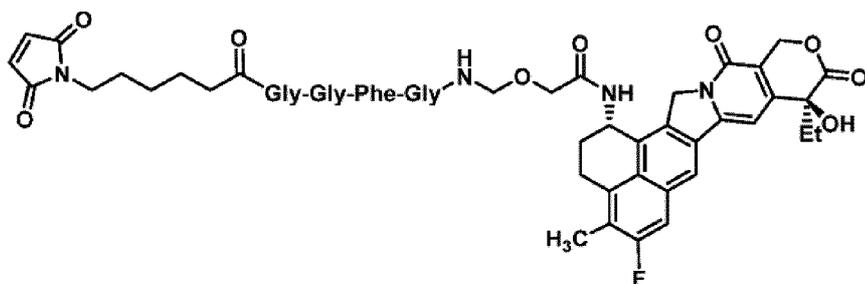
Снятие Boc-защиты:



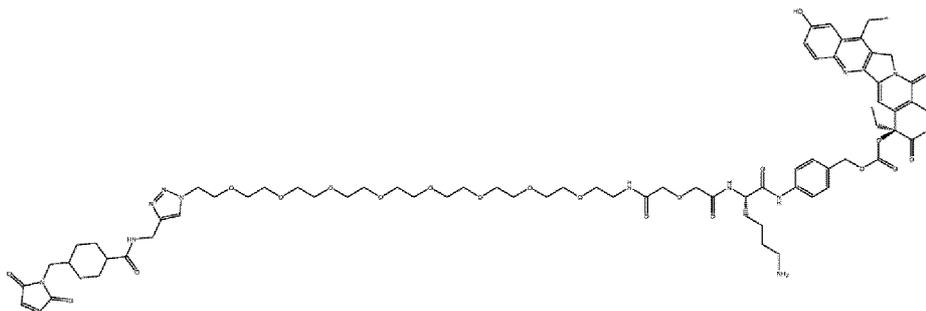
[0378] Субстрат (3,5 мг, 2,7 мкмоль) растворяли в 10% ТФУ в DCM (2 мл). Оставляли перемешиваться в течение 10 минут, после чего наблюдали почти полное превращение посредством UPLC-MS. Реакционную смесь разбавляли MeOH (2 мл) и концентрировали в вакууме. Повторно растворяли в 0,3 мл ДМСО. Не наблюдали распад продукта после концентрирования. Реакцию очищали препаративной ВЭЖХ 10 мм 5-25-41-95% MeCN в H₂O с 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением порошка желтого цвета (1,9 мг, 1,6 мкмоль, 59%). Rt=1,22 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₅₉H₇₄N₉O₁₈ 1196,52, обнаружено 1196,23.

Пример 8-1

[0379] В нижеследующих биологических примерах и таблицах, соединения для сравнения в этом примере получали и использованы для оценки. Структура этих соединений для сравнения представлена в виде:



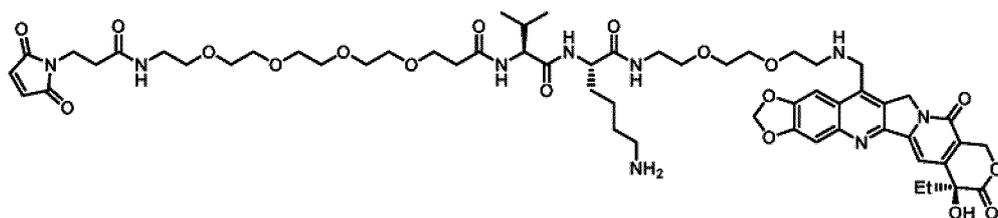
Пример 8-1a



Пример 8-1b

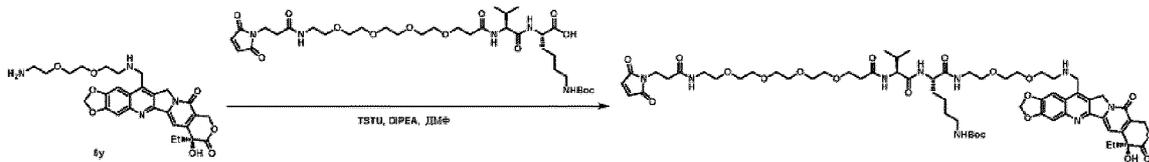
Пример 9-1

Получение MP-PEG4-Val-Lys-7-NH(CH₂CH₂O)₂CH₂CH₂NHCH₂-MDCPT

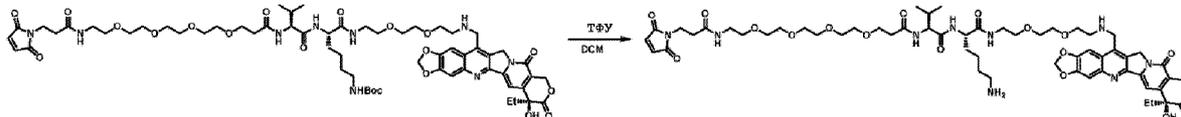


Пример 9-1a

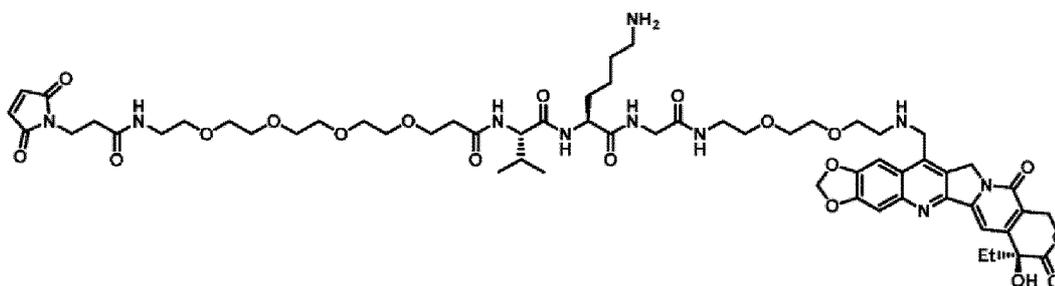
[0380] Пептид MP-PEG4-VK(Вос)-ОН (10,0 мг, 0,0181 ммоль) растворяли в безводном ДМФ (0,2 мл). Добавляли DIPEA (6,3 мкл, 0,036 ммоль), а затем TSTU (5,99 мг, 0,0199 ммоль). Кислоте позволяли активироваться до эфира NHS в течение 20 минут. К реакционной смеси добавляли лекарственное средство (соединение 5y) в 0,1 мл ДМФ. Полное превращение наблюдали с помощью UPLC-MS через 5 минут. Реакцию гасили АсОН (10 мкл) и очищали препаративной ВЭЖХ на колонке 21 × 250 мм и с градиентом элюирования 5-60-95% MeCN в H₂O с 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением порошка желтого цвета (11,62 мг, 9,09 мкмоль, 50%).



[0381] Субстрат (11,62 мг, 9,09 мкмоль) растворяли в 20% ТФУ в DCM (2 мл). Через 10 минут посредством UPLC-MS наблюдали полное превращение в продукт со снятой защитой. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и очищали препаративной ВЭЖХ 10 × 250 мм MaxRP 5-60-95% MeCN в H₂O с 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением порошка желтого цвета (2,96 мг, 2,51 мкмоль, 28%).



Получение MP-PEG4-Val-Lys-Gly-7-NH(CH₂CH₂O)₂CH₂CH₂NHCH₂-MDCPT



Пример 9-1b

[0382] Соединение примера 9-1b синтезировали с использованием общей процедуры, описанной выше для получения соединения примера 9-1a.

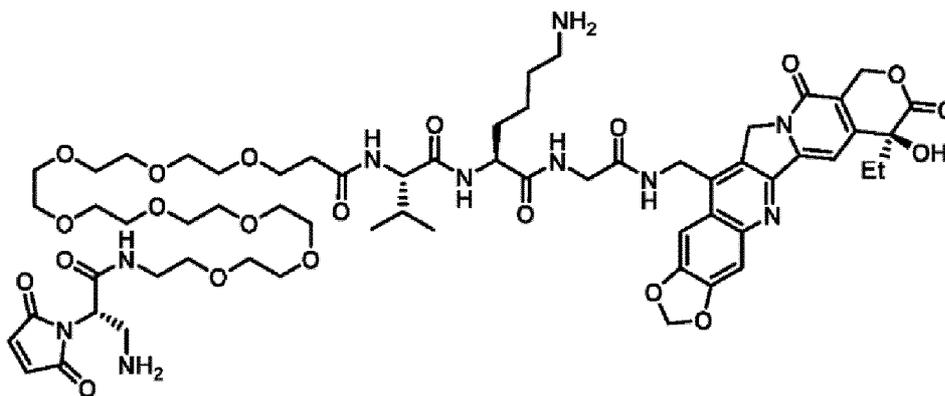
[0383] В следующей таблице приведены характеристики соединений примера 9-1a и примера 9-1b.

Таблица VII

Соединение №	Исходная точная масса	Вычисленное значение MS (m/z) [M+H] ⁺	Обнаруженное значение MS (m/z)	RT
Пример 9-1a	1177,554307	1178,56	1178,68	1,06
Пример 9-1b	1234,57577	1235,58	1235,52	0,99

Пример 10-1

Получение mDPR-PEG8-Val-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT

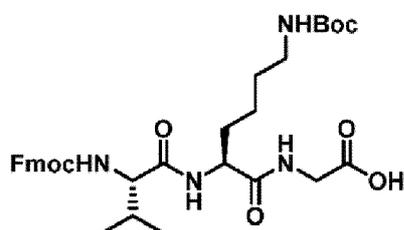
**Пример 10-1a**

Твердофазный

пептидный

синтез

Fmoc-VK(Boc)G-OH:



[0384] Незащищенный глицин, предварительно включенный в концентрации 0,87 ммоль/г в 2-хлортритиловую смолу, приобретали у компании Iris Biotech. В реакционный сосуд добавляли смолу (2 грамма). Смолу насыщали DCM в течение 30 минут, промывали ДМФ 3 раза и полностью осушали. С помощью общей процедуры конденсации, Fmoc-Lys(Boc)-OH конденсировали со смолой. Удалили Fmoc-защиту с использованием общей процедуры снятия защиты. С использованием общей процедуры конденсации, Fmoc-Val-OH конденсировали со смолой. Затем смолу промывали DCM 3 раза, потом Et₂O 3 раза и сушили в вакууме. Пептид отщепляли от смолы путем перемешивания смолы в растворе 4 мл уксусной кислоты, 8 мл трифторэтанола и 28 мл DCM в течение 1 часа. Затем смолу фильтровали и промывали DCM 3 раза, потом раствор концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток растворяли в 2 мл MeCN и осаждали 100 мл Et₂O. Осадок собирали фильтрованием с получением порошка белого цвета (738,6 мг, 1180 ммоль, 68%). Rt=2,06 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₃₃H₄₅N₄O₈ 625,32, обнаружено 625,30.

Общая процедура удаления Fmoc-защиты

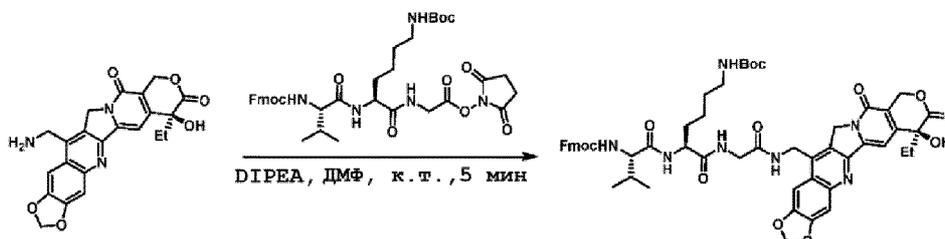
[0385] К смоле добавляли раствор 20% пиперидина в ДМФ (20 мл), встряхивали в течение 1 минуты и осушали. Дополнительно добавляли к смоле 20 мл 20% пиперидина в ДМФ, встряхивали в течение 30 минут и осушали. Смолу промывали ДМФ 4 раза и полностью осушали.

Общая процедура конденсации

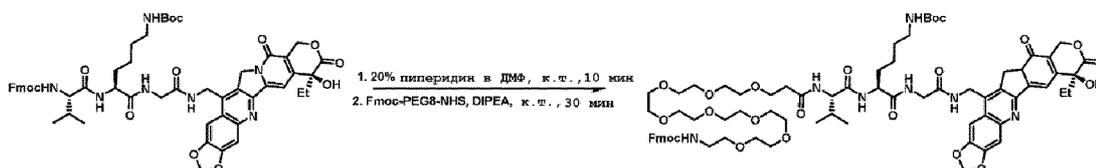
[0386] Получали раствор в ДМФ (20 мл) Fmoc аминокислоты (5 ммоль), HATU (5 ммоль), DIPEA (5 ммоль). Раствор добавляли к смоле и встряхивали в течение 60 минут. Реакционный сосуд осушали и промывали ДМФ 4 раза.



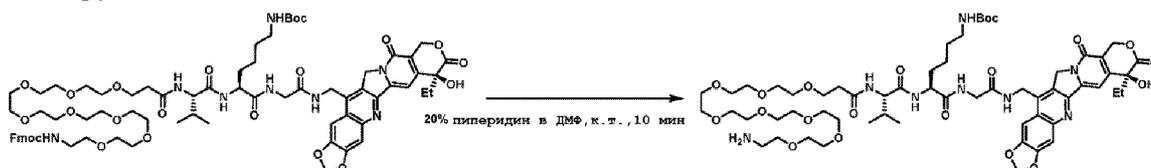
[0387] Пептид Fmoc-Val-Lys(Boc)-Gly-OH (738,6 мг, 1180 ммоль) растворяли в безводном ДМФ (4 мл). Добавляли TSTU (373,7 мг, 1,24 ммоль), затем DIPEA (0,31 мл, 1,77 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 минут, после чего полное превращение наблюдали посредством UPLC-MS. Реакцию гасили AcOH (0,20 мл). Реакционную смесь разбавляли EtOAc (100 мл), промывали H₂O (3 × 100 мл), сушили посредством MgSO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Остаток ресуспендировали в минимальном количестве DCM (5 мл) и осаждали гексаном (100 мл). Осадок собирали фильтрованием и сушили под вакуумом с получением желаемого продукта Fmoc-Val-Lys(Boc)-Gly-OSu в виде порошка белого цвета (759,7 мг, 1,05 ммоль, 89%). Rt=2,12 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₃₇H₄₈N₅O₁₀ 722,34, обнаружено 722,39.



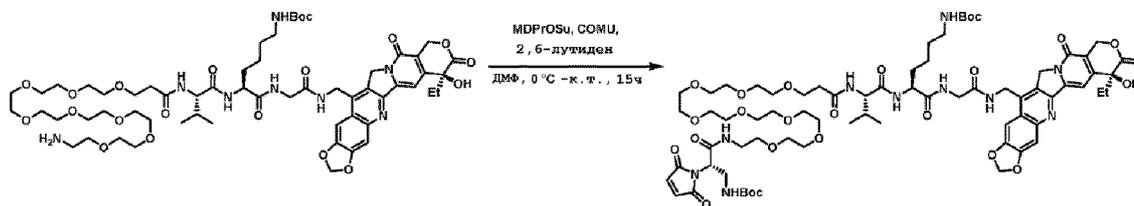
[0388] 7-MAD-MDCPT (50,0 мг, 0,118 ммоль) растворяли в безводном ДМФ (1 мл). Добавляли Fmoc-Val-Lys(Boc)-Gly-OSu (129 мг, 0,178 ммоль), затем DIPEA (0,041 мл, 0,24 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 минут, после чего полное превращение в желаемый продукт наблюдали посредством UPLC-MS. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и очищали с помощью FCC 10G Biotage Ultra 0-6% MeOH в DCM. Фракции, содержащие желаемый продукт, концентрировали в вакууме с получением желаемого продукта Fmoc-Val-Lys(Boc)-Gly-7-MAD-MDCPT в виде твердого вещества рыжевато-коричневого цвета (97,9 мг, 0,0953 ммоль, 80%). Rt=2,07 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₅₆H₆₃N₆O₁₃ 1028,44, обнаружено 1028,22.



[0389] Fmoc-Val-Lys(Boc)-Gly-7-MAD-MDCPT (97,9 мг, 0,0953 ммоль) растворяли в 20% пиперидине в ДМФ. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 минут. Полное превращение в продукт со снятой Fmoc-защитой наблюдали посредством UPLC-MS. Реакционную смесь концентрировали в вакууме с получением желаемого H-Val-Lys(Boc)-Gly-7-MAD-MDCPT в виде твердого вещества рыжевато-коричневого цвета, которое растворяли в безводном ДМФ (0,5 мл). В реакционную смесь добавляли Fmoc-PEG8-NHS (90,6 мг, 0,119 ммоль, Broadpharm: BP-21634, CAS: 1334170-03-4), затем DIPEA (0,025 мл, 0,143 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут, после чего полное превращение наблюдали посредством UPLC-MS. Реакцию гасили AcOH (0,025 мл) и очищали препаративной ВЭЖХ 21 × 250 мм Max-RP 5-40-95% MeCN в H₂O с 0,1% ТФУ в муравьиной кислоте. Фракции, содержащие желаемый продукт, концентрировали с получением желаемого продукта Fmoc-PEG8-Val-Lys(Boc)-Gly-7-MAD-MDCPT в виде твердого вещества рыжевато-коричневого цвета (53,2 мг, 0,0367 ммоль, 38% за 2 стадии). Rt=1,32 мин, гидрофобный метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₇₄H₉₉N₈O₂₂ 1451,69, обнаружено 1452,15.

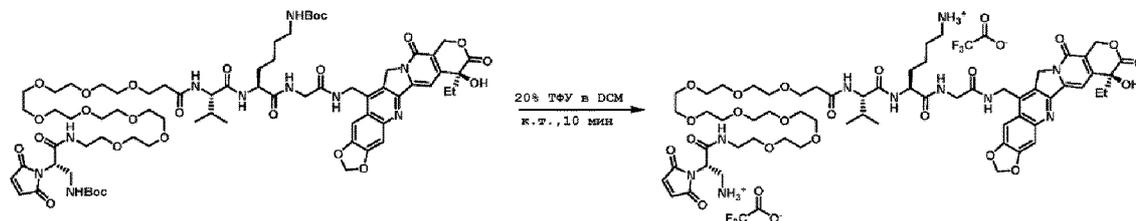


[0390] Fmoc-PEG8-Val-Lys(Boc)-Gly-7-MAD-MDCPT (53,2 мг, 0,0367 ммоль) растворяли в 20% пиперидине в ДМФ. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 минут, после чего полное превращение наблюдали посредством UPLC-MS. Реакционную смесь концентрировали в вакууме с получением H-PEG8-Val-Lys(Boc)-Gly-7-MAD-MDCPT в виде твердого вещества рыжевато-коричневого цвета. Подготавливали 0,0367M раствор неочищенного продукта в безводном ДМФ, который использовали в качестве реагента на следующей стадии для образования малеимидных аналогов.



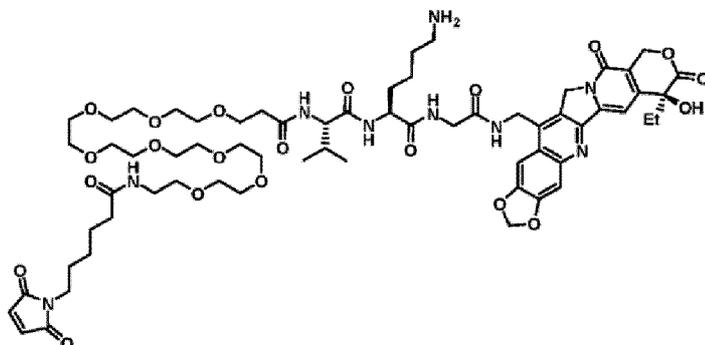
[0391] Неочищенный H-PEG8-Val-Lys(Boc)-Gly-7-MAD-MDCPT 0,0367M в DMF (0,50 мл, 0,018 ммоль) охлаждали на водяной бане со льдом. MDP(BOC)-OH (15,6 мг, 0,0550 ммоль, CAS: 1491152-23-8, препарат описан в WO 2013173337) и COMU (23,6 мг, 0,0550 ммоль) добавляли в реакционную смесь, затем 2,6-лутиден (12,8 мкл, 0,110 ммоль). Реакционную смесь оставляли нагреться до комнатной температуры в течение 1 ч и перемешивали в течение ночи (15 часов). Полное превращение наблюдали посредством UPLC-MS. Реакцию гасили AcOH (0,020 мл) и очищали препаративной ВЭЖХ 10 × 250

мМ Max-RP 5-60-95% MeCN в H₂O с 0,1% муравьиной кислотой. Фракции, содержащие желаемый продукт, концентрировали в вакууме с получением mDPR(Boc)-PEG8-Val-Lys(Boc)-Gly-7-MAD-MDCPT в виде твердого вещества желтого цвета (13,4 мг, 8,97 мкмоль, 49%). Rt=1,71 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₇₁H₁₀₃N₁₀O₂₅ 1495,71, обнаружено 1495,04.

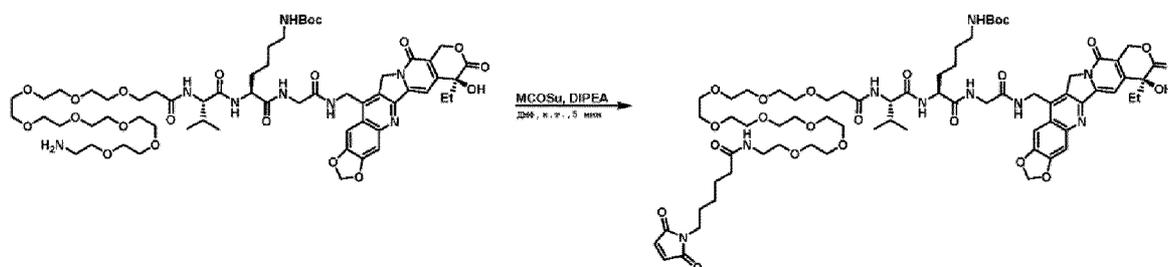


[0392] MDPR(Boc)-PEG8-Val-Lys(Boc)-Gly-7-MAD-MDCPT (13,4 мг, 8,97 мкмоль) растворяли в 20% ТФУ в DCM и перемешивали в течение 10 минут. Полное превращение наблюдали посредством UPLC-MS. Реакцию концентрировали в вакууме и очищали препаративной ВЭЖХ 10 × 250 мм Max-RP 5-30-95% MeCN в H₂O с 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением mDPR-PEG8-Val-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT (пример соединения 10-1a) в виде твердого вещества желтого цвета, которое, как предполагалось, было двойной солью ТФУ (13,4 мг, 8,77 мкмоль, 98%). Rt=1,06 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+Na]⁺ вычислено для C₆₁H₈₆N₁₀NaO₂₁ 1317,59, обнаружено 1317,50.

Получение MC-PEG8-Val-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT

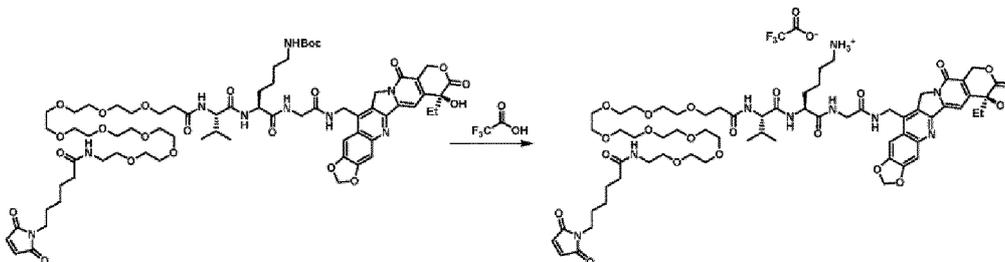


Пример 10-1b



[0393] К неочищенному H-PEG8-Val-Lys(Boc)-Gly-7-MAD-MDCPT (из выше описанной процедуры для получения соединения примера 10-1a) 0,0367 М в ДМФ (0,50 мл, 0,018 ммоль) добавляли MCOSu (17,0 мг, 0,0550 ммоль, TCI America: S0428, CAS: 55750-63-5), затем DIPEA (9,6 мкл, 0,055 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при

комнатной температуре в течение 5 минут, после чего наблюдали полное превращение. Реакцию гасили AcOH (0,02 мл) и очищали препаративной ВЭЖХ 10 × 250 мм Max-RP 5-60-95% MeCN в H₂O с 0,1% муравьиной кислоты. Фракции, содержащие желаемый продукт, концентрировали в вакууме с получением MC-PEG8-Val-Lys(Boc)-Gly-7-MAD-MDCPT в виде твердого вещества желтого цвета (17,4 мг, 18,3 мкмоль, 67%). Rt=1,63 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₆₉H₁₀₀N₉O₂₃ 1422,69, обнаружено 1422,27.



[0394] MC-PEG8-Val-Lys(Boc)-Gly-7-MAD-MDCPT (17,4 мг, 12,2 мкмоль) растворяли в 20% ТФУ в DCM и перемешивали в течение 20 минут. Полное превращение наблюдали посредством UPLC-MS. Реакцию концентрировали в вакууме и очищали препаративной ВЭЖХ 10 × 250 мм Max-RP 5-40-95% MeCN в H₂O 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие желаемый продукт, лиофилизировали с получением MC-PEG8-Val-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT (пример соединения 10-1b) в виде твердого вещества желтого цвета, которое, как предполагалось, представляет собой соль ТФУ (16,54 мг, 11,52 мкмоль, 94%). Rt=1,27 мин, общий метод UPLC. MS (m/z) [M+H]⁺ вычислено для C₆₄H₉₂N₉O₂₁ 1322,64, обнаружено 1322,15.

Метод конъюгации камптотецина

[0395] Полностью или частично восстановленные ADC получали в смеси 50% пропиленгликоля (PG) и 1× PBS (фосфатно-солевой буфер). Половину части PG добавляли к восстановленному mAb, причем половину PG добавляли к смеси камптотециновое лекарственное средство-линкер в 1 mM ДМСО. Смесь PG/лекарственное средство-линкер добавляли к восстановленному mAb 25% порциями. После завершения добавления лекарственного средства-линкера, избыток лекарственного средства-линкера удаляли обработкой активированным углем (1 мг угля на 1 мг mAb). Затем уголь удаляли фильтрацией и полученный ADC заменяли буфером с использованием колонки NAP5 или PD10, в 5% трегалозу в 1× PBS pH 7,4.

Биологические примеры

Оценка малой молекулы и ADC in vitro

[0396] Эффективность *in vitro* оценивалась на нескольких линиях злокачественных клеток. Все клеточные линии были аутентифицированы STR-профилированием в IDEXX-Bioresearch и культивировались не более 2 месяцев после реанимации. Клетки, культивируемые в логарифмической фазе роста, высевали в течение 24 ч в 96-луночные планшеты, содержащие 150 мкл RPMI 1640 с добавлением 20% фетальной бычьей

сыворотки (FBS). Серийные разведения конъюгатов антитело-лекарственное средство в питательной среде для культивирования клеток готовили при 4-кратных рабочих концентрациях, и 50 мкл каждого разведения добавляли в 96-луночные планшеты. После добавления исследуемых образцов клетки инкубировали с исследуемыми образцами в течение 4 дней при 37°C. Через 96 часов ингибирование роста оценивали с помощью CellTiter-Glo® (Promega, Madison, WI) и измеряли люминесценцию на планшете-ридере. Значение IC₅₀, определенное в трех повторностях, определяется в настоящем изобретении как концентрация, которая приводит к 50% снижению роста клеток по сравнению с необработанными контролями.

[0397] В следующих таблицах значения IC₅₀ для ADC и лекарственных препаратов, не содержащих СРТ, приведены в концентрациях нг/мл и ммоль/мл, соответственно, со значениями в скобках, представляющими процент клеток, остающихся при самой высокой исследованной концентрации (1000 нг/мл для ADC и 1 мкМ для соединения, не содержащего СРТ, если не указано иное) по сравнению с необработанными клетками. Жизнеспособность клеток определяли окрашиванием CellTiter-Glo после 96-часового воздействия на ADC. ND=не определено. Ag1 представляет собой антитело, направленное против общераспространенного и легко интернализируемого антигена на злокачественных клетках, Ag2 представляет собой антитело сAC10, направленное против CD30(+) злокачественных клеток, Ag3 представляет собой антитело h1F6, направленное против CD70(+) злокачественных клеток, Ag4 представляет собой антитело hMEM102, направленное против CD48(+) злокачественных клеток, Ag5 представляет собой антитело h20F3, направленное против злокачественных клеток, экспрессирующих NTB-A, и h00 представляет собой несвязывающее контрольное антитело.

[0398] Таблицы 1A-1D. Активность (значения IC₅₀) камптотециновых ADC *in vitro* (DAR=8). А. анти-Ag1 ADC, направленные на клетки карциномы почек (786-O), злокачественные клетки поджелудочной железы (BxPC3), клетки карциномы печени (HepG2), клетки острого промиелоцитарного лейкоза (HL-60), клетки лимфомы Ходжкина (L540cy), клетки множественной миеломы (MM, 1R), клетки острого миелоидного лейкоза (MOLM13), клетки лимфомы Беркитта (Ramos), клетки меланомы (SK-MEL-5) и злокачественные клетки В-лимфоцитов (SU-DHL-4 и U266), В. анти-Ag2 ADC, направленные на клетки лимфомы Ходжкина (DEL и L540cy) и клетки неходжкинской лимфомы (Karpas 299), которые являются антиген-позитивными, при тестировании относительно клеток карциномы почек (786-O), которые являются антиген-негативными, С. анти-Ag3 ADC, направленные на клетки карциномы почек (786-O, Saki-1 и UM-RC-3), и клетки лимфомы Беркитта (Raji), а также D. анти-Ag4 ADC и анти-Ag5 ADC, нацеленные на множественную миелому клетки (EJM, KMM-1, MM, 1R) и злокачественные клетки В-лимфоцитов (NCI-H929 и U-266), которые являются антиген-позитивными, при тестировании относительно антиген-негативной линии лимфобластных клеток (TF-1a). Пример 8-1a относится к Ag1-MC-GGFG-NHCH2-DXd (1), а пример 4-1 относится к MP-PEG4-VKG-7-MAD-MDCPT.

[0399] Таблица 1А. Анти-Ag1 ADC

ADC (антитело - лекарстве нное средство)	786-O		ВхРСЗ		HepG2		HL-60		L540cy		MM.1R	
Ag1- Пример 4- 1	9	(11)	20	(41)	41	(44)	81	(2)	4	(1)	2	(0)
Ag1- Пример 8- 1a	86	(31)	>1K	(50)	>1 K	(ND)	256	(16)	26	(2)	13	(3)
Ag1- Пример 9- 1a	625	(ND)	329	(41)	224	(35)	307	(32)	53	(1)	11	(1)
Ag1- Пример 9- 1b	>1 K	(50)	939	(39)	490	(20)	>1K	(51)	121	(1)	19	(2)
	MOLM13		Ramos		SK-MEL- 5		SU-DHL-4		U266			
Ag1- Пример 4- 1	27	(0)	0,1	(2)	68	(35)	1	(3)	15	(30)		
Ag1- Пример 8- 1a	89	(0)	1	(1)	766	(40)	12	(8)	693	(45)		
Ag1- Пример 9- 1a	54	(0)	0,5	(3)	385	(47)	7	(4)	192	(21)		
Ag1- Пример 9- 1b	80	(1)	1	(4)	>1 K	(64)	11	(4)	334	(37)		

[0400] Таблица 1В. Анти-Ag2 ADC

ADC (антитело-лекарственное средство)	786-O (ag-)		DEL		Karpas 299		L540cy	
	>10K	(89)	2	(0)	2	(9)	2	(1)
Ag2-Пример 4-1	>10K	(89)	2	(0)	2	(9)	2	(1)
Ag2-Пример 8-1a	>10K	(91)	5	(0)	27	(25)	17	(1)

[0401] Таблица 1С. Анти-Ag3 ADC

ADC (антитело-лекарственное средство)	786-O		Saki-1		Raji		UM-RC-3	
	37	(18)	36	(24)	1130	(45)	16	(30)
Ag3-Пример 4-1	37	(18)	36	(24)	1130	(45)	16	(30)
Ag3-Пример 8-1a	>10K	(54)	>10K	(68)	5559	(ND)	65	(40)

[0402] Таблица 1D. Анти-Ag4 ADC и анти-Ag5 ADC

ADC* (лекарственное средство/антитело)	EJM	KMM-1	MM.1R	NCI-H929	TF-1a (ag-)	U-266
Ag4-Пример 4-1	53 (27)	18 (16)	4 (1)	6 (2)	>10K (83)	17 (38)
Ag4-Пример 8-1a	2785 (0)	75 (34)	9 (0)	9 (3)	>10K (ND)	>10K (ND)
Ag5-Пример 4-1	150 (31)	177 (16)	5 (0)	80 (2)	>10K (68)	97 (28)
Ag5-Пример 8-1a	7192 (ND)	5294 (45)	177 (ND)	2928 (ND)	>10K (ND)	>10K (ND)

Дифференциальная активность в отношении CD30+ родительских клеточных линий DEL и CD30/MDR+ DEL-BVR

[0403] Таблица 2. Дифференциальная активность камптотецинового Ag2-пример 4-1 (DAR=8) в отношении CD30+ родительских клеточных линий DEL и CD30/MDR+ DEL-BVR. Родительскую клеточную линию лимфомы DEL культивировали в присутствии брентуксимаб ведотина для индуцирования сверхэкспрессии фенотипа MDR, что привело к получению линии, устойчивой к брентуксимаб ведотину (DEL-BVR). Брентуксимаб ведотин, который представляет собой Ag2-vc-MMAE (DAR=4), был включен в качестве контроля. Пример 4-1 относится к MP-PEG4-VKG-7-MAD-MDCPT.

ADC (лекарственное средство/антитело)	DEL	DEL-BVR
Ag2-Пример 4-1 (8)	1 (0)	4 (0)
Ag2-vcMMAE (4)	0,5 (1)	>1000 (93)

Уровни агрегации

[0404] **Таблица 3.** Уровни агрегации ADC для соединений камптотециновое лекарственное средство-линкер на основе пептида (DAR=4). Агрегацию ADC определяли с помощью эксклюзионной хроматографии (SEC). Более низкие уровни агрегации наблюдались, когда гидрофильные пептидные последовательности и/или единицы PEG4 были включены в конструкции камптотециновое лекарственное средство-линкер на основе пептида.

Таблица 3

ADC (антитело- лекарственное средство)	Описание структуры лекарственное средство-линкер	% агрегации
Ag1-Пример 5-1	MP-PEG4-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	4,37
Ag1-Пример 5-1a	MP-PEG4-Gly-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	3,22
Ag1-Пример 5-1n	MP-PEG4-Gly-Gly-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	4,03
Ag1-Пример 5-1b	MP-PEG4-Val-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	2,88
Ag1-Пример 5-1o	MP-PEG4-Val-Cit-Gly-7-MAD-MDCPT	6,69
Ag1-Пример 5-1d	MP-PEG4-Val-Gln-Gly-7-MAD-MDCPT	4,35
Ag1-Пример 5-1c	MP-PEG4-Val-Glu-Gly-7-MAD-MDCPT	3,07
Ag1-Пример 5-1h	MP-PEG4-Phe-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT	3,1
Ag1-Пример 5-1e	MP-PEG4-Leu-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT	3,14
Ag1-Пример 5-1f	MP-PEG4-Gly-Val-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT	3,32
Ag1-Пример 5-1g	MP-PEG4-Val-Lys-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	3,3
Ag1-Пример 5-1i	MC-Val-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT*	высокий
Ag1-Пример 5-1m	MP-PEG4-Val-Lys-Ala-7-MAD-MDCPT	3,89
Ag1-Пример 5-1j	MP-PEG4-Leu-Leu-Gly-7-MAD-MDCPT	7,66
Ag1-Пример 5-1k	MC-Gly-Gly-Phe-Gly-7-MAD-MDCPT	23,79
Ag1-Пример 5-1l	MC-Gly-Gly-Phe-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	3,79
Ag1-Пример 5-1p	MP-PEG4-Val-Gly-7-MAD-MDCPT	5,25
Ag1-Пример 6-1	MC-GGFG-HAPI-7-BAD-MDCPT	4,12
Ag1-Пример 5-1q	MP-PEG4-Val-Lys-B-Ala-7-MAD-MDCPT	3,69

DAR меньше, чем 4

[0405] **Таблица 4.** Эффективность *in vitro* (значения IC₅₀) камптотецинового анти-Ag1 DAR4 ADC на основе пептида против различных линий злокачественных клеток демонстрирует последовательность-зависимую эффективность.

[0406] Таблица 4А. Злокачественные клетки почек (786-О), злокачественные клетки поджелудочной железы (ВхРС3), злокачественные клетки печени (НерG2) и клетки острого промиелоцитарного лейкоза (HL-60).

[0407] Таблица 4В. Клетки острого промиелоцитарного лейкоза с множественной лекарственной резистентностью (HL-60/RV), клетки лимфомы Ходжкина (L540су), клетки множественной миеломы (ММ.Р1) и клетки острого миелоидного лейкоза (MOLM13).

[0408] Таблица 4С. Клетки лимфомы Беркитта (Ramos), клетки меланомы (SK-MEL-5) и злокачественные клетки В-лимфоцитов (SU-DHL-4 и U266).

Таблица 4А

ADC (антитело- лекарственное средство)	Описание структуры лекарственное средство- линкер	786-О	ВхРС3	НерG2	HL-60
Ag1-Пример 5-1	MP-PEG4-Gly-Gly-7-MAD- MDCPT	500 (45)	90 (43)	>1K (70)	322 (30)
Ag1-Пример 5-1a	MP-PEG4-Gly-Gly-Gly-7- MAD-MDCPT	>1K (51)	136 (44)	>1K (61)	411 (ND)
Ag1-Пример 5-1n	MP-PEG4-Gly-Gly-Gly-Gly-7- MAD-MDCPT	>1K (51)	>1K (52)	>1K (65)	683 (ND)
Ag1-Пример 5-1b	MP-PEG4-Val-Gly-Gly-7- MAD-MDCPT	>1K (49)	142 (46)	>1K (65)	264 (12)
Ag1-Пример 5-1o	MP-PEG4-Val-Cit-Gly-7- MAD-MDCPT	141 (41)	150 (40)	>1K (67)	335 (1)
Ag1-Пример 5-1d	MP-PEG4-Val-Gln-Gly-7- MAD-MDCPT	194 (38)	140 (48)	>1K (62)	252 (8)
Ag1-Пример 5-1c	MP-PEG4-Val-Glu-Gly-7- MAD-MDCPT	179 (36)	269 (49)	>1K (57)	284 (10)
Ag1-Пример 5-1m	MP-PEG4-Val-Lys-Ala-7- MAD-MDCPT	>1K (63)	108 (46)	>1K (54)	212 (5)
Ag1-Пример 5-1h	MP-PEG4-Phe-Lys-Gly-7- MAD-MDCPT	124 (34)	87 (46)	>1K (62)	384 (0)
Ag1-Пример 5-1j	MP-PEG4-Leu-Leu-Gly-7- MAD-MDCPT	91 (29)	107 (48)	>1K (57)	164 (9)
Ag1-Пример 5-1k	MC-Gly-Gly-Phe-Gly-7-MAD- MDCPT	205 (44)	>1K (52)	>1K (57)	798 (ND)
Ag1-Пример 5-1e	MP-PEG4-Leu-Lys-Gly-7-	77 (35)	192 (49)	>1K (57)	325 (0)

	MAD-MDCPT				
Ag1-Пример 5-1l	MC-Gly-Gly-Phe-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	89 (34)	200 (48)	>1K (39)	238 (7)
Ag1-Пример 5-1f	MP-PEG4-Gly-Val-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT	75 (30)	>1K (51)	>1K (59)	292 (9)
Ag1-Пример 5-1p	MP-PEG4-Val-Gly-7-MAD-MDCPT	>1K (85)	>1K (65)	>1K (92)	299 (22)
Ag1-Пример 5-1g	MP-PEG4-Val-Lys-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	973 (48)	>1K (51)	>1K (57)	296 (27)
Ag1-Пример 6-1	MC-GGFG-HAPI-7-BAD-MDCPT	>1K (86)	>1K (ND)	>1K (ND)	>1K (ND)
Ag1-Пример 5-1q	MP-PEG4-Val-Lys-B-Ala-7-MAD-MDCPT	71 (29)	56 (41)	>1K (63)	115 (3)

Таблица 4В

ADC (антитело- лекарственное средство)	Описание структуры лекарственное средство- линкер	HL60/R V	L540cy	MM.R1	MOLM13
Ag1-Пример 5-1	MP-PEG4-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	>1K (96)	49 (5)	13 (1)	101 (1)
Ag1-Пример 5-1a	MP-PEG4-Gly-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	>1K (ND)	33 (4)	11 (0)	78 (2)
Ag1-Пример 5-1n	MP-PEG4-Gly-Gly-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	>1K (85)	55 (4)	14 (0)	112 (1)
Ag1-Пример 5-1b	MP-PEG4-Val-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	>1K (100)	16 (3)	15 (0)	85 (2)
Ag1-Пример 5-1o	MP-PEG4-Val-Cit-Gly-7-MAD-MDCPT	>1K (ND)	19 (1)	16 (0)	88 (0)
Ag1-Пример 5-1d	MP-PEG4-Val-Gln-Gly-7-MAD-MDCPT	>1K (100)	15 (2)	13 (0)	69 (2)
Ag1-Пример 5-1c	MP-PEG4-Val-Glu-Gly-7-MAD-MDCPT	>1K (72)	13(1)	18 (2)	85 (1)
Ag1-Пример 5-1m	MP-PEG4-Val-Lys-Ala-7-MAD-MDCPT	>1K (ND)	20 (2)	17 (0)	78 (0)

Ag1-Пример 5-1h	MP-PEG4-Phe-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT	>1K (100)	22 (2)	25 (1)	100 (1)
Ag1-Пример 5-1j	MP-PEG4-Leu-Leu-Gly-7-MAD-MDCPT	>1K (74)	13 (2)	9 (0)	52 (0)
Ag1-Пример 5-1k	MC-Gly-Gly-Phe-Gly-7-MAD-MDCPT	>1K (41)	21 (2)	15 (0)	103 (0)
Ag1-Пример 5-1e	MP-PEG4-Leu-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT	>1K (82)	15 (2)	20 (1)	82 (1)
Ag1-Пример 5-1l	MC-Gly-Gly-Phe-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	>1K (ND)	16 (2)	22 (1)	90 (0)
Ag1-Пример 5-1f	MP-PEG4-Gly-Val-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT	>1K (97)	18 (2)	22 (1)	93 (1)
Ag1-Пример 5-1p	MP-PEG4-Val-Gly-7-MAD-MDCPT	>1K (95)	>1K (88)	189 (30)	154 (1)
Ag1-Пример 5-1g	MP-PEG4-Val-Lys-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	>1K (ND)	28 (3)	28 (3)	108 (1)
Ag1-Пример 6-1	MC-GGFG-HAPI-7-BAD-MDCPT	>1K (ND)	77 (9)	>1K (38)	255 (16)
Ag1-Пример 5-1q	MP-PEG4-Val-Lys-B-Ala-7-MAD-MDCPT	>1K (89)	8 (2)	4 (0)	38 (0)

Таблица 4С

ADC (антитело- лекарственное средство)	Описание структуры лекарственное средство- линкер	Ramos	SK- MEL-5	SU-DHL- 4	U266
Ag1-Пример 5-1	MP-PEG4-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	2 (4)	>1K (51)	11 (6)	98 (27)
Ag1-Пример 5-1a	MP-PEG4-Gly-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	1 (4)	>1K (ND)	11 (4)	99 (33)
Ag1-Пример 5-1n	MP-PEG4-Gly-Gly-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	4 (4)	>1K (72)	13 (4)	95 (38)
Ag1-Пример 5-1b	MP-PEG4-Val-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	1 (4)	>1K (ND)	7 (2)	62 (20)
Ag1-Пример 5-1o	MP-PEG4-Val-Cit-Gly-7-MAD-	1 (3)	>1K (57)	8 (2)	67 (23)

	MDCPT				
Ag1-Пример 5-1d	MP-PEG4-Val-Gln-Gly-7-MAD-MDCPT	1 (4)	>1K (ND)	7 (3)	61 (23)
Ag1-Пример 5-1c	MP-PEG4-Val-Glu-Gly-7-MAD-MDCPT	2 (5)	>1K (ND)	7 (3)	63 (25)
Ag1-Пример 5-1m	MP-PEG4-Val-Lys-Ala-7-MAD-MDCPT	2 (4)	>1K (ND)	6 (3)	77 (28)
Ag1-Пример 5-1h	MP-PEG4-Phe-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT	1 (4)	>1K (57)	10 (3)	104 (28)
Ag1-Пример 5-1j	MP-PEG4-Leu-Leu-Gly-7-MAD-MDCPT	1 (4)	>1K (56)	4 (3)	36 (26)
Ag1-Пример 5-1k	MC-Gly-Gly-Phe-Gly-7-MAD-MDCPT	2 (4)	>1K (ND)	15 (3)	51 (26)
Ag1-Пример 5-1e	MP-PEG4-Leu-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT	1 (3)	>1K (58)	7 (2)	69 (23)
Ag1-Пример 5-1l	MC-Gly-Gly-Phe-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	2 (5)	996 (ND)	9 (3)	84 (29)
Ag1-Пример 5-1f	MP-PEG4-Gly-Val-Lys-Gly-7-MAD-MDCPT	1 (3)	>1K (59)	9 (3)	67 (26)
Ag1-Пример 5-1p	MP-PEG4-Val-Gly-7-MAD-MDCPT	11 (11)	>1K (ND)	>1K (80)	>1K (ND)
Ag1-Пример 5-1g	MP-PEG4-Val-Lys-Gly-Gly-7-MAD-MDCPT	1 (4)	>1K (ND)	7 (3)	70 (25)
Ag1-Пример 6-1	MC-GGFG-HAPI-7-BAD-MDCPT	14 (6)	>1K (71)	421 (10)	>1K (ND)
Ag1-Пример 5-1q	MP-PEG4-Val-Lys-B-Ala-7-MAD-MDCPT	0,2 (4)	>1K (ND)	2 (3)	25 (25)

[0409] Таблица 5. Оценка выбранных камптотециновых анти-Ag1 (DAR=8) ADC на основе пептидов, различающихся по гидрофобности, в отношении различных линий злокачественных клеток.

[0410] Таблица 5А. Злокачественные клетки почек (786-O), злокачественные клетки поджелудочной железы (ВхРС3), злокачественные клетки печени (НерG2), MDR(-) и MDR(+) клетки острого промиелоцитарного лейкоза (HL-60 и HL60/RV соответственно) и клетки лимфомы Ходжкина (L540cy).

[0411] Таблица 5В. Клетки множественной миеломы (MM.R1), клетки острого миелоидного лейкоза (MOLM13), клетки лимфомы Беркитта (Ramos), клетки меланомы (SK-MEL-5) и злокачественные клетки В-лимфоцитов (SU-DHL-4 и U266).

Таблица 5А

ADC (антитело- лекарственное средство)	Описание структуры лекарственное средство-линкер	Агрегация	786-О	ВхРС3	HerG2 (800)	HL-60	HL60/ RV	L540cy
Ag1-Пример 5-1d	MP-PEG4-VQG- 7-MAD-MDCPT	25%	7 (6)	21 (35)	136 (42)	145 (3)	898 (ND)	5 (2)
Ag1-Пример 5-1q	MP-PEG4- VKBetaA-7- MAD-MDCPT		13 (11)	13 (34)	>1K (53)	96 (2)	>1K (79)	5 (1)
Ag1-Пример 5-1c	MP-PEG4-VEG- 7-MAD-MDCPT		13 (10)	15 (34)	>1K (50)	139 (3)	>1K (ND)	5 (0)
Ag1-Пример 5-1j	MP-PEG4-LLG- 7-MAD-MDCPT	86%	6 (6)	21 (35)	138 (38)	165 (3)	294 (27)	5 (1)
Ag1-Пример 5-1o	MP-PEG4-VCG- 7-MAD-MDCPT	55%	10 (9)	17 (35)	136 (47)	122 (3)	>1K (72)	5 (1)
Ag1-Пример 6-1	MC-GGFG- HAPI-7-BAD- MDCPT		>1K (55)	80 (44)	>1K (56)	>1K (ND)	98 (47)	21 (1)
Ag1-Пример 5-1b	MP-PEG4-VGG- 7-MAD-MDCPT		20 (16)	20 (39)	344 (46)	156 (5)	>1K (ND)	6 (2)
Ag1-Пример 5-1m	MP-PEG4-VKA- 7-MAD-MDCPT		34 (21)	30 (40)	88 (49)	129 (4)	>1K (72)	4 (1)
Ag1-Пример 4-1	MP-PEG4-VKG- 7-MAD-MDCPT	1,7%	14 (12)	25 (37)	291 (50)	165 (5)	>1K (ND)	5 (1)
Ag1-Пример 4-2	MP-PEG2-VKG- 7-MAD-MDCPT		9 (7)	26 (33)	17 (28)	96 (3)	>1K (64)	4 (2)
Ag1-Пример 4-3	MP-PEG8-VKG- 7-MAD-MDCPT	1,6%	11 (11)	18 (35)	19 (34)	117 (3)	>1K (82)	5 (2)
Ag1-Пример 4-4	MP-PEG12- VKG-7-MAD-	1,9%	9 (10)	18 (34)	8 (39)	98 (53)	>1K (76)	4 (3)

	MDCPT							
Ag1-Пример 4-5	MP-Lys(PEG12)- VKG-7-MAD- MDCPT	2,3%	11 (10)	27 (40)	21 (31)	122 (4)	>1K (83)	5 (3)
Ag1-Пример 5-1r	MP-PEG4-VKE- 7-MAD-MDCPT		33 (12)	51 (34)	-	173 (3)	>1K (67)	15 (2)
Ag1-Пример 5-1s	MP-PEG4-VEE- 7-MAD-MDCPT		13 (19)	31 (48)	-	52 (8)	13 (3)	3 (3)
Ag1-Пример 8-1a	mc-gly-gly-phe- gly-NHCH2- DXd(1)		>1K (51)	162 (46)	>1K (59)	314 (40)	>1K (96)	19 (2)

Таблица 5В

ADC(антитело-лекарственное средство)	Описание структуры лекарственного средство-линкер	Агрегация	MM.1 R	MOL M13	Ramos	SK-MEL-5	SU-DHL-4	U266
Ag1-Пример 5-1d	MP-PEG4-VQG-7-MAD-MDCPT	25%	3(0)	61(0)	0,03(2)	180(40)	1(1)	22(32)
Ag1-Пример 5-1q	MP-PEG4-VKBetaA-7-MAD-MDCPT		2(0)	36(0)	0,1(0)	>1K(ND)	1(1)	16(29)
Ag1-Пример 5-1c	MP-PEG4-VEG-7-MAD-MDCPT		3(0)	62(0)	0,2(2)	387(45)	1(2)	13(25)
Ag1-Пример 5-1j	MP-PEG4-LLG-7-MAD-MDCPT	86%	3(0)	82(0)	0,2(1)	118(39)	2(1)	9(27)

Ag1- Пример 5- 1o	MP-PEG4- VCG-7- MAD- MDCPT	55%	3(0)	55(0)	0,1(1)	321(42)	1(2)	11(25)
Ag1- Пример 6- 1	MC-GGFG- HAPI-7- BAD- MDCPT		42 (18)	223(5)	4(1)	>1K(76)	23(6)	777(48)
Ag1- Пример 5- 1b	MP-PEG4- VGG-7- MAD- MDCPT		4(0)	57(0)	0,2(2)	>1K(54)	2(2)	13(25)
Ag1- Пример 5- 1m	MP-PEG4- VKA-7- MAD- MDCPT		3(0)	61(1)	0,1(2)	>1K(50)	1(3)	13(29)
Ag1- Пример 4- 1	MP-PEG4- VKG-7- MAD- MDCPT	1,7%	5(0)	64(0)	0,1(3)	>1K(ND)	2(2)	24(32)
Ag1- Пример 4- 2	MP-PEG2- VKG-7- MAD- MDCPT		2(2)	30(0)	0,2(3)	31(34)	1(4)	20(28)
Ag1- Пример 4- 3	MP-PEG8- VKG-7- MAD- MDCPT	1,6%	3(2)	33(0)	0,3(3)	84(27)	2(4)	20(28)
Ag1- Пример 4- 4	MP-PEG12- VKG-7- MAD- MDCPT	1,9%	2(2)	36(1)	0,3(3)	33(33)	2(3)	20(27)
Ag1- Пример 4-	MP- Lys(PEG12	2,3%	3(2)	42(0)	0,4(4)	86(36)	2(3)	19(32)

5)-VKG-7- MAD- MDCPT							
Ag1- Пример 5- 1r	MP-PEG4- VKE-7- MAD- MDCPT		-	>1K(ND)	1(7)	-	>1K(ND)	-
Ag1- Пример 5- 1s	MP-PEG4- VEE-7- MAD- MDCPT		-	14(2)	0,04 (2)	-	0,4 (2)	-
Ag1- Пример 8- 1a	mc-gly-gly- phe-gly- NHCH2- DXd(1)		15 (4)	89(1)	0,5(2)	>1K(68)	10(5)	>1K(57)

[0412] Таблица 6. Оценка *in vitro* камптотецина на основе пептидов (DAR=8), направленного на различные злокачественные клетки, экспрессирующие Ag1, по сравнению с несвязывающими контрольными (h00) ADC.

[0413] Таблица 6А. Злокачественные клетки почек (786-O), злокачественные клетки поджелудочной железы (ВхРС3), злокачественные клетки печени (HepG2), MDR(-) и MDR(+) клетки острого промиелоцитарного лейкоза (HL-60 и HL60/RV, соответственно) и клетки лимфомы Ходжкина (L540cy).

[0414] Таблица 6В. Клетки множественной миеломы (MM.R1), клетки острого миелоидного лейкоза (MOLM13), клетки лимфомы Беркитта (Ramos), клетки меланомы (SK-MEL-5) и злокачественные клетки В-лимфоцитов (SU-DHL-4 и U266).

Таблица 6А

ADC (антитело- лекарственное средство)	786-O	ВхРС3	HepG2	HL-60	HL60/RV	L540cy
Ag1-Пример 1-1	27(23)	47(33)	36(36)	216(3)	104(33)	7(2)
h00-Пример 1-1	>1K(100)	>1K(98)	>1K(ND)	>1K(ND)	>1K(83)	>1K(ND)
Ag1-Пример 2-1	>1K(50)	855(50)	68(41)	987(ND)	>1K(ND)	15(1)
h00-Пример 2-1	>1K(97)	>1K(ND)	>1K(ND)	>1K(ND)	>1K(84)	>1K(100)
Ag1-Пример 3-1	>1K(44)	190(43)	199(15)	>1K(ND)	>1K(62)	160(36)
h00-Пример 3-1	>1K(92)	>1K(100)	>1K(95)	>1K(94)	>1K(ND)	>1K(100)

Ag1-Пример 7-1	197(21)	46(36)	122(43)	843(ND)	>1K(ND)	23(1)
Ag1-Пример 6-1	>1K(86)	>1K(ND)	>1K(ND)	>1K(ND)	>1K(ND)	77(9)
Ag1-Пример 9-1a	625(ND)	328(41)	224(35)	307(32)	>1K(ND)	53(1)
h00-Пример 9-1a	>1K(ND)	635(49)	646(35)	>1K(ND)	>1K(ND)	930(ND)
Ag1-Пример 9-1b	>1K(50)	939(39)	490(20)	>1K(51)	>1K(94)	121(1)
h00-Пример 9-1b	>1K(82)	>1K(ND)	923(ND)	>1K(ND)	>1K(ND)	>1K(ND)
Ag1-Пример 10-1a	7(9)	31(31)	-	113(4)	>1K(97)	4(3)
h00-Пример 10-1a	>1K(99)	>1K(100)	-	>1K(ND)	>1K(ND)	>1K(86)
Ag1-Пример 10-1b	10(10)	37(34)	-	119(4)	>1K(93)	5(3)
h00-Пример 10-1b	>1K(98)	>1K(100)	-	>1K(ND)	>1K(94)	>1K(89)

Таблица 6В

ADC (антитело- лекарственное средство)	MM.1R	MOLM13	Ramos	SK-MEL-5	SU-DHL-4	U266
Ag1-Пример 1-1	4(0)	58(0)	ND(ND)	164(31)	2(4)	17(27)
h00-Пример 1-1	>1K(ND)	>1K(92)	ND(ND)	>1K(ND)	>1K(ND)	>1K(ND)
Ag1-Пример 2-1	18(0)	429(ND)	4(2)	>1K(57)	27(3)	254(30)
h00-Пример 2-1	>1K(94)	>1K(ND)	>1K(77)	>1K(88)	>1K(86)	~1K(ND)
Ag1-Пример 3-1	>1K(85)	183(4)	ND(ND)	>1K(55)	>1K(ND)	127(37)
h00-Пример 3-1	>1K(87)	>1K(100)	ND(ND)	>1K(ND)	>1K(ND)	>1K(ND)
Ag1-Пример 7-1	38(6)	170(2)	3(2)	367(14)	14(2)	85(24)
Ag1-Пример 6-1	>1K(38)	255(16)	14(6)	>1K(71)	421(10)	>1K(ND)
Ag1-Пример 9-1a	11(1)	54(0)	0,5(3)	385(47)	7(4)	192(21)
h00-Пример 9-1a	811(ND)	>1K(ND)	329(ND)	>1K(ND)	572(ND)	>1K(ND)
Ag1-Пример 9-1b	19(2)	80(1)	1(4)	>1K(64)	11(4)	334(37)
h00-Пример 9-1b	981(ND)	>1K(ND)	377(ND)	>1K(ND)	569(ND)	>1K(ND)
Ag1-Пример 10-1a	3(2)	59(2)	0,2(3)	128(44)	2(4)	37(40)
h00-Пример 10-1a	>1K(65)	>1K(66)	>1K(86)	>1K(93)	>1K(89)	>1K(69)
Ag1-Пример 10-1b	2(0)	65(0)	1(3)	273(38)	1(3)	30(38)
h00-Пример 10-1b	>1K(73)	>1K(68)	>1K(100)	>1K(ND)	>1K(ND)	>1K(65)

[0415] Таблица 7. Цитотоксическая активность камптотециновых соединений в виде свободных лекарственных средств.

[0416] Таблица 7А. Злокачественные клетки почек (786-О), злокачественные клетки поджелудочной железы (ВхРС3), злокачественные клетки печени (НерG2), MDR(-) и MDR(+) клетки острого промиелоцитарного лейкоза (HL-60 и HL60/RV, соответственно), клетки лимфомы Ходжкина (L540cy) и клетки множественной миеломы (MM, 1R).

[0417] Таблица 7В. Клетки острого миелоидного лейкоза (MOLM-13), клетки лимфомы Беркитта (Ramos), клетки меланомы (SK-MEL-5) и злокачественные клетки В-лимфоцитов (SU-DHL-4 и U266).

[0418] +++++ IC₅₀ от 0,1 до 1 нМ, +++ IC₅₀ от 1 до ≤10 нМ, ++ IC₅₀ от 10 до ≤ 100 нМ, + IC₅₀ от 100 до ≤ 1000 нМ, IC₅₀ > 1000 нМ.

Таблица 7А

Соединение №	786-О	ВхРС3	HL-60	HL60/RV	L540cy	MM.1R
6	+++	+++	ND	++++	++++	+++
6b	+++	+++	ND	+++	+++	+++
6c	+++	+++	ND	+++	+++	+++
6d	+++	+++	+++	+++	+++	+++
6j	+++	+++	++	+++	+++	+++
6e	++++	+++	+++	+++	++++	++++
6k	+++	+++	+	++	+++	+++
6f	+++	+++	++	+++	+++	+++
6l	+++	+++	+++	+++	+++	+++
6g	+++	+++	++	+++	+++	+++
6p	++++	++++	++	+++	++++	++++
6h	++++	+++	++	++	+++	+++
6m	++++	+++	++	+++	++++	++++
6i	+++	+++	++	+++	+++	+++
6n	+++	+++	++	+++	+++	+++
6o	+++	+++	+	++	+++	+++
5e	++	++	++	+	+++	+++
5	+++	++	++	++	+++	+++
5f	+++	++	++	+	+++	+++
5a	+++	+++	++	+++	+++	+++
5g	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5b	+++	+++	++	+++	++++	+++
5h	+++	++	++	++	+++	+++

5c	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5i	+++	+++	++	+++	+++	+++
5d	+++	+++	++	+++	+++	+++
5j	+++	+++	++	+++	+++	+++
5k	+++	+++	++	+++	+++	+++
5q	++	+	+	+	++	++
5l	++	++	++	++	++	+++
5r	+++	+++	++	++	+++	+++
5m	++	+	+	□	++	++
5s	++	++	+	++	++	++
5n	+++	++	+	+	+++	+++
5t	+++	++	+	++	+++	+++
5o	++	++	+	++	+++	++
5u	++	++	+	+	++	++
5p	++	++	+	+	++	+++
5w	++	++	+	++	++	++
5x	++	+	+	+	++	++
5y	+++	+++	++	++	+++	+++
4c	++	+	+	+	++	++
4d	+	+	+	□	+	+++
4e	□	+	□	□	+	ND
5z	+++	++	++	++	+++	+++
8b	+++	+++	++	++	+++	+++
5aa	++	+	+	+	++	++
8a	+++	++	+	++	+++	+++
6q	++	++	+	+	++	++
9b	++++	+++	++	++	++++	++++
4	+++	+++	++	++	+++	+++
4b	+	+	+	□	++	++
6r	+++	+++	++	+++	+++	+++
8c	+++	+++	++	+++	++++	+++
9a	+++	++	+	+	+++	+++
4a	++	++	++	++	++	+++

8d	+++	+++	+++	++	++	+++
6a	+++	+++	+++	+++	++++	+++

Таблица 7В

Соединение №	MOLM13	Ramos	SK-MEL-5	SU-DHL-4	U266
6	++++	++++	+++	++++	+++
6b	+++	+++	+++	+++	+++
6c	+++	++++	+++	++++	+++
6d	+++	++++	+++	++++	+++
6j	+++	++++	+++	+++	+++
6e	+++	++++	+++	++++	+++
6k	++	++++	+++	+++	+++
6f	+++	+++	+++	+++	+++
6l	+++	++++	+++	+++	+++
6g	+++	_++++	+++	+++	+++
6p	+++	++++	++++	++++	++++
6h	++	++++	+++	++++	+++
6m	+++	++++	+++	++++	+++
6i	+++	++++	+++	++++	+++
6n	+++	+++	+++	+++	+++
6o	++	++++	+++	+++	+++
5e	+++	+++	++	+++	++
5	+++	+++	+++	+++	+++
5f	+++	+++	+++	+++	+++
5a	+++	+++	+++	+++	+++
5g	+++	++++	+++	+++	+++
5b	++	++++	+++	++++	+++
5h	+++	+++	++	+++	++
5c	+++	++++	+++	+++	+++
5i	+++	+++	+++	+++	+++
5d	+++	+++	+++	+++	+++
5j	+++	+++	+++	+++	+++
5k	+++	+++	+++	+++	+++
5q	++	++	+	++	++
5l	+++	+++	++	+++	++

5r	++	+++	+++	+++	+++
5m	++	+++	+	++	++
5s	++	++	++	++	++
5n	+	+++	++	+++	++
5t	++	+++	++	+++	++
5o	++	+++	++	++	++
5u	++	+++	++	++	++
5p	++	+++	++	++	++
5w	++	+++	++	++	++
5x	++	++	++	++	++
5y	+++	++++	+++	+++	+++
4c	+++	+++	+	++	++
4d	++	++	++	++	++
4e	+	+	ND	□	ND
5z	++	+++	++	+++	++
8b	++	++++	+++	+++	+++
5aa	++	+++	++	++	++
8a	++	+++	++	+++	++
6q	++	++	+	++	++
9b	++	++++	+++	++++	+++
4	+++	+++	+++	++++	+++
4b	++	++	+	++	++
6r	+++	++++	+++	+++	+++
8c	+++	++++	+++	++++	+++
9a	++	++++	+++	+++	+++
4a	+++	++	+++	++	+++
8d	+++	++	+++	+++	+++
6a	+++	++++	+++	++++	+++

Методы моделирования in vivo

[0419] Все эксперименты проводились по согласованию с *Комитетом по уходу и использованию лабораторных животных* в лаборатории, полностью аккредитованном Ассоциацией по оценке и аккредитации условий содержания лабораторных животных. Эксперименты по эффективности проводились на ксенотрансплантатной модели 786-O, L540cy и Karpas/Karpas-BVR, DelBVR, Karpas 299, L428, DEL-15 и L82. Опухолевые клетки в виде клеточной суспензии имплантировали подкожно мышам с ослабленным

иммунитетом SCID или голым мышам. После приживления опухоли, когда средний объем опухоли достигал примерно 100 мм^3 , мышей случайным образом распределяли в исследуемые группы (по 5 мышей на группу). ADC или контроли вводили однократно внутривенно. Среднее количество соединения лекарственное средство-линкер, присоединенного к антителу, указано в скобках рядом с ADC (также называемое в настоящем описании числом соотношения лекарственное средство-антитело (DAR), например, DAR4, DAR8 и т.д.). Объем опухоли как функцию времени определяли по формуле $(L \times W^2)/2$. Когда объем опухоли достигал 750 мм^3 , животных умерщвляли. Мыши, показавшие устойчивую регрессию, прекращали участие в исследовании через 10-12 недель после имплантации.

[0420] Животным имплантировали клетки L540cy. Через 7 дней животных разделяли на группы со средним размером опухоли 100 мм^3 , затем обрабатывали однократной дозой камптотецинового ADC сAC10-Пример 8-1a (4) или сAC10-Пример 4-1 (4), в количестве 3 или 10 мг/кг. В другом эксперименте обрабатывали однократной дозой камптотецинового ADC сAC10-Пример 4-1 (8) или сAC10-Пример 4-3 (8), составляющей 1 или 3 мг/кг. В ходе исследования, животных оценивали на предмет размера опухоли и прижизненных симптомов. Результаты показаны на фигурах 1A и 1B.

[0421] Животным имплантировали клетки 786-O. На 10 день животных разделяли на группы со средним размером опухоли 100 мм^3 , затем обрабатывали однократной дозой камптотецинового ADC сAC10-Пример 8-1a (4) или сAC10-Пример 4-1 (4), составляющей 10 мг/кг. В ходе исследования животных оценивали на предмет размера опухоли и прижизненных симптомов. Результаты показаны на фигуре 2.

[0422] Животным имплантировали смесь 1:1 CD30+ Karpas299 и CD30-Karpas299 - брентуксимаб ведотин-резистентных (Karpas299-BVR) клеток. Через 8 дней животных разделяли на группы со средним размером опухоли 100 мм^3 , затем обрабатывали однократной дозой камптотецинового ADC сAC10-Пример 8-1a (4) или сAC10-Пример 4-1 (4), составляющей 10 мг/кг. В другом эксперименте, животных обрабатывали однократной дозой камптотецинового ADC сAC10-Пример 8-1a (8), сAC10-Пример 4-1 (8) или сAC10-Пример 4-3 (8), составляющей 3 или 10 мг/кг. В ходе исследования животных оценивали на предмет размера опухоли и прижизненных симптомов. Результаты показаны на фигуре 3A-3C.

[0423] Животным имплантировали клетки DelBVR. На 7 день животных разделяли на группы со средним размером опухоли 100 мм^3 , затем обрабатывали однократной дозой камптотецинового ADC сAC10-Пример 4-1 (8), сAC10-Пример 4-3 (8), сAC10-Пример 4-4 (8) или сAC10-Пример 4-5 (8), составляющей 0,3 или 1 мг/кг. В ходе исследования животных оценивали на предмет размера опухоли и прижизненных симптомов. Результаты показаны на фигуре 4.

[0424] Животным имплантировали клетки DelBVR. На 7 день животных разделяли на группы со средним размером опухоли 100 мм^3 , затем обрабатывали однократной дозой камптотецинового ADC сAC10-Пример 4-1 (4) или сAC10-Пример 4-1 (8), составляющей

1 или 2 мг/кг, или однократной дозой камптотецина ADC сAC10-Пример 4-3 (4) или сAC10-Пример 4-3 (8), составляющей 0,6 или 1 мг/кг. В ходе исследования животных оценивали на предмет размера опухоли и прижизненных симптомов. Результаты показаны на фигуре 5.

[0425] Животным имплантировали клетки Karpas299. Через 7 дней животных разделяли на группы со средним размером опухоли 100 мм³, затем обрабатывали однократной дозой несвязывающего контроля h00-Пример 4-3 (8) или камптотецинового ADC сAC10-Пример 4-3 (8), составляющей 1, 3 или 10 мг/кг, либо однократной, либо многократной дозой. В ходе исследования животных оценивали на предмет размера опухоли и прижизненных симптомов. Результаты показаны на фигуре 6.

[0426] Животным имплантировали клетки L428. Через 7 дней животных разделяли на группы со средним размером опухоли 100 мм³, затем обрабатывали камптотециновым ADC сAC10-Пример 4-3 (8) в дозе 1, 3 или 10 мг/кг, либо однократной, либо многократной дозой. В ходе исследования животных оценивали на предмет размера опухоли и прижизненных симптомов. Результаты показаны на фигуре 7.

[0427] Животным имплантировали клетки DEL-15. Через 7 дней животных разделяли на группы со средним размером опухоли 100 мм³, затем обрабатывали однократной дозой камптотецинового ADC сAC10-Пример 4-3 (8), составляющей 0,1, 0,3 или 1 мг/кг. В ходе исследования животных оценивали на предмет размера опухоли и прижизненных симптомов. Результаты показаны на фигуре 8.

[0428] Животным имплантировали клетки L82. Через 7 дней животных разделяли на группы со средним размером опухоли опухоли 100 мм³, затем обрабатывали однократной дозой камптотецинового ADC сAC10-Пример 4-1 (8), составляющей 1 мг/кг. В ходе исследования животных оценивали на предмет размера опухоли и прижизненных симптомов. Результаты показаны на фигуре 9.

[0429] Данные на фигурах 1-9 показали, что все ADC сAC10-Пример 4-1, сAC10-Пример 4-3, сAC10-Пример 4-4 и сAC10-Пример 4-5 проявляли противоопухолевую активность *in vivo* на исследуемых моделях. Данные на фигурах 1-9 также показали, что ADC сAC10-Пример 4-1 и сAC10-Пример 4-3 показали улучшенную активность *in vivo* по сравнению с ADC сAC10-Пример 8-1a, включая улучшенную активность в модели неканонического фенотипа BVR Karpas/Karpas (как показано на фигуре 3A-3C).

Определение стабильности ADC в плазме

[0430] Все виды ADC нормализовали до 2,5 мг/мл. Одноразовые аликвоты цитратной плазмы мыши (линия Balb C) объемом 2,5 мл перед использованием хранили при -80°C. Исходный раствор в ADC в плазме мышей готовили следующим образом. ADC (50 мкг) в 200 мкл плазмы (0,25 мг/мл на контрольный момент времени) с конечной концентрацией PBS, составляющей 13,85. Образцы плазмы инкубировали при 37 градусах Цельсия в течение 6 часов, 1 дня, 3 дней и 7 дней и отбирали образцы в двух экземплярах. После каждого контрольного момента времени образцы хранили при -80 градусов Цельсия, пока они не были обработаны для анализа. Подготавливали 50% взвесь IgSelect в

1×PBS. В каждый контрольный момент времени добавляли 50 мкл взвеси IgSelect в 3 мкм фильтровальный планшет и применяли вакуум для удаления супернатанта. Смолу промывали (2×1 мл, 1×PBS) с применением вакуума после каждой промывки. Наносили образец (180 мкл) и фильтровальный планшет встряхивали (1200 об/мин) в течение 1 часа при 4 градусах Цельсия. Затем применяли вакуум для удаления плазмы. Смолу промывали 1 мл PBS+50 mM NaCl, 1 мл PBS и 1 мл воды с применением вакуума после каждой промывки. Затем планшет для образцов центрифугировали при 500 × g в течение 2 минут над 350 мкл планшетом для сбора материала Waters. ADC элюировали из смолы обработкой 50 мкл Gly pH3 (2 × 50 мкл), перемешивая при 500 об/мин в течение 2 мин при 4°C, центрифугировали при 500 × g в течение 3 мин в 350 мкл 96-луночном планшете, где каждая лунка содержала 10 мкл буфера Трис, 1M, pH7,4. Концентрацию ADC определяли с использованием планшет-ридера с поглощением в УФ и видимой областях спектра. Образцы дегликозилировали с использованием 1 мкл ПГНазы на образец и инкубировали в течение 1 часа при 37 градусах Цельсия. Каждый ADC восстанавливали путем добавления 12 мкл 100 mM DTT и инкубации в течение 15 минут при 37 градусах Цельсия. Наконец, образцы (10 или 50 мкл для инъекций) анализировали с использованием 15-минутного метода PLRP-MS для оценки композиции легких и тяжелых цепей для количественной оценки нагрузки лекарственного средства в каждый контрольный момент времени. Как показано на фиг.10, ADC на основе соединения примера 4-1 продемонстрировал улучшенную стабильность соединения лекарственное средство-линкер *ex vivo* в плазме мышей по сравнению с ADC на основе соединения примера 8-1a и примера 8-1b, что способствовало повышению активности *in vivo*.

Экспериментальный метод анализа фармакокинетики ADC

[0431] Эта процедура описывает метод количественного определения общего человеческого IgG в плазме грызунов, содержащей K₂EDTA.

[0432] В этом методе используются конъюгированные с биотином мышинные mAb против каппа легкой цепи человека (SDIX) в качестве реагента захвата и то же самое антитело, конъюгированное с Alexafluor-647, в качестве реагента для выявления, для количественного определения исследуемого образца человеческого антитела и/или конъюгата антитело-лекарственное средство в виде суммарного антитела (TAб) в плазме грызунов с K₂EDTA. Анализ проводили с использованием платформы GyroLab xPlore, в которой используется диск, содержащий микрофлюидные структуры, с покрытыми стрептавидином гранулами нанолитрового размера столбцами, на которых проводится анализ связывания с лигандом. Вкратце, исследуемые образцы разбавляли наивной объединенной плазмой K₂EDTA грызунов, по мере необходимости, а затем, вместе с калибраторами, контролями и холостой пробой плазмы, разбавляли буфером Rextip-NX при минимальном требуемом разбавлении (MRD) 1:10 перед загрузкой в 96-луночный планшет для образцов. Бiotин-античеловеческий каппа реагент захвата при 1 мкг/мл в фосфатно-солевом буфере pH 7,4 с Tween-20 (PBS-T), AF647-античеловеческий каппа проявляющий реагент при 25 нМ в буфере Rextip F и PBS-T промывочный буфер

добавляли в 96-луночный планшет с реагентами, и оба планшета герметически закрывали и добавляли в прибор. В программном обеспечении GyroLab Control был создан исполнительный файл, и шаблон для нанесения проб был экспортирован в Excel, что позволило ввести обозначения образцов и коэффициенты разведения. Затем этот шаблон импортировали обратно в GyroLab Control перед запуском цикла. Анализ был последовательным: биотинилированный реагент захвата сначала наносили на CD BioAffy1000, диск промывали PBS-T, а затем добавляли разбавленную холостую пробу плазмы, стандарты, контроли и образцы. После последующей промывки PBS-T, наносили конъюгированный с AF647 проявляющий реагент. После последней промывки PBS-T, каждую колонку диска считывали с помощью индуцированной лазером флуоресценции детектирования (возбуждающая длина волны: 635 нм). Обнаруженный ответ при 1% PMT подвергали 5-параметрической логистической регрессии (5-PL) с использованием программного обеспечения Gyrolab Evaluator для преобразования флуоресцентного ответа в нг/мл суммарного антитела, присутствующего в образцах.

[0433] Диапазон анализа для количественного определения общего человеческого IgG в плазме грызунов с K₂EDTA составлял от 22,9 нг/мл (LLOQ) до 50000 нг/мл (ULOQ) для исследуемых образцов неконъюгированных антител и от 22,9 нг/мл (LLOQ) до 100000 нг/мл (ULOQ) для ADC. Уровни контроля качества устанавливали на уровне 80,0 нг/мл (LQC), 800 нг/мл (MQC), 8000 нг/мл (HQC2) и 40000 нг/мл (HQC1).

[0434] Камптотециновые ADC (DAR8) инкубировали при 37 градусах Цельсия в плазме мыши (Balb C). Образцы плазмы отбирали через 6, 24, 72 и 7 дней. ADC выделяли из плазмы с помощью IgSelect, дегликозилировали ПГНазой и восстанавливали дитиотреитолом. Для количественной оценки нагрузки лекарственного средства в каждый контрольный момент времени, как тяжелую, так и легкую цепь ADC оценивали с помощью PLRP-MS.

[0435] Крысам вводили 1 мг/кг исходного IgG или ADC IgG-камптотецин примеров 4-1 и примера 8а. Образцы из запланированных заборов крови обрабатывали, и человеческие антитела IgG и ADC захватывали из плазмы с помощью биотин-конъюгированных мышинных mAb к каппа легкой цепи человека и гранул, покрытых стрептавидином. Человеческое антитело IgG и ADC количественно определяли с помощью анализа ИФА с использованием AF647-античеловеческого каппа реагента для выявления. Как показано на фиг.11, ADC на основе соединения примера 4-1 продемонстрировал низкое поглощение клетками Купфера (макрофагами печени) по сравнению с ADC на основе соединения примера 8-1а. Анализ является показателем выведения ADC in vivo печенью и предполагает низкую скорость выведения ADC на основе соединения примера 4-1.

Анализ клеток Купфера in vitro

[0436] ADC, исследованные в анализе клеток Купфера, дважды помечали флуоресцентным красителем и цитотоксическими малеимидными соединениями лекарственное средство-линкер. Сначала антитела конъюгировали с флуоресцентным

красителем (эфир AlexaFluor 647 NHS, ThermoFisher, Part # A20006) до среднего значения DAR=4. Затем меченные красителем антитела восстанавливали с использованием TCEP и конъюгировали с малеимидными соединениями лекарственное средство-линкер до среднего DAR=8. Очищенные крысиные клетки Купфера (Life Technologies Corp. Part# RTKCCS) помещали на покрытые коллагеном I 96-луночные планшеты (ThermoFisher, Part# A1142803) при плотности 50000 клеток/лунку и оставляли для адгезии к планшету в течение 24-48 часов перед добавлением ADC. Клетки Купфера инкубировали с ADC в концентрации 0,1 мг/мл в среде для культивирования клеток в течение 24 часов. После 24-часовой инкубации среду удаляли, клетки диссоциировали с помощью Versene, переносили в планшет с коническим дном и промывали один раз при осаждении клеток в центрифуге при $400 \times g$ в течение 5 мин, затем ресуспендировали в PBS+2% BSA. Скринер Intellicyte iQue, снабженный программным обеспечением ForeCyt, использовали для подсчета и измерения поглощения ADC клетками по средней интенсивности флуоресценции (MFI) для каждого условия обработки. Как показано на фиг.12, ADC на основе соединения примера 4-1 (DAR8) показал низкое поглощение клеток Купфера (макрофагами печени) по сравнению с ADC на основе соединения примера 8-1a (DAR8). Анализ является показателем выведения ADC *in vivo* печенью и предполагает низкую скорость выведения ADC на основе соединения примера 4-1.

Исследование гидрофобности с использованием хроматографии с гидрофобным взаимодействием (HIC)

[0437] Несвязанное с соединением антитело сAC10, сAC10-пример 4-1 (8) и сAC10-пример 8-1a (8) (приблизительно 75 мкг) вводили в HIC колонку с непористыми частицами, связанными с бутильными группами (2,5 мкм, 4,6 мм \times 3,5 мм, Tosoh Bioscience, PN 14947), при 25°C и элюировали в течение 12 мин линейным градиентом от 0 до 100% В при скорости потока 0,8 мл/мин (подвижная фаза А, 1,5М сульфат аммония в 25 мМ фосфате калия, рН 7; подвижная фаза В, 25 мМ фосфат калия, рН 7, 25% изопропанол). Систему ВЭЖХ Waters Alliance, оснащенную многоволновым детектором и программным обеспечением Empower3, использовали для определения и количественного измерения видов антител с различными соотношениями лекарственных средств на антитело. Как показано на фигуре 13, ADC сAC10-пример 4-1 демонстрировал пониженную гидрофобность по сравнению с ADC сAC10-пример 8-1a или несвязанным ни скаким соединением антителом сAC10. Гидрофобность ADC способствует выведению ADC и неспецифическому поглощению ADC.

Исследование высвобождения лекарственного средства

[0438] Высвобождение лекарственного средства *in vitro* из ADC сAC10-Пример 4-3 (DAR 8) изучали на линии клеток ALCL Karpas 299 и линии клеток HL L540су. Несвязывающий ADC h00-пример 4-3 (DAR 8) использовали в качестве контроля. Клетки Karpas 299 (CD30-позитивные, Т-клеточная лимфома) и L540су (CD30-позитивные, лимфома Ходжкина) высевали с концентрацией 5E6 (5×10^6) клеток/мл (всего 5E6 клеток) в свежую среду (RPMI+10% ФБС, RPMI+20% ФБС, соответственно). После посева в

клетки добавляли сAC10-пример 4-3 ADC (DAR 8) и h00-пример 4-3 (DAR 8) в концентрации 10 нг/мл культуры. Обработанные клетки инкубировали при 37°C и собирали через 24 часа после введения дозы. После сбора клетки осаждали, промывали PBS и замораживали в небольшом объеме PBS. Для получения аналитических масс-спектров (ЖХ-МС/МС) клетки экстрагировали холодным метанолом, содержащим внутренний стандарт, и инкубировали на льду. После инкубации, образцы центрифугировали и супернатант (содержащий экстрагированные малые молекулы) удаляли и сушили в атмосфере азота. Высушенные образцы восстанавливали в 95% воды, содержащей 0,1% муравьиной кислоты, и вводили в колонку Waters Acquity BEH C18 (1,7 мкм, 2,1×50 мм), связанную с трехкврупольным масс-спектрометром Sciex 6500+. Как показано на фиг.14А и 14В, свободные лекарственные средства, соединение 4 и соединение 4b, присутствуют в клетках, обработанных ADC сAC10-пример 4-3 (DAR 8), но не обнаруживаются в клетках, обработанных ADC h00-пример 4-3 (DAR 8).

Таблица последовательностей

SEQ ID NO	Описание	Последовательность
1	сAC10 CDR-H1	DYYIT
2	сAC10 CDR-H2	WIYPGSGNTKYNEKFKG
3	сAC10 CDR-H3	YGNWYWFAY
4	сAC10 CDR-L1	KASQSVDFDGDSYMN
5	сAC10 CDR-L2	AASNLES
6	сAC10 CDR-L3	QQSNEDPWT
7	сAC10 VH	QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYITWVKQKP GQGLEWIGWIYPGSGNTKY NEKFKGKATLTVDTSSTAFMQLSSLTSEDVAVYFCANYG NYWFAYWGQGTQVTVSA
8	сAC10 VL	DIVLTQSPASLA VSLGQRATISCKASQSVDFDGDSYMNWY QQKPGQPPKVLIIAASNLES GIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDPWT FGGGTKLEIK
9	сAC10 HC	QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYITWVKQKP GQGLEWIGWIYPGSGNTKY NEKFKGKATLTVDTSSTAFMQLSSLTSEDVAVYFCANYG

		<p> NYWFAYWGQGTQVTVSAAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK </p>
10	cAC10 HC v2	<p> QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYITWVKQKP GQGLEWIGWIYPGSGNTKY NEKFKGKATLTVDTSSSTAFMQLSSLTSEDVAVYFCANYG NYWFAYWGQGTQVTVSAAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG </p>
11	cAC10 LC	<p> DIVLTQSPASLA VSLGQRATISCKASQSVDFDGD SYMNWY QKPGQPPK VLIYAASNLES GIPARFSGSGS GDTFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDPWT FGGGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC </p>

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Камптотециновый конъюгат, имеющий формулу:



или его фармацевтически приемлемая соль, где

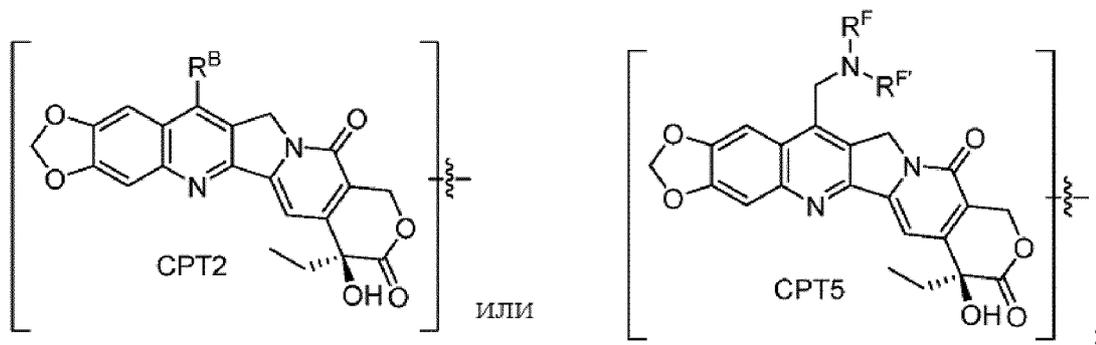
L представляет собой лигандную единицу;

Q представляет собой линкерную единицу, имеющую формулу, выбранную из:



где Z представляет собой единицу вставки, A представляет собой связь или единицу соединения; L^P представляет собой единицу параллельного соединения; S^* представляет собой связь или разделительный агент; RL представляет собой пептид, содержащий от 2 до 8 аминокислот; и Y представляет собой спейсерную единицу;

D представляет собой единицу лекарственного средства, выбранную из:



где

R^B представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из H, $-(C_1-C_4)$ алкил-ОН, $-(C_1-C_4)$ алкил-О- (C_1-C_4) алкил- NH_2 , $-C_1-C_8$ алкила, C_1-C_8 галогеналкила, C_3-C_8 циклоалкила, C_3-C_8 циклоалкил C_1-C_4 алкила, фенила и фенил C_1-C_4 алкила;

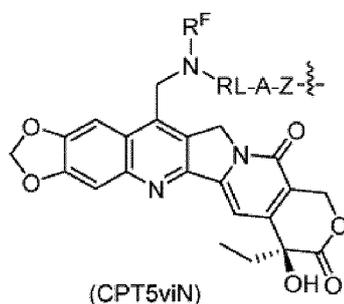
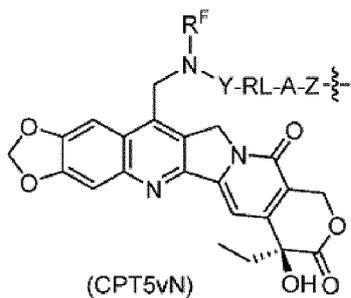
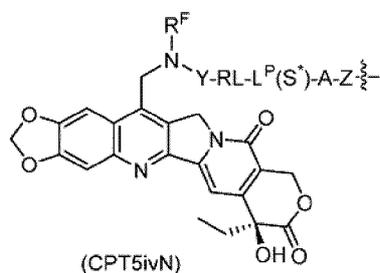
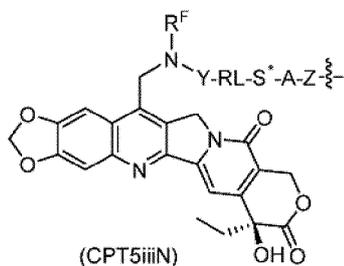
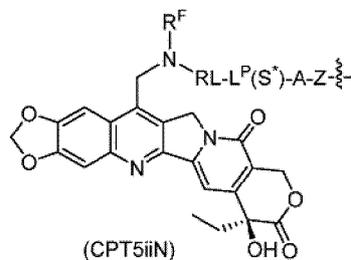
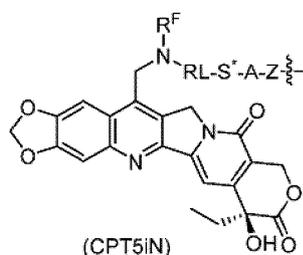
каждый R^F и $R^{F'}$ является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из H, C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 гидроксилалкила, C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_4 алкиламино C_1-C_8 алкила, $(C_1-C_4$ гидроксилалкил) $(C_1-C_4$ алкил)амино C_1-C_8 алкила, ди $(C_1-C_4$ алкил)амино C_1-C_8 алкила, C_1-C_4 гидроксилалкил C_1-C_8 аминоалкила, C_2-C_6 гетероалкила, C_1-C_8 алкилC(O)-, C_1-C_8 гидроксилалкилC(O)-, C_1-C_8 аминоалкилC(O)-, C_3-C_{10} циклоалкила, C_3-C_{10} циклоалкил C_1-C_4 алкила, C_3-C_{10} гетероциклоалкила, C_3-C_{10} гетероциклоалкил C_1-C_4 алкила, фенила, фенил C_1-C_4 алкила, дифенил C_1-C_4 алкила, гетероарила и гетероарил C_1-C_4 алкила; или R^F и $R^{F'}$ объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен, с образованием 5-, 6- или 7-членного кольца, имеющего от 0 до 3 заместителей, выбранных из галогена, C_1-C_4 алкила, ОН, OC_1-C_4 алкила, NH_2 , NHC_1-C_4 алкила и $N(C_1-C_4$ алкил) $_2$;

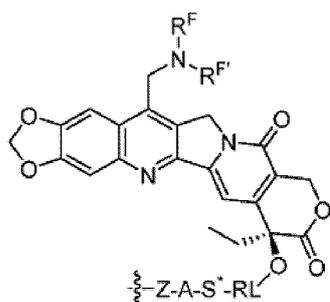
и где циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные части R^B , R^F и $R^{F'}$ замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1-C_4 алкила, ОН, OC_1-C_4 алкила, NH_2 , NHC_1-C_4 алкила и $N(C_1-C_4$ алкил) $_2$; и

p равно от приблизительно 1 до приблизительно 16;

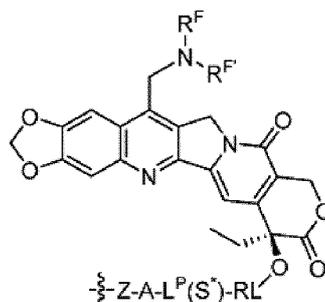
где Q присоединен через любую из гидроксильных или аминогрупп, присутствующих на CPT2 или CPT5.

2. Камптотециновый конъюгат по п.1, в котором D имеет формулу CPT2.
3. Камптотециновый конъюгат по п.1 или 2, в котором R^B представляет собой $-(C_1-C_4)$ алкил-ОН или $-(C_1-C_4)$ алкил-О- (C_1-C_4) алкил- NH_2 .
4. Камптотециновый конъюгат по п.3, в котором R^B представляет собой $-CH_2-OH$ или $-CH_2-O-CH_2-NH_2$.
5. Камптотециновый конъюгат по п.1 или 2, в котором R^B является членом, выбранным из группы, состоящей из C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 галогеналкила, C_3-C_8 циклоалкила, C_3-C_8 циклоалкил C_1-C_4 алкила, фенила и фенил C_1-C_4 алкила.
6. Камптотециновый конъюгат по п.1 или 2, в котором R^B представляет собой C_1-C_8 алкил или C_1-C_8 галогеналкил.
7. Камптотециновый конъюгат по п.1, в котором D имеет формулу CPT5.
8. Камптотециновый конъюгат по п.1 или 7, в котором компонент -Q-D конъюгата имеет формулу, выбранную из (CPT5iN), (CPT5iiN), (CPT5iiiN), (CPT5ivN), (CPT5vN), (CPT5viN), (CPTiO), (CPT5iiO), (CPT5iiiO), (CPT5ivO), (CPT5vO) и (CPT5viO):

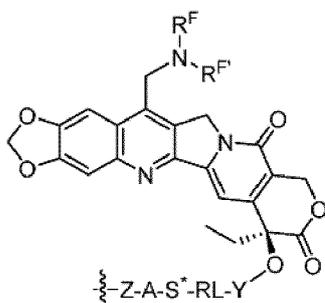




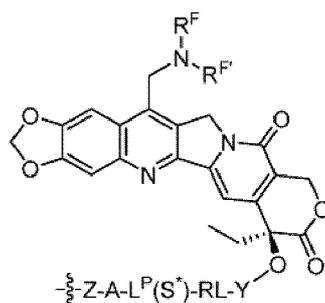
(CPT5iO)



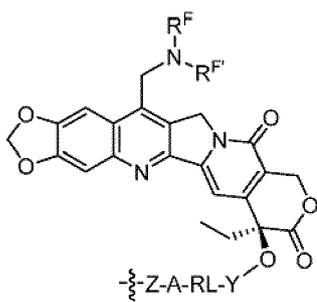
(CPT5iiO)



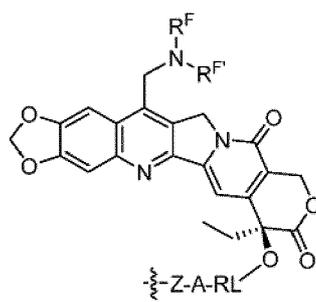
(CPT5iiiO)



(CPT5ivO)



(CPT5vO)



(CPT5viO)

9. Камптотециновый конъюгат по п.8, в котором каждый из R^F и $R^{F'}$ независимо выбран из группы, состоящей из H, C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_8 гидроксильного алкила, C_1 - C_8 аминоалкила, C_1 - C_4 алкиламино C_1 - C_8 алкила, $(C_1$ - C_4 гидроксильного алкил) $(C_1$ - C_4 алкил) амино C_1 - C_8 алкила, ди $(C_1$ - C_4 алкил) амино C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_4 гидроксильного алкил C_1 - C_8 аминоалкила, C_1 - C_8 алкил $C(O)-$, C_1 - C_8 гидроксильного алкил $C(O)-$ и C_1 - C_8 аминоалкил $C(O)-$; и

где циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные части R^F и $R^{F'}$ замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1 - C_4 алкила, OH, OC_1 - C_4 алкила, NH_2 , NHC_1 - C_4 алкила и $N(C_1$ - C_4 алкил) $_2$.

10. Камптотециновый конъюгат по п.8, в котором каждый из R^F и $R^{F'}$ независимо выбран из группы, состоящей из C_3 - C_{10} циклоалкила, C_3 - C_{10} циклоалкил C_1 - C_4 алкила, C_3 - C_{10} гетероциклоалкила, C_3 - C_{10} гетероциклоалкил C_1 - C_4 алкила, фенила, фенил C_1 - C_4 алкила, дифенил C_1 - C_4 алкила, гетероарила и гетероарил C_1 - C_4 алкила,

и где каждая из циклоалкильной, гетероциклоалкильной, фенильной и гетероарильной частей R^F и $R^{F'}$ независимо замещена заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1 - C_4 алкила, OH, OC_1 - C_4 алкила, NH_2 , NHC_1 - C_4 алкила и

$N(C_1-C_4 \text{ алкил})_2$.

11. Камптотециновый конъюгат по п.7 или 8, в котором R^F представляет собой H.

12. Камптотециновый конъюгат по п.8, в котором -Q-D компонент камптотецинового конъюгата имеет формулу, выбранную из (CPT5iN), (CPT5iiN), (CPT5iiiN), (CPT5ivN), (CPT5vN) и (CPT5viN).

13. Камптотециновый конъюгат по п.12, в котором компонент -Q-D конъюгата имеет формулу, выбранную из (CPT5iN), (CPT5iiN) и (CPT5viN).

14. Камптотециновый конъюгат по п.12 или 13, в котором R^F выбран из группы, состоящей из -H, C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 гидроксиалкила, C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_4 алкиламино C_1-C_8 алкила, (C_1-C_4 гидроксиалкил)(C_1-C_4 алкил)амино C_1-C_8 алкила, ди(C_1-C_4 алкил)амино C_1-C_8 алкила, C_1-C_4 гидроксиалкил C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_8 алкилC(O)-, C_1-C_8 гидроксиалкилC(O)- и C_1-C_8 аминоалкилC(O)-;

и причем циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные части R^F замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1-C_4 алкила, OH, OC_1-C_4 алкила, NH_2 , NHC_1-C_4 алкила и $N(C_1-C_4 \text{ алкил})_2$.

15. Камптотециновый конъюгат по п.12 или 13, в котором R^F выбран из группы, состоящей из C_3-C_{10} циклоалкила, C_3-C_{10} циклоалкил C_1-C_4 алкила, C_3-C_{10} гетероциклоалкила, C_3-C_{10} гетероциклоалкил C_1-C_4 алкила, фенила, фенил C_1-C_4 алкила, дифенил C_1-C_4 алкила, гетероарила и гетероарил C_1-C_4 алкила,

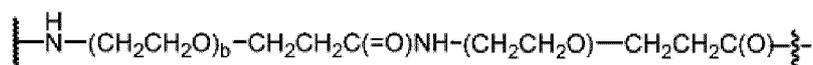
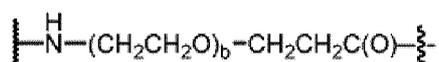
и где каждая из циклоалкильной, гетероциклоалкильной, фенильной и гетероарильной частей R^F и R^F независимо замещена заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1-C_4 алкила, OH, OC_1-C_4 алкила, NH_2 , NHC_1-C_4 алкила и $N(C_1-C_4 \text{ алкил})_2$.

16. Камптотециновый конъюгат по любому из пп. 1-15, в котором S^* представляет собой связь и Q представляет собой -Z-A-RL- или -Z-A-RL-Y-.

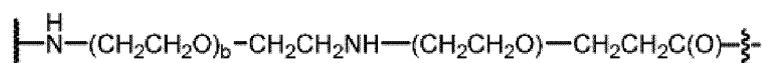
17. Камптотециновый конъюгат по любому из пп. 1-15, в котором S^* представляет собой разделительный агент, и Q представляет собой -Z-A- S^* -RL-; -Z-A- $L^P(S^*)$ -RL-; -Z-A- S^* -RL-Y-; или -Z-A- $L^P(S^*)$ -RL-Y-.

18. Камптотециновый конъюгат по п.17, в котором S^* представляет собой PEG единицу.

19. Камптотециновый конъюгат по п.18, PEG единица имеет формулу:

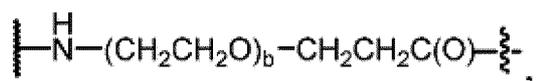


ИЛИ



где волнистая линия слева указывает место присоединения к A, волнистая линия справа указывает место присоединения к RL, и b представляет собой целое число от 2 до 20 или равно 2, 4, 8 или 12.

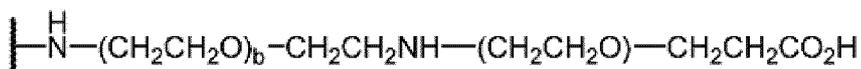
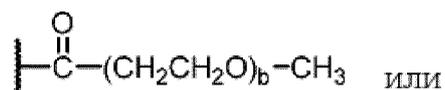
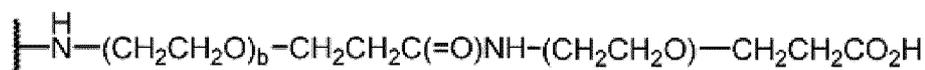
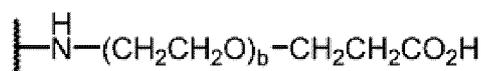
20. Камптотециновый конъюгат по п.19, в котором PEG единица имеет формулу:



где волнистая линия слева указывает место присоединения к А, волнистая линия справа указывает место присоединения к RL, и b представляет собой целое число от 2 до 20 или равно 2, 4, 8 или 12.

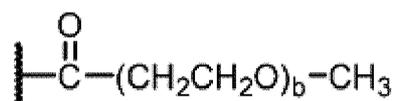
21. Камптотециновый конъюгат по п.17, в котором Q имеет формулу $-\text{Z}-\text{A}-\text{L}^{\text{P}}(\text{S}^*)-\text{RL}-$ или $-\text{Z}-\text{A}-\text{L}^{\text{P}}(\text{S}^*)-\text{RL}-\text{Y}-$, и S^* представляет собой PEG единицу, которая включает 2, 4, 8 или 12 субъединиц $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ и концевую блокирующую группу PEG единицы, которая представляет собой C_{1-4} алкил или C_{1-4} алкил- CO_2H .

22. Камптотециновый конъюгат по п.21, в котором S^* имеет формулу:



где волнистая линия указывает место присоединения к the единицу параллельного соединения (L^{P}), и b представляет собой целое число от 2 до 20 или равно 2, 4, 8 или 12.

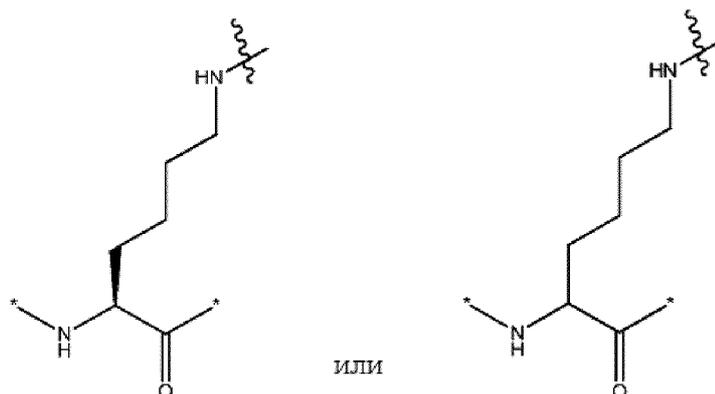
23. Камптотециновый конъюгат по п.22, в котором S^* имеет формулу:



где волнистая линия указывает место присоединения к единице параллельного соединения (L^{P}), и b представляет собой целое число от 2 до 20 или равно 2, 4, 8 или 12.

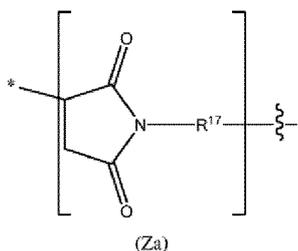
24. Камптотециновый конъюгат по любому из пп. 21-23, в котором L^{P} представляет собой лизин.

25. Камптотециновый конъюгат по п.24, в котором L^{P} имеет формулу:



где волнистая линия указывает место присоединения к разделительному агенту, и звездочки указывают место присоединения к А и RL.

26. Камптотециновый конъюгат по любому из пп. 1-25, в котором Z имеет формулу Za:



где звездочки указывают место присоединения к лигандной единице (L); волнистая линия указывает место присоединения к единице соединения (A); и R^{17} представляет собой $-C_1-C_{10}$ алкилен-, C_1-C_{10} гетероалкилен-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-, $-O-(C_1-C_8)$ алкилен-, -арилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен-, -арилен- C_1-C_{10} алкилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) карбоцикло-, $-(C_3-C_8)$ карбоцикло- C_1-C_{10} алкилен-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) гетероцикло-, $-(C_3-C_8)$ гетероцикло- C_1-C_{10} алкилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- $C(=O)-$, C_1-C_{10} гетероалкилен- $C(=O)-$, $-C_3-C_8$ карбоцикло- $C(=O)-$, $-O-(C_1-C_8)$ алкилен- $C(=O)-$, -арилен- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен- $C(=O)-$, -арилен- C_1-C_{10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) карбоцикло- $C(=O)-$, $-(C_3-C_8)$ карбоцикло- C_1-C_{10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_3-C_8$ гетероцикло- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) гетероцикло- $C(=O)-$, $-(C_3-C_8)$ гетероцикло- C_1-C_{10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен-NH-, C_1-C_{10} гетероалкилен-NH-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-NH-, $-O-(C_1-C_8)$ алкилен-NH-, -арилен-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен-NH-, -арилен- C_1-C_{10} алкилен-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) карбоцикло-NH-, $-(C_3-C_8)$ карбоцикло- C_1-C_{10} алкилен-NH-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) гетероцикло-NH-, $-(C_3-C_8)$ гетероцикло- C_1-C_{10} алкилен-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-S-, C_1-C_{10} гетероалкилен-S-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-S-, $-O-(C_1-C_8)$ алкилен-S-, -арилен-S-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен-S-, -арилен- C_1-C_{10} алкилен-S-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) карбоцикло-S-, $-(C_3-C_8)$ карбоцикло- C_1-C_{10} алкилен-S-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-S-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) гетероцикло-S- или $-(C_3-C_8)$ гетероцикло- C_1-C_{10} алкилен-S-;

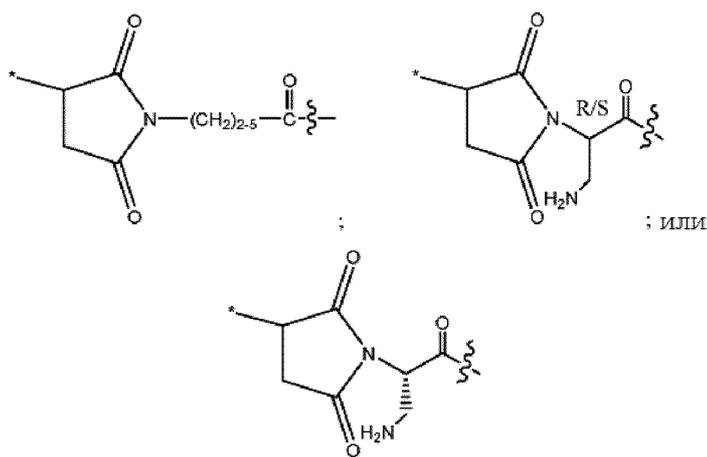
причем R^{17} необязательно замещен основной единицей (BU), такой как $-(CH_2)_xNH_2$, $-(CH_2)_xNHR^a$ или $-(CH_2)_xNR^a_2$;

где x представляет собой целое число от 1 до 4; и

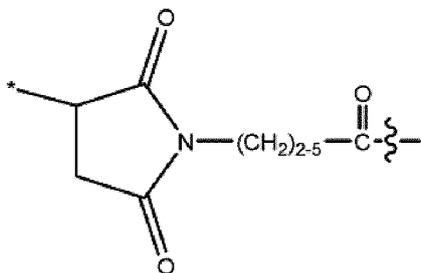
каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из C_{1-6} алкила и C_{1-6} галогеналкила, или две группы R^a объединены с атомом азота, к которому они присоединены, с образованием 4-6-членного гетероциклоалкильного кольца или азетидинильной, пирролидинильной или пиперидинильной группы.

27. Камптотециновый конъюгат по п.26, в котором R^{17} представляет собой $-(C_1-C_5)$ алкилен- $C(=O)-$, где алкиленовая часть R^{17} необязательно замещена основной единицей (BU).

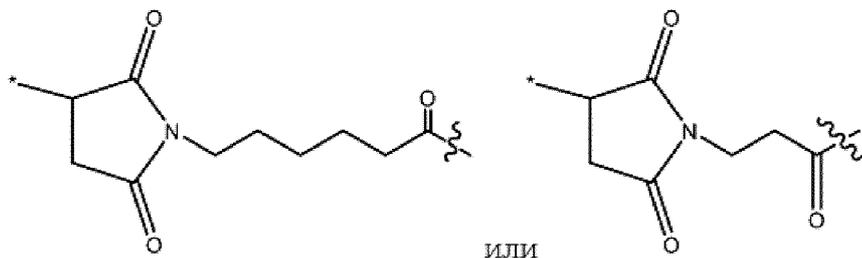
28. Камптотециновый конъюгат по п.26 или 27, в котором Z представляет собой:



29. Камптотециновый конъюгат по п.28, в котором Z представляет собой:



30. Камптотециновый конъюгат по п.29, в котором Z представляет собой:



31. Камптотециновый конъюгат по любому из пп. 1-30, в котором A представляет собой связь.

32. Камптотециновый конъюгат по любому из пп. 1-31, в котором RL представляет собой дипептид, трипептид или тетрапептид.

33. Камптотециновый конъюгат по п.32, в котором RL представляет собой дипептид.

34. Камптотециновый конъюгат по п.32, в котором RL представляет собой трипептид.

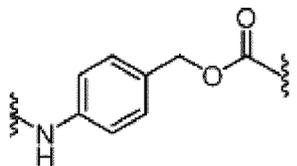
35. Камптотециновый конъюгат по п.32, в котором RL представляет собой gly-gly, gly-gly-gly, gly-gly-gly-gly, val-gly-gly, val-cit-gly, val-gln-gly, val-glu-gly, phe-lys-gly, leu-lys-gly, gly-val-lys-gly, val-lys-gly-gly, val-lys-gly, val-lys-ala, val-lys-leu, leu-leu-gly, gly-gly-phe-gly, gly-gly-phe-gly-gly, val-gly или val-lys-P-ala.

36. Камптотециновый конъюгат по п.34, в котором RL представляет собой трипептид, имеющий формулу: AA₁-AA₂-AA₃, где AA₁, AA₂ и AA₃, каждый независимо, представляют собой аминокислоту, где AA₁ присоединен к -NH-, и AA₃ присоединен к S*.

37. Камптотециновый конъюгат по п.36, в котором AA₃ представляет собой gly или β-ala.

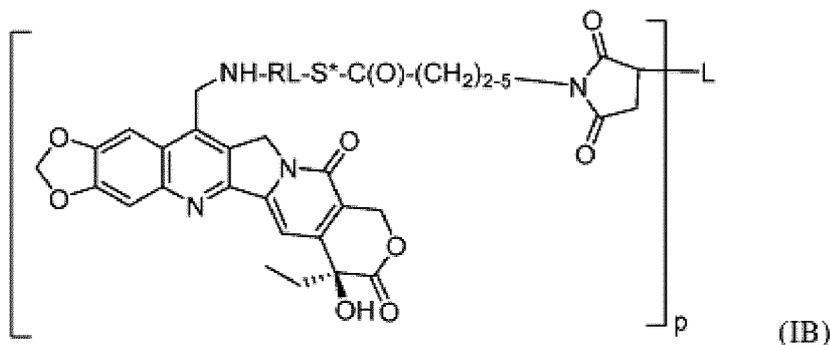
38. Камптотециновый конъюгат по п.37, в котором RL представляет собой val-lys-gly, где val присоединен к -NH-, и gly присоединен к S*.

39. Камптотециновый конъюгат по любому из пп. 1-38, в котором Y имеет формулу:



40. Камптотециновый конъюгат по любому из пп. 1-39, в котором p равно от 1 до 16, или от 2 до 8, или равно 2, или равно 4, или равно 8.

41. Камптотециновый конъюгат по п. 1, имеющий формулу (IB):

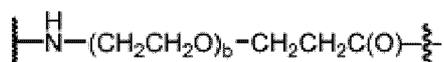


или его фармацевтически приемлемая соль, где:

S* представляет собой PEG единицу; и

RL представляет собой пептидный высвобождаемый линкер, то есть пептид, содержащий от 2 до 8 аминокислот.

42. Камптотециновый конъюгат по п.41, в котором PEG единица имеет формулу:



где волнистая линия слева указывает место присоединения к -C(O)-, волнистая линия справа указывает место присоединения к RL, и b представляет собой целое число от 2 до 20 или равно 2, 4, 8 или 12.

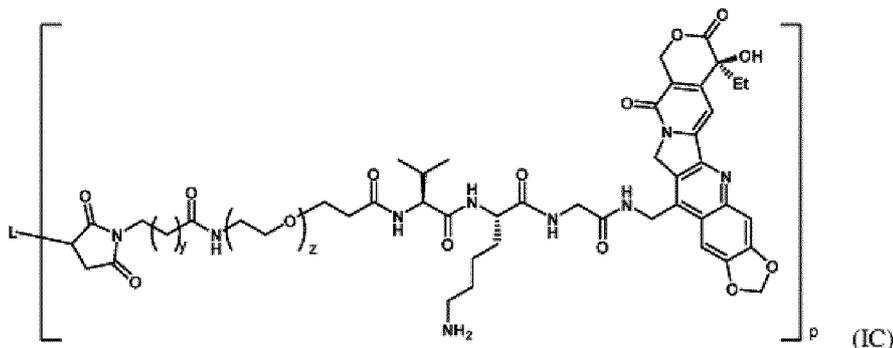
43. Камптотециновый конъюгат по любому из пп. 41-42, в котором RL представляет собой трипептид, имеющий формулу: AA₁-AA₂-AA₃, где каждый AA₁, AA₂ и AA₃ независимо представляет собой аминокислоту, где AA₁ присоединен к -NH-, и AA₃ присоединен к S*.

44. Камптотециновый конъюгат по п.43, в котором AA₃ представляет собой gly или β-ala.

45. Камптотециновый конъюгат по п.44, в котором AA₃ представляет собой gly.

46. Камптотециновый конъюгат по п.45 в котором RL представляет собой val-lys-gly, где val присоединен к -NH-, и gly присоединен к S*.

47. Камптотециновый конъюгат по п.1, имеющий формулу (IC):



или его фармацевтически приемлемая соль;

где

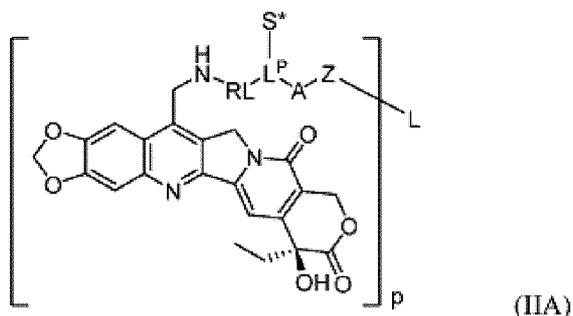
y равно 1,2,3, или равно 1 или 4; и

z представляет собой целое число от 2 до 12, или равно 2, 4, 8, или 12.

и r равно 1-16.

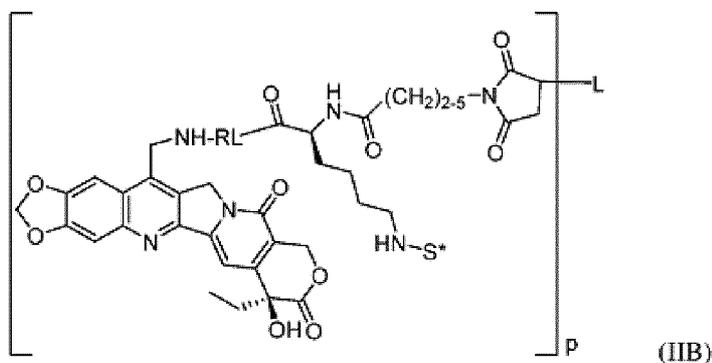
48. Камптотециновый конъюгат по п.47, в котором r равно 4,5,6,7,8,9 или 10, или r равно 4 или 8.

49. Камптотециновый конъюгат по п.1, имеющий формулу (IIA):



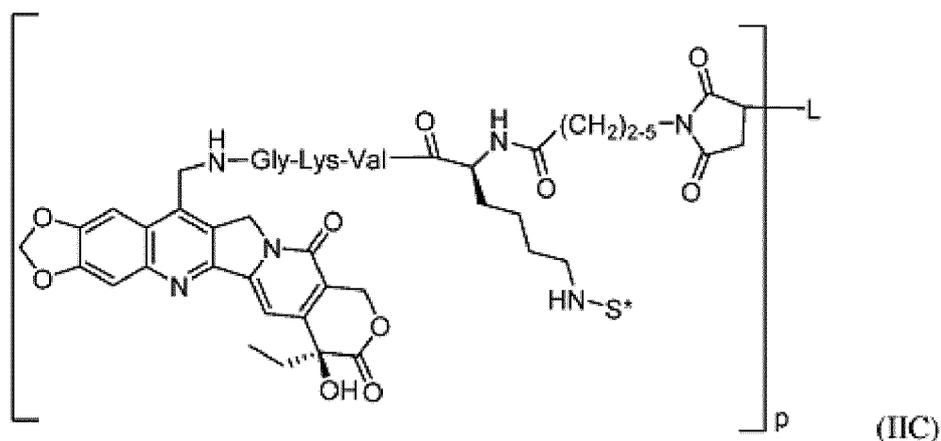
или его фармацевтически приемлемая соль, где S* представляет собой PEG единицу.

50. Камптотециновый конъюгат по п.49, имеющий формулу (IIB):



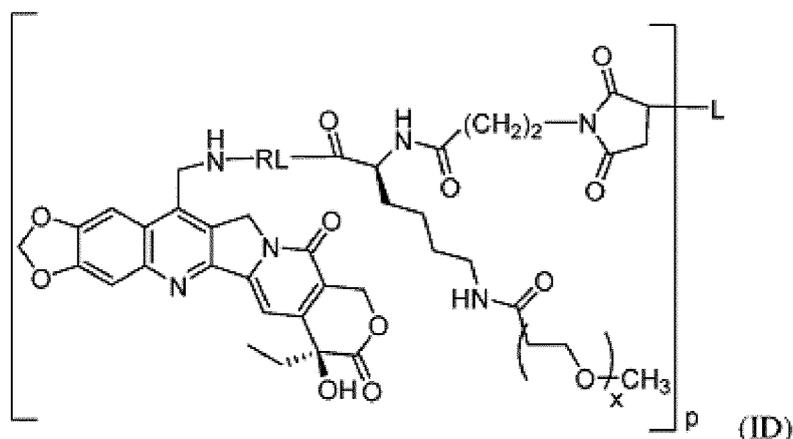
или его фармацевтически приемлемая соль.

51. Камптотециновый конъюгат по п.49 или 50, имеющий формулу (IIC):



или его фармацевтически приемлемая соль.

52. Камптотециновый конъюгат по п.49 или 50, имеющий формулу (IID):



или его фармацевтически приемлемая соль,

где

RL представляет собой пептид, выбранный из группы, состоящей из gly-gly-gly-gly, val-lys-β-ala, val-gln-gly, val-lys-ala, phe-lys-gly, val-lys-gly-gly, gly-gly, val-lys-gly, val-gly-gly, leu-leu-gly, leu-lys-gly, val-glu-gly, gly-gly-gly, val-asp-gly, gly-lys-val, val-lys, val-gly и gly-val-lys-gly; и

x представляет собой целое число от 2 до 20 или равно 2, 4, 8 или 12.

53. Камптотециновый конъюгат по любому из пп. 1-52, в котором лигандная единица представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

54. Камптотециновый конъюгат по п.53, в котором антитело представляет собой моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

55. Камптотециновый конъюгат по п.53 или 54, в котором антитело представляет собой анти-CD30 антитело сAC10 или его антигенсвязывающий фрагмент.

56. Соединение камптотецин-линкер формулы:

Q'-D,

или его фармацевтически приемлемая соль, где Q' является предшественником линкерной единицы, имеющим формулу, выбранную из группы, состоящей из:

$Z'-A-S^*-RL-$; $Z'-A-L^P(S^*)-RL-$; $Z'-A-S^*-RL-Y-$; $Z'-A-L^P(S^*)-RL-Y-$; где

Z' является предшественником единицы вставки;

A представляет собой связь или единицу соединения;

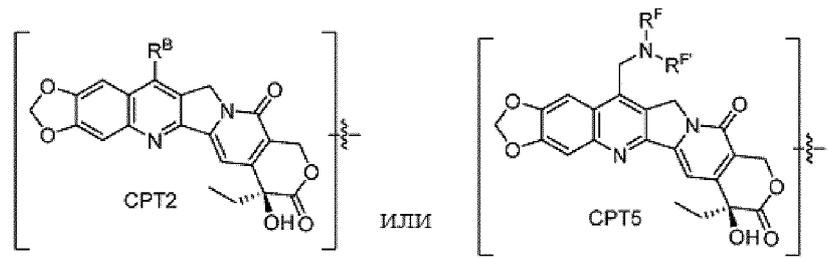
S^* представляет собой связь или разделительный агент;

L^P представляет собой единицу параллельного соединения;

RL представляет собой пептидный высвобождаемый линкер, содержащий пептид, содержащий от 2 до 8 аминокислот; и

Y представляет собой спейсерную единицу,

D представляет собой единицу лекарственного средства, выбранную из:



где

R^B является членом, выбранным из группы, состоящей из H , $-(C_1-C_4)$ алкил-ОН, $-(C_1-C_4)$ алкил-О- (C_1-C_4) алкил- NH_2 , $-C_1-C_8$ алкила, C_1-C_8 галогеналкила, C_3-C_8 циклоалкила, C_3-C_8 циклоалкил C_1-C_4 алкила, фенила и фенил C_1-C_4 алкила;

каждый R^F и $R^{F'}$ является членом, независимо выбранным из группы, состоящей из H , C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 гидроксилалкила, C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_4 алкиламино C_1-C_8 алкила, $(C_1-C_4$ гидроксилалкил) $(C_1-C_4$ алкил)амино C_1-C_8 алкила, ди $(C_1-C_4$ алкил)амино C_1-C_8 алкила, C_1-C_4 гидроксилалкил C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_8 алкил $C(O)-$, C_1-C_8 гидроксилалкил $C(O)-$, C_1-C_8 аминоалкил $C(O)-$, C_3-C_{10} циклоалкила, C_3-C_{10} циклоалкил C_1-C_4 алкила, C_3-C_{10} гетероциклоалкила, C_3-C_{10} гетероциклоалкил C_1-C_4 алкила, фенила, фенил C_1-C_4 алкила, дифенил C_1-C_4 алкила, гетероарил и гетероарил C_1-C_4 алкил; или R^F и $R^{F'}$ объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен, с образованием 5-, 6- или 7-членного кольца, имеющего от 0 до 3 заместителей, выбранных из галогена, C_1-C_4 алкила, ОН, OC_1-C_4 алкила, NH_2 , NHC_1-C_4 алкила и $N(C_1-C_4$ алкил) $_2$;

и где циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные части R_B , R^F и $R^{F'}$ замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1-C_4 алкила, ОН, OC_1-C_4 алкила, NH_2 , NHC_1-C_4 алкила и $N(C_1-C_4$ алкил) $_2$,

где Q присоединен через любую из гидроксильных или аминогрупп, присутствующих на $CPT2$ или $CPT5$.

57. Соединение камптотецин-линкер по п.56, в котором D имеет формулу $CPT2$.

58. Соединение камптотецин-линкер по п.56 или 57, в котором R^B представляет собой $-(C_1-C_4)$ алкил-ОН или $-(C_1-C_4)$ алкил-О- (C_1-C_4) алкил- NH_2 .

59. Соединение камптотецин-линкер по п.58, в котором R^B представляет собой $-CH_2-OH$ или $-CH_2-O-CH_2-NH_2$.

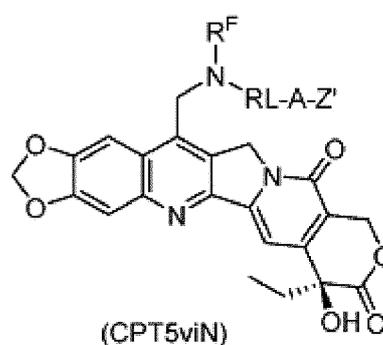
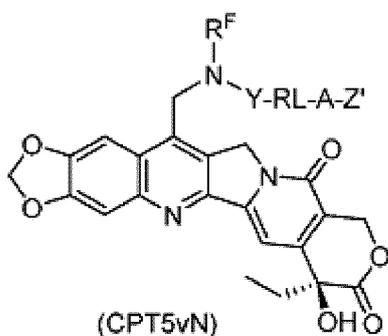
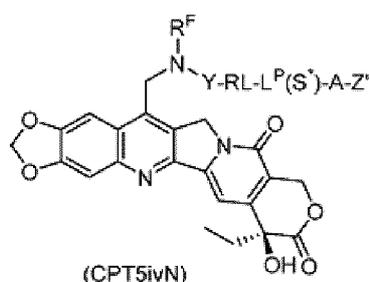
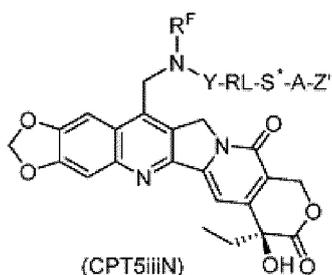
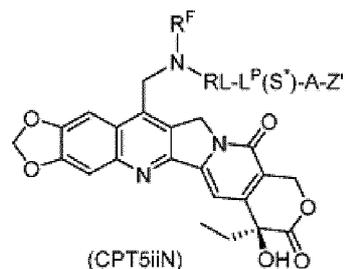
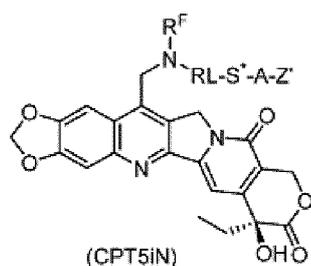
60. Соединение камптотецин-линкер по п.56 или 57, в котором R^B является членом,

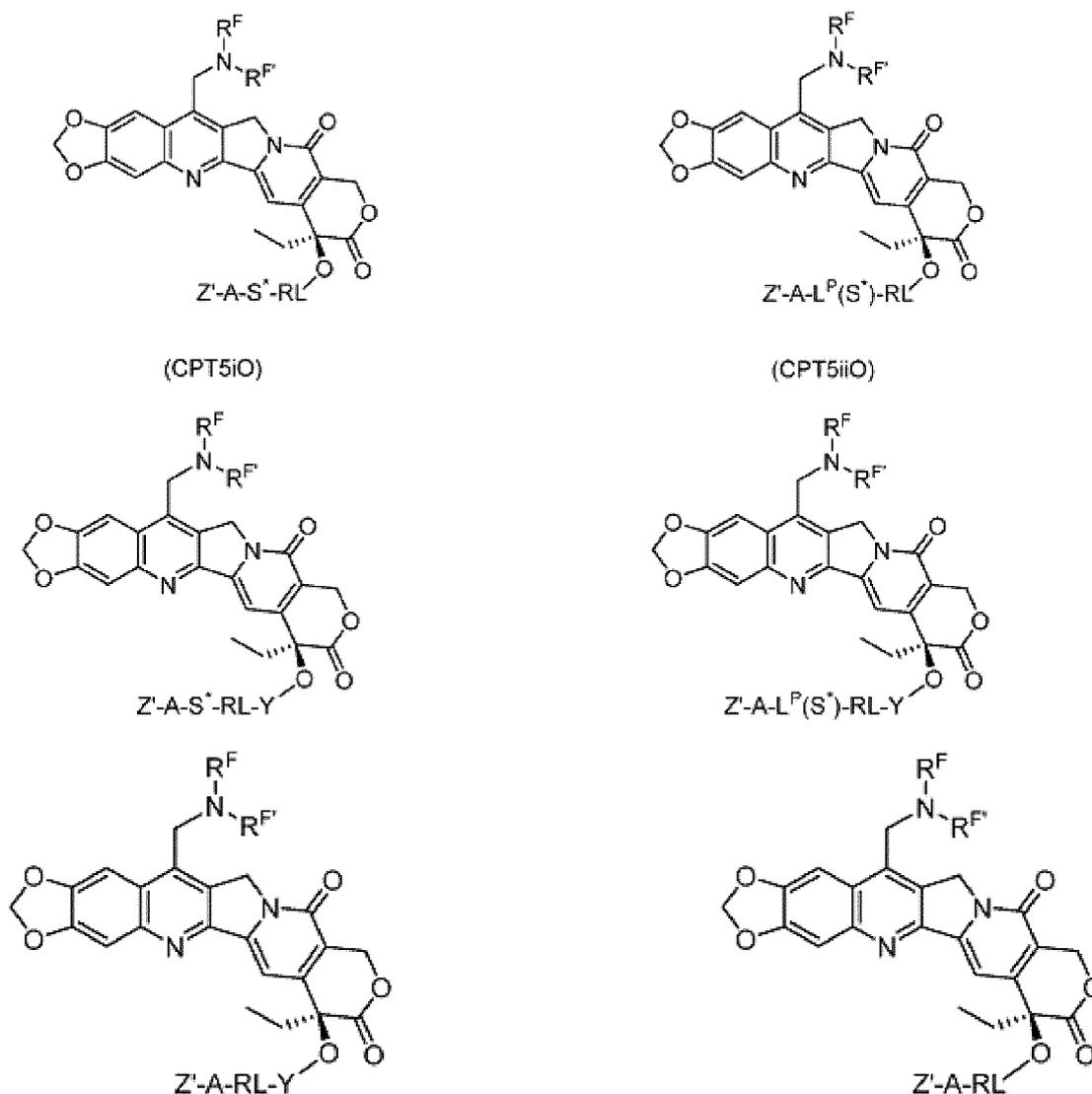
выбранным из группы, состоящей из C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_8 галогеналкила, C_3 - C_8 циклоалкила, C_3 - C_8 циклоалкил C_1 - C_4 алкила, фенила и фенил C_1 - C_4 алкила.

61. Соединение камптотецин-линкер по п.56 или 57, в котором R^B представляет собой C_1 - C_8 алкил или C_1 - C_8 галогеналкил.

62. Соединение камптотецин-линкер по п.56, в котором D имеет формулу CPT5.

63. Соединение камптотецин-линкер по п.56 или 62, в котором Q'-D имеет формулу, выбранную из (CPT5iN), (CPT5iiN), (CPT5iiiN), (CPT5ivN), (CPT5vN), (CPT5viN), (CPT5iO), (CPT5iiO), (CPT5iiiO), (CPT5ivO), (CPT5vO) и (CPT5viO):





64. Соединение камптотецин-линкер по п.63, в котором каждый из R^F и $R^{F'}$ независимо выбран из группы, состоящей из H, C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_8 гидроксипалкила, C_1 - C_8 аминокалкила, C_1 - C_4 алкиламино C_1 - C_8 алкила, (C_1 - C_4 гидроксипалкил)(C_1 - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, ди(C_1 - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_4 гидроксипалкил C_1 - C_8 аминокалкила, C_1 - C_8 алкилC(O)-, C_1 - C_8 гидроксипалкилC(O)- и C_1 - C_8 аминокалкилC(O)-; и

где циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные части R^F и $R^{F'}$ замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1 - C_4 алкила, OH, OC_1 - C_4 алкила, NH_2 , NHC_1 - C_4 алкила и $N(C_1$ - C_4 алкил) $_2$.

65. Соединение камптотецин-линкер по п.63, в котором каждый из R^F и $R^{F'}$ независимо выбран из группы, состоящей из C_3 - C_{10} циклоалкила, C_3 - C_{10} циклоалкил C_1 - C_4 алкила, C_3 - C_{10} гетероциклоалкила, C_3 - C_{10} гетероциклоалкил C_1 - C_4 алкила, фенила, фенил C_1 - C_4 алкила, дифенил C_1 - C_4 алкила, гетероарила и гетероарил C_1 - C_4 алкила,

и где каждая из циклоалкильной, гетероциклоалкильной, фенильной и гетероарильной частей R^F и $R^{F'}$ независимо замещена заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1 - C_4 алкила, OH, OC_1 - C_4 алкила, NH_2 , NHC_1 - C_4 алкила и $N(C_1$ - C_4 алкил) $_2$.

66. Соединение камптотецин-линкер по п.62 или 63, в котором R^F представляет собой H.

67. Соединение камптотецин-линкер по п.63, в котором Q'-D имеет формулу, выбранную из (CPT5iN), (CPT5iiN), (CPT5iiiN), (CPT5ivN), (CPT5vN) и (CPT5viN).

68. Соединение камптотецин-линкер по п.67, в котором Q'-D имеет формулу, выбранную из (CPT5iN), (CPT5iiN) и (CPT5viN).

69. Соединение камптотецин-линкер по п.67 или 68, в котором R^F выбран из группы, состоящей из -H, C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_8 гидроксиалкила, C_1 - C_8 аминоалкила, C_1 - C_4 алкиламино C_1 - C_8 алкила, (C_1 - C_4 гидроксиалкил)(C_1 - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, ди(C_1 - C_4 алкил)амино C_1 - C_8 алкила, C_1 - C_4 гидроксиалкил C_1 - C_8 аминоалкила, C_1 - C_8 алкилC(O)-, C_1 - C_8 гидроксиалкилC(O)- и C_1 - C_8 аминоалкилC(O)-;

причем циклоалкильные, гетероциклоалкильные, фенильные и гетероарильные части R^F замещены заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1 - C_4 алкила, OH, OC_1 - C_4 алкила, NH_2 , NHC_1 - C_4 алкила и $N(C_1$ - C_4 алкил) $_2$.

70. Соединение камптотецин-линкер по п.67 или 68, в котором R^F выбран из группы, состоящей из C_3 - C_{10} циклоалкила, C_3 - C_{10} циклоалкил C_1 - C_4 алкила, C_3 - C_{10} гетероциклоалкила, C_3 - C_{10} гетероциклоалкил C_1 - C_4 алкила, фенила, фенил C_1 - C_4 алкила, дифенил C_1 - C_4 алкила, гетероарила и гетероарил C_1 - C_4 алкила,

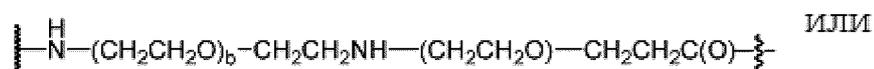
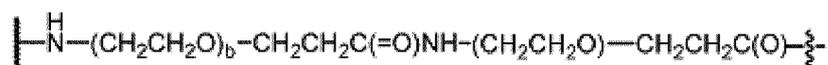
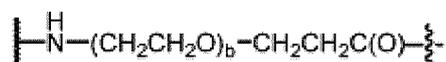
причем каждая из циклоалкильной, гетероциклоалкильной, фенильной и гетероарильной частей R^F и R^F независимо замещена заместителями в количестве от 0 до 3, выбранными из галогена, C_1 - C_4 алкила, OH, OC_1 - C_4 алкила, NH_2 , NHC_1 - C_4 алкила и $N(C_1$ - C_4 алкил) $_2$.

71. Соединение камптотецин-линкер по любому из пп. 56-70, в котором S^* представляет собой связь и Q представляет собой -Z'-A-RL- или -Z'-A-RL-Y-.

72. Соединение камптотецин-линкер по любому из пп. 56-70, в котором S^* представляет собой Разделительный агент, и Q представляет собой Z'-A- S^* -RL-; Z'-A- $L^P(S^*)$ -RL-; Z'-A- S^* -RL-Y-; или Z'-A- $L^P(S^*)$ -RL-Y-.

73. Соединение камптотецин-линкер по п.72, в котором S^* представляет собой PEG единицу.

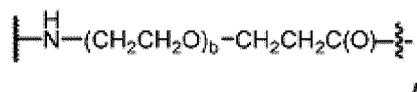
74. Соединение камптотецин-линкер по п.73, PEG единица имеет формулу:



где волнистая линия слева указывает место присоединения к A, волнистая линия справа указывает место присоединения к RL, и b представляет собой целое число от 2 до 20 или равно 2, 4, 8 или 12.

75. Соединение камптотецин-линкер по п.74, в котором PEG единица имеет

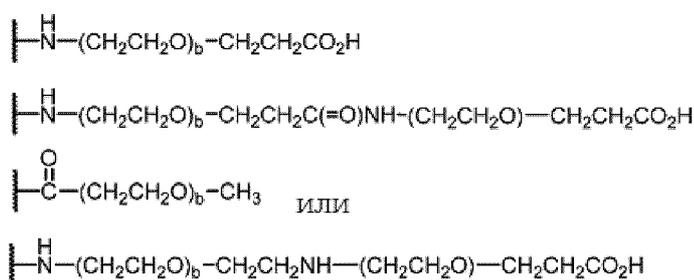
формулу:



где волнистая линия слева указывает место присоединения к А, волнистая линия справа указывает место присоединения к RL, и *b* представляет собой целое число от 2 до 20 или равно 2, 4, 8 или 12.

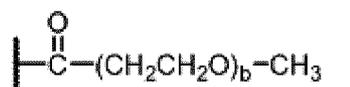
76. Соединение камптотецин-линкер по п.72, в котором Q' имеет формулу -Z'-A-L^P(S*)-RL- или -Z'-A-L^P(S*)-RL-Y-, и S* представляет собой PEG единицу, которая содержит 2, 4, 8, или 12 субъединиц -CH₂CH₂O-, и концевую блокирующую группу PEG единицы, которая представляет собой C₁₋₄алкил или C₁₋₄алкил-CO₂H.

77. Соединение камптотецин-линкер по п.76, в котором S* имеет формулу:



где волнистая линия указывает место присоединения к единице параллельного соединения (L^P), и *b* представляет собой целое число от 2 до 20 или равно 2, 4, 8 или 12.

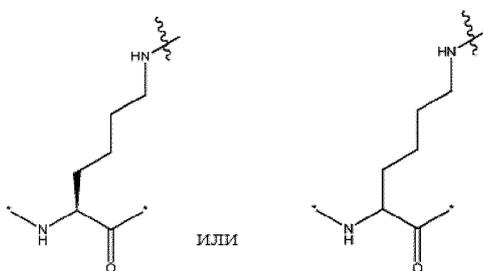
78. Соединение камптотецин-линкер по п.77, в котором S* имеет формулу:



где волнистая линия указывает место присоединения к единице параллельного соединения (L^P), и *b* представляет собой целое число от 2 до 20 или равно 2, 4, 8 или 12.

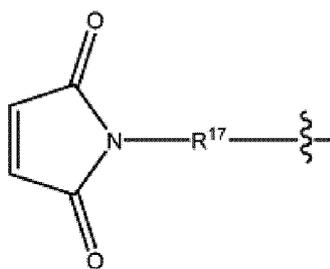
79. Соединение камптотецин-линкер по любому из пп. 76-78, в котором L^P представляет собой лизин.

80. Соединение камптотецин-линкер по п.79, в котором L^P имеет формулу:



где волнистая линия указывает место присоединения к разделительному агенту, и звездочки указывают место присоединения к А и RL.

81. Соединение камптотецин-линкер по любому из пп. 56-80, в котором Z' имеет формулу Z_a:



(Za)

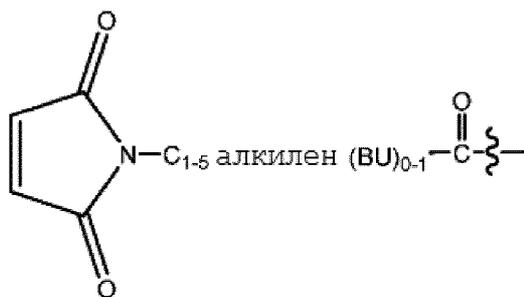
где волнистая линия указывает место присоединения к единице соединения (A); и R^{17} представляет собой $-C_1-C_{10}$ алкилен-, C_1-C_{10} гетероалкилен-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-, $-O-(C_1-C_8)$ алкилен-, $-арилен-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен-, $-арилен-C_1-C_{10}$ алкилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) карбоцикло-, $-(C_3-C_8)$ карбоцикло- C_1-C_{10} алкилен-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) гетероцикло-, $-(C_3-C_8)$ гетероцикло- C_1-C_{10} алкилен-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- $C(=O)-$, C_1-C_{10} гетероалкилен- $C(=O)-$, $-C_3-C_8$ карбоцикло- $C(=O)-$, $-O-(C_1-C_8)$ алкилен- $C(=O)-$, $-арилен-C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен- $C(=O)-$, $-арилен-C_1-C_{10}$ алкилен- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) карбоцикло- $C(=O)-$, $-(C_3-C_8)$ карбоцикло- C_1-C_{10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_3-C_8$ гетероцикло- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) гетероцикло- $C(=O)-$, $-(C_3-C_8)$ гетероцикло- C_1-C_{10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен-NH-, C_1-C_{10} гетероалкилен-NH-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-NH-, $-O-(C_1-C_8)$ алкилен-NH-, $-арилен-NH-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен-NH-, $-арилен-C_1-C_{10}$ алкилен-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) карбоцикло-NH-, $-(C_3-C_8)$ карбоцикло- C_1-C_{10} алкилен-NH-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) гетероцикло-NH-, $-(C_3-C_8)$ гетероцикло- C_1-C_{10} алкилен-NH-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-S-, C_1-C_{10} гетероалкилен-S-, $-C_3-C_8$ карбоцикло-S-, $-O-(C_1-C_8)$ алкилен-S-, $-арилен-S-$, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилен-S-, $-арилен-C_1-C_{10}$ алкилен-S-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) карбоцикло-S-, $-(C_3-C_8)$ карбоцикло- C_1-C_{10} алкилен-S-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-S-, $-C_1-C_{10}$ алкилен- (C_3-C_8) гетероцикло-S-, или $-(C_3-C_8)$ гетероцикло- C_1-C_{10} алкилен-S-; причем R^{17} необязательно замещен основной единицей (BU), то есть $-(CH_2)_xNH_2$, $-(CH_2)_xNHR^a$ или $-(CH_2)_xNR^a_2$;

где x представляет собой целое число от 1 до 4; и

каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из C_{1-6} алкила и C_{1-6} галогеналкила, или две группы R^a объединены с атомом азота, к которому они присоединены, с образованием 4-6-членного гетероциклоалкильного кольца или азетидинильной, пирролидинильной или пиперидинильной группы.

82. Соединение камптотецин-линкер по п.81, в котором R^{17} представляет собой $-(C_1-C_5)$ алкилен- $C(=O)-$, где алкиленовая часть R^{17} необязательно замещена основной единицей (BU).

83. Соединение камптотецин-линкер по п.81 или 82, в котором Z' имеет формулу:

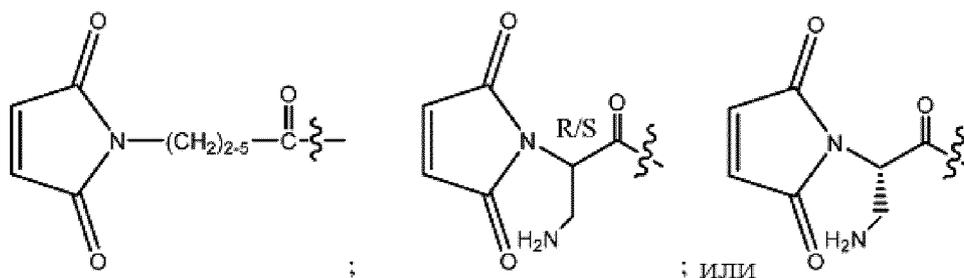


где

волнистая линия рядом с карбонилем обозначает место присоединения к А; и BU представляет собой основную единицу, то есть $-(\text{CH}_2)_x\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_x\text{NHR}^a$ или $-(\text{CH}_2)_x\text{N}(\text{R}^a)_2$; где x представляет собой целое число от 1 до 4; и

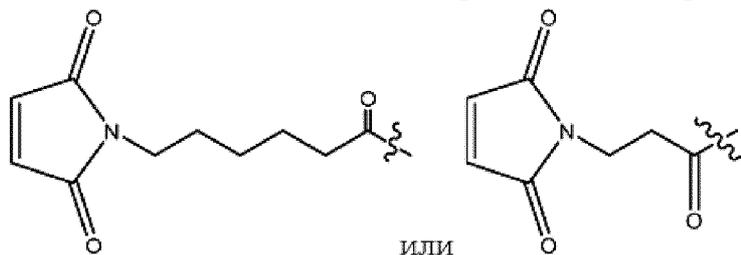
каждый R^a независимо представляет собой C_{1-6} алкил или C_{1-6} галогеналкил, или две группы R^a объединены с азотом, к которому они присоединены, с образованием 4-6-членного гетероциклоалкильного кольца или азетидинильной, пирролидинильной или пиперидинильной группы.

84. Соединение камптотецин-линкер по п.83, в котором Z' представляет собой:



где волнистая линия рядом с карбонилем обозначает место присоединения к А.

85. Соединение камптотецин-линкер по п.84, в котором Z' представляет собой:



86. Соединение камптотецин-линкер по любому из пп. 56-85, в котором А представляет собой связь.

87. Соединение камптотецин-линкер по любому из пп. 56-86, в котором RL представляет собой дипептид, трипептид или тетрапептид.

88. Соединение камптотецин-линкер по п.87, в котором RL представляет собой дипептид.

89. Соединение камптотецин-линкер по п.87, в котором RL представляет собой

трипептид.

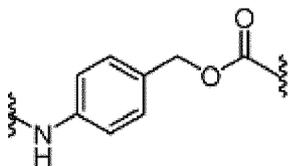
90. Соединение камптотецин-линкер по любому из пп.87, в котором RL представляет собой gly-gly, gly-gly-gly, gly-gly-gly-gly, val-gly-gly, val-cit-gly, val-gln-gly, val-glu-gly, phe-lys-gly, leu-lys-gly, gly-val-lys-gly, val-lys-gly-gly, val-lys-gly, val-lys-ala, val-lys-leu, leu-leu-gly, gly-gly-phe-gly, gly-gly-phe-gly-gly, val-gly или val-lys-P-ala.

91. Соединение камптотецин-линкер по п.89, в котором RL представляет собой трипептид, имеющий формулу: AA₁-AA₂-AA₃, причем AA₁, AA₂ и AA₃ каждый независимо представляет собой аминокислоту, причем AA₁ присоединен к -NH-, и AA₃ присоединен к S*.

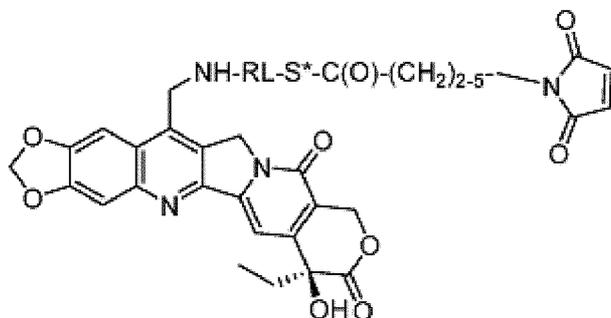
92. Соединение камптотецин-линкер по п.91, в котором AA₃ представляет собой gly или β-ala.

93. Соединение камптотецин-линкер по п.92, в котором AA₃ представляет собой gly.

94. Соединение камптотецин-линкер по любому из пп. 56-93, в котором Y имеет формулу:



95. Соединение камптотецин-линкер по п.56, имеющее формулу:

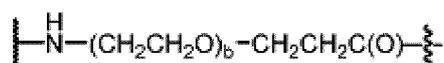


или его фармацевтически приемлемая соль, где:

S* представляет собой PEG единицу; и

RL представляет собой пептидный высвобождаемый линкер, который представляет собой, пептид, содержащий от 2 до 8 аминокислот.

96. Соединение камптотецин-линкер по п.95, в котором PEG единица имеет формулу:



где волнистая линия слева указывает место присоединения к -C(O)-, волнистая линия справа указывает место присоединения к RL, и b представляет собой целое число от 2 до 20 или равно 2, 4, 8 или 12.

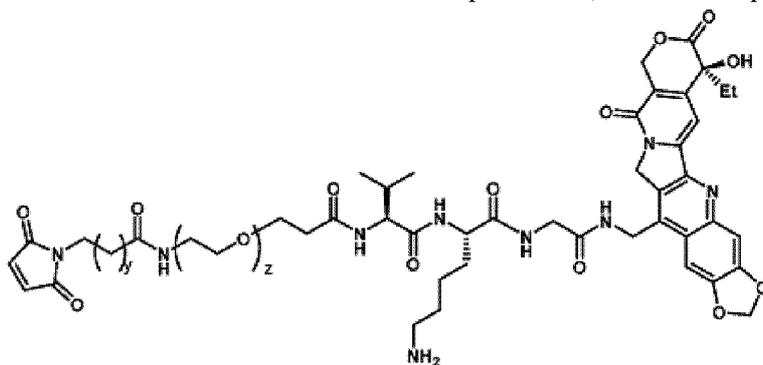
97. Соединение камптотецин-линкер по любому из пп. 95-96, в котором RL представляет собой трипептид.

98. Соединение камптотецин-линкер по любому из пп. 95-97, в котором RL представляет собой трипептид, имеющий формулу: AA₁-AA₂-AA₃, причем AA₁, AA₂ и AA₃ каждый независимо представляет собой аминокислоту, причем AA₁ присоединен к -NH-, и AA₃ присоединен к S*.

99. Соединение камптотецин-линкер по п.98, в котором AA₃ представляет собой gly или β-ala.

100. Соединение камптотецин-линкер по п.97, в котором RL представляет собой val-lys-gly, причем val присоединен к -NH-, и gly присоединен к S*.

101. Соединение камптотецин-линкер по п.56, имеющее формулу (1C):



или его фармацевтически приемлемая соль;

где

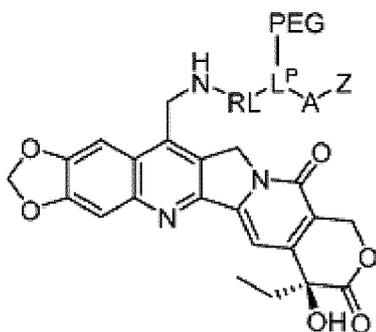
y равно 1, 2, 3, или 4, или равно 1 или 4; и

z представляет собой целое число от 2 до 12, или равно 2, 4, 8 или 12;

и r равно от 1 до 16.

102. Соединение камптотецин-линкер по п.101, в котором r равно 4, 5, 6, 7, 8, 9, или 10, или r равно 4 или 8.

103. Соединение камптотецин-линкер по п.56, имеющее формулу:



или его фармацевтически приемлемая соль.

104. Соединение камптотецин-линкер по п.56, имеющее формулу:

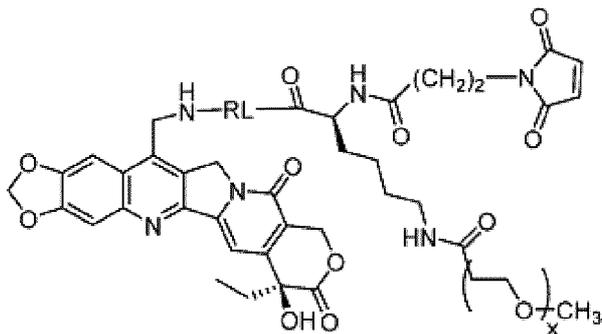
где

x представляет собой целое число от 2 до 20, или равно 2, 4, 8 или 12; и

RL представляет собой пептид, выбранный из группы, состоящей из gly-gly-gly-gly, val-lys-P-ala, val-gln-gly, val-lys-ala, phe-lys-gly, val-lys-gly-gly, gly-gly, val-lys-gly, val-gly-gly, leu-leu-gly, leu-lys-gly, val-glu-gly, gly-gly-gly, val-asp-gly, val-lys, val-gly и gly-val-lys-gly.

108. Соединение камптотецин-линкер по п.107, в котором x представляет собой целое число от 4 до 12.

109. Соединение камптотецин-линкер по п.56, имеющее формулу:



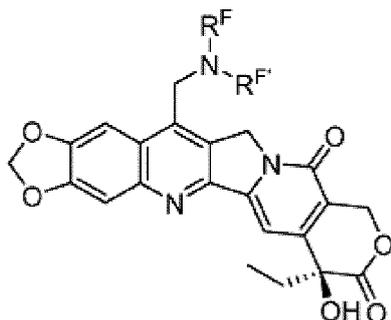
где

x представляет собой целое число от 2 до 20, или равно 2, 4, 8 или 12; и

RL представляет собой пептид, выбранный из группы, состоящей из gly-gly-gly-gly, val-lys-P-ala, val-gln-gly, val-lys-ala, phe-lys-gly, val-lys-gly-gly, gly-gly, val-lys-gly, val-gly-gly, leu-leu-gly, leu-lys-gly, val-glu-gly, gly-gly-gly, val-asp-gly, val-lys, val-gly и gly-val-lys-gly.

110. Соединение камптотецин-линкер по п.108 или 109, в котором RL представляет собой val-lys-gly.

111. Камптотециновое соединение формулы:



где каждый R^F и $R^{F'}$ независимо представляет собой H, глицил, гидроксиацетил, этил или 2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)этил, или где R^F и $R^{F'}$ объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен, с образованием 5-, 6- или 7-членного гетероциклоалкильного кольца.

112. Камптотециновое соединение по п.111, в котором R^F и $R^{F'}$ объединены с атомом азота, к которому каждый присоединен, с образованием 6-членного кольца.

113. Камптотециновое соединение по п.112, в котором 6-членное кольцо представляет собой морфолинильную или пиперазинильную группу.

114. Камптотециновое соединение по п.111, в котором R^{F^*} представляет собой H, и R^F представляет собой глицил, гидроксиацетил, этил или 2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)этил.

115. Камптотециновое соединение по п.111, в котором R^{F^*} представляет собой H, и R^F содержит алифатическую группу.

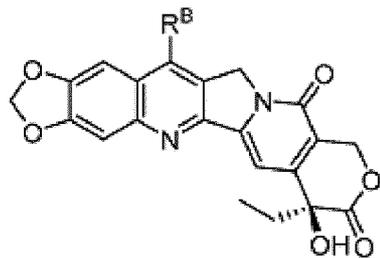
116. Камптотециновое соединение по п.111, в котором R^{F^*} представляет собой H, и R^F содержит арильную группу.

117. Камптотециновое соединение по п.111, в котором R^{F^*} представляет собой H, и R^F содержит амидную группу.

118. Камптотециновое соединение по п.111, в котором R^{F^*} представляет собой H, и R^F содержит этиленоксидную группу.

119. Камптотециновое соединение по любому из пп. 111-118, причем соединение выбрано из группы, выбранной из соединения 4, соединения 5 и соединений из таблиц I и II.

120. Камптотециновое соединение формулы:



или ее фармацевтически приемлемая соль,

где R^B представляет собой $-(C_1-C_4)$ алкил-OH, $-(C_1-C_4)$ алкил-O- (C_1-C_4) алкил-NH₂, C_1-C_8 алкил, C_1-C_8 галогеналкил, C_3-C_8 циклоалкил, C_3-C_8 циклоалкил C_1-C_4 алкил, фенил или фенил C_1-C_4 алкил.

121. Камптотециновое соединение по п.120, в котором R^B содержит C_1-C_8 алкил.

122. Камптотециновое соединение по п.121, в котором R^B содержит циклопропильную, пентильную, гексильную, трет-бутильную или циклопентильную группу.

123. Камптотециновое соединение по любому из пп. 120-122, в котором соединение выбрано из группы, состоящей из соединения 6 и соединений в таблице III.

124. Камптотециновый конъюгат по любому из пп. 53-55, в котором антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6 соответственно.

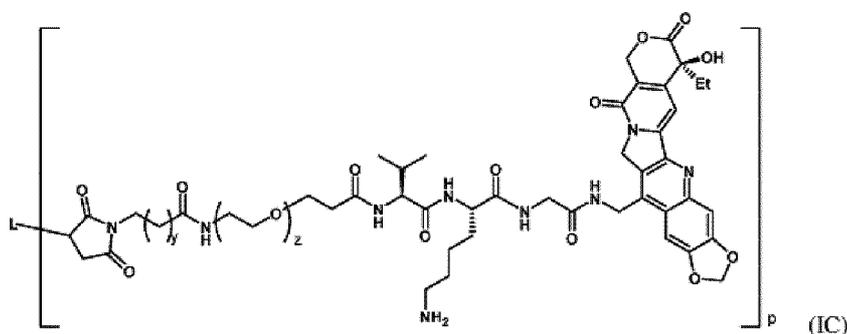
125. Камптотециновый конъюгат по п.124, в котором антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95%

идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 7, и варибельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8.

126. Камптотециновый конъюгат по п.124, в котором антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит варибельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и варибельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.

127. Камптотециновый конъюгат по п.124, в котором антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 10, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11.

128. Камптотециновый конъюгат по любому из пп. 124-127, имеющий формулу (IC):



или его фармацевтически приемлемая соль; где

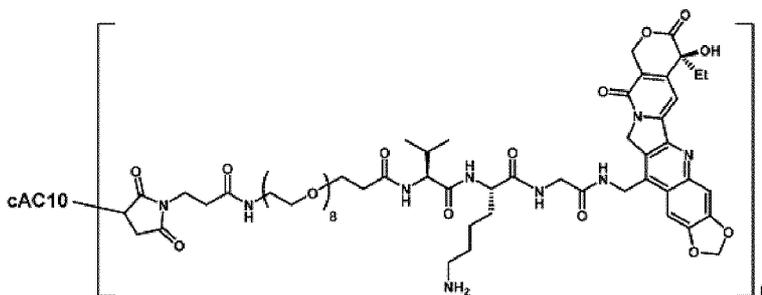
y равно 1, 2, 3, или 4, или равно 1 или 4; и

z представляет собой целое число от 2 до 12, или равно 2, 4, 8 или 12;

и r равно 1-16.

129. Камптотециновый конъюгат по п.128, в котором r равно 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10, или r равно 2, 4 или 8.

130. Камптотециновый конъюгат по любому из пп. 53-55, имеющий формулу:



или его фармацевтически приемлемая соль; где

r равно 2, 4, или 8.

131. Камптотециновый конъюгат по п.130, в котором r равно 8.

132. Способ лечения злокачественной опухоли у субъекта, нуждающегося в таком лечении, включающий введение субъекту эффективного количества камптотецинового конъюгата по любому из пп. 1-55 и 124-131 или камптотецинового соединения по любому

из пп. 111-123.

133. Способ по п.132, в котором злокачественная опухоль представляет собой лимфому, лейкоз или солидную опухоль.

134. Способ по п.132 или п.133, причем способ включает введение субъекту эффективного количества дополнительного терапевтического средства, одного или нескольких химиотерапевтических средств или осуществления лучевой терапии.

135. Способ лечения аутоиммунного заболевания у нуждающегося в таком лечении субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества камптотецинового конъюгата по любому из пп. 1-55 и 124-31 или камптотецинового соединения по любому из пп. 111-123.

136. Способ по п.135, в котором аутоиммунное заболевание представляет собой расстройство, связанное с Th2-лимфоцитами, расстройство, связанное с Th1-лимфоцитами, или расстройство, связанное с активированными В-лимфоцитами.

137. Способ лечения злокачественной опухоли у субъекта, который нуждается в таком лечении, включающий контактирование злокачественных клеток с камптотециновым соединением по любому из пп. 111-23.

138. Способ по п.137, в котором злокачественная опухоль представляет собой лимфому, лейкоз или солидную опухоль.

139. Способ получения камптотецинового конъюгата по любому из пп. 1-55 и 124-131, включающий взаимодействие антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с соединением камптотецин-линкер по любому из пп. 56-110.

140. Фармацевтическая композиция, содержащая камптотециновый конъюгат по любому из пп. 1-55 и 124-131 и фармацевтически приемлемый носитель.

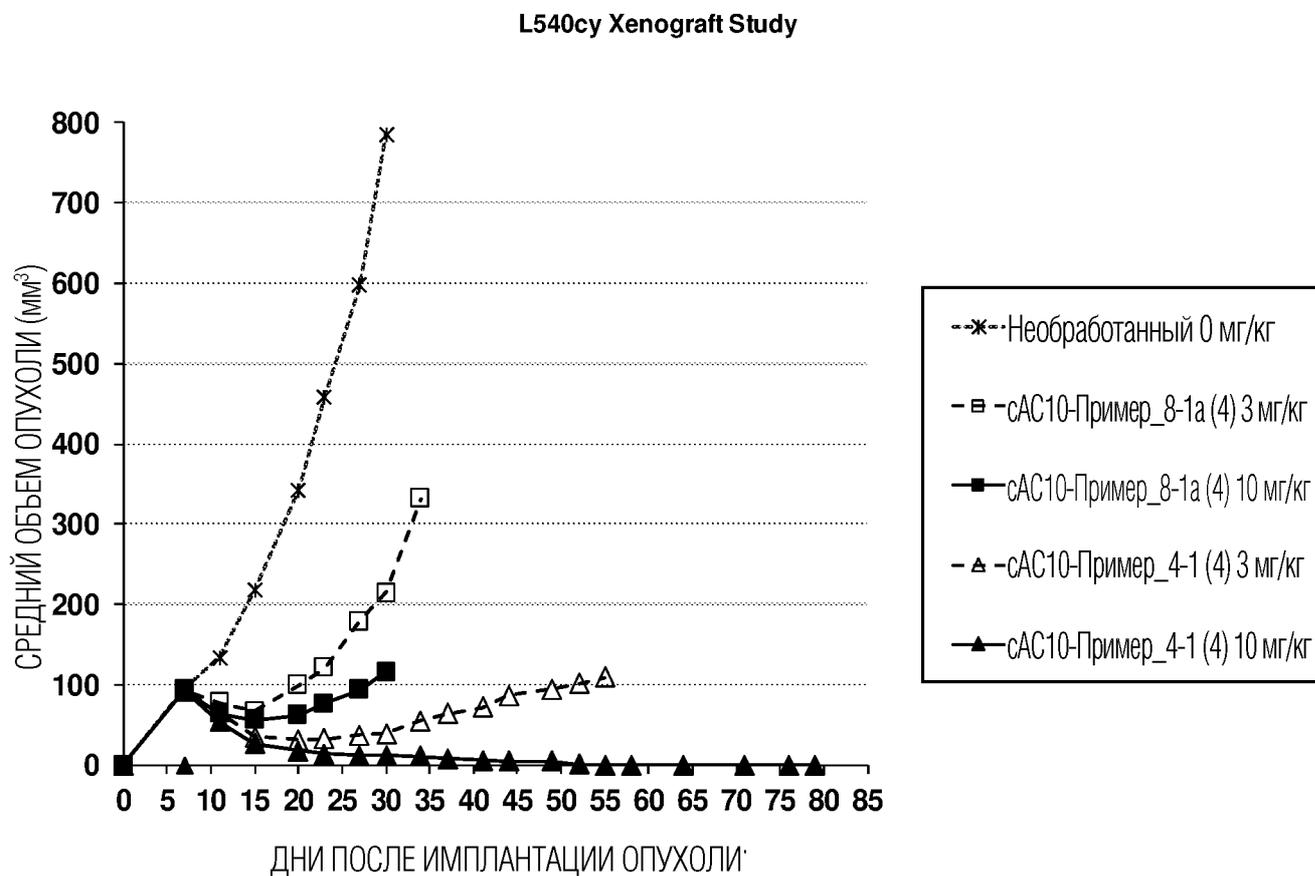
141. Набор, содержащий камптотециновый конъюгат по любому из пп. 1-55 и 124-131, необязательно содержащий дополнительное терапевтическое средство.

142. Применение камптотецинового конъюгата по любому из пп. 1-55 и 124-131 или камптотецинового соединения по любому из пп.111-123 для лечения заболевания или расстройства.

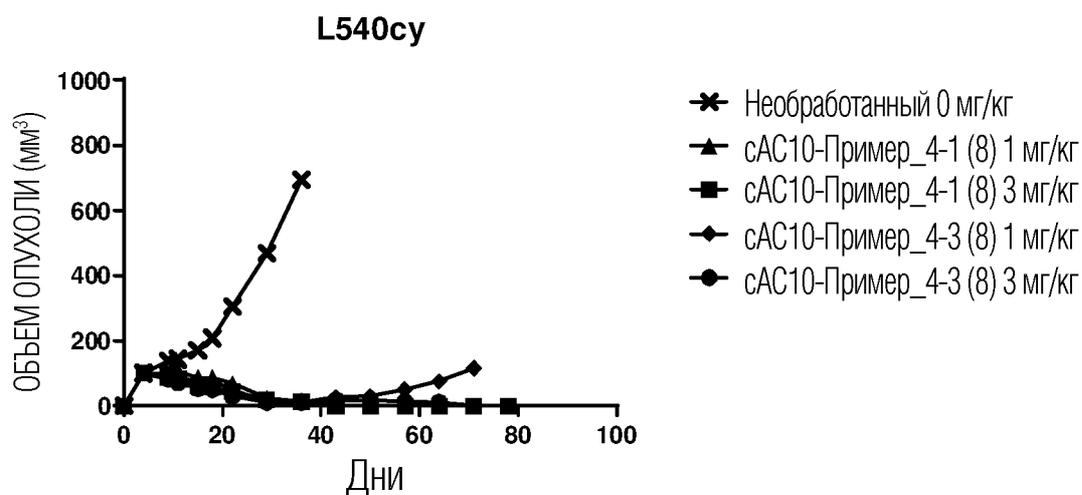
143. Применение камптотецинового конъюгата по любому из пп. 1-55 и 124-131 или камптотецинового соединения по любому из пп. 111-123, и фармацевтически приемлемого эксципиента, носителя или разбавителя в получении лекарственного средства для лечения заболевания или нарушения.

По доверенности

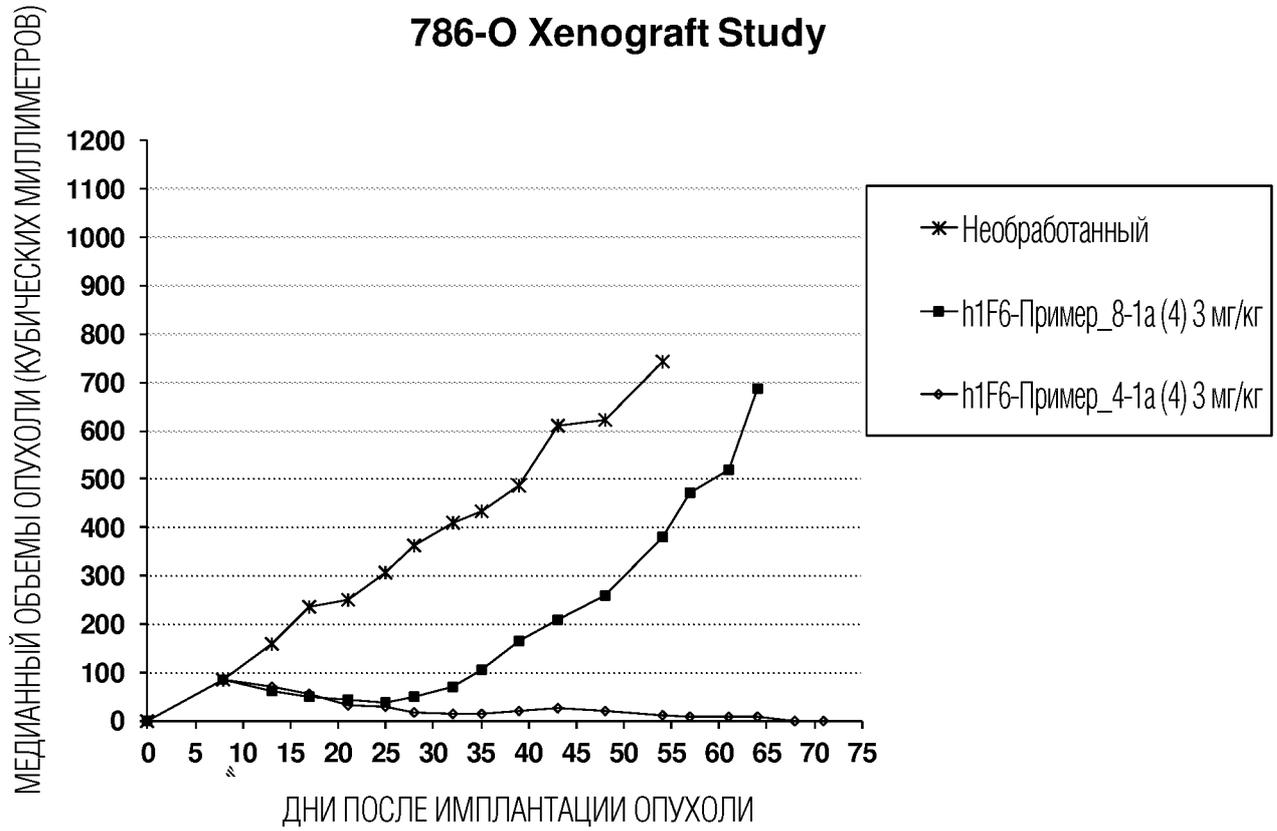
ФИГ. 1А



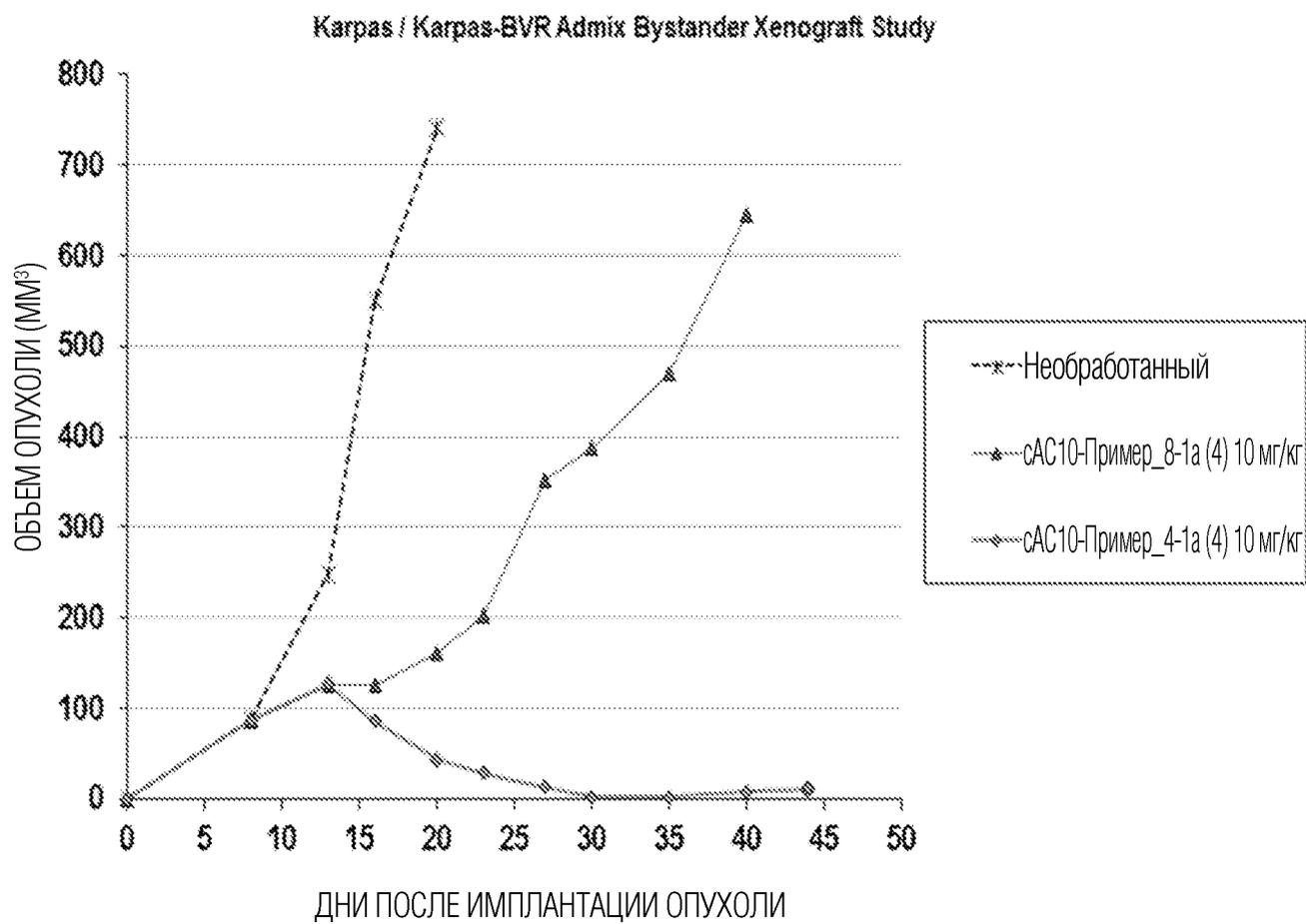
ФИГ. 1В



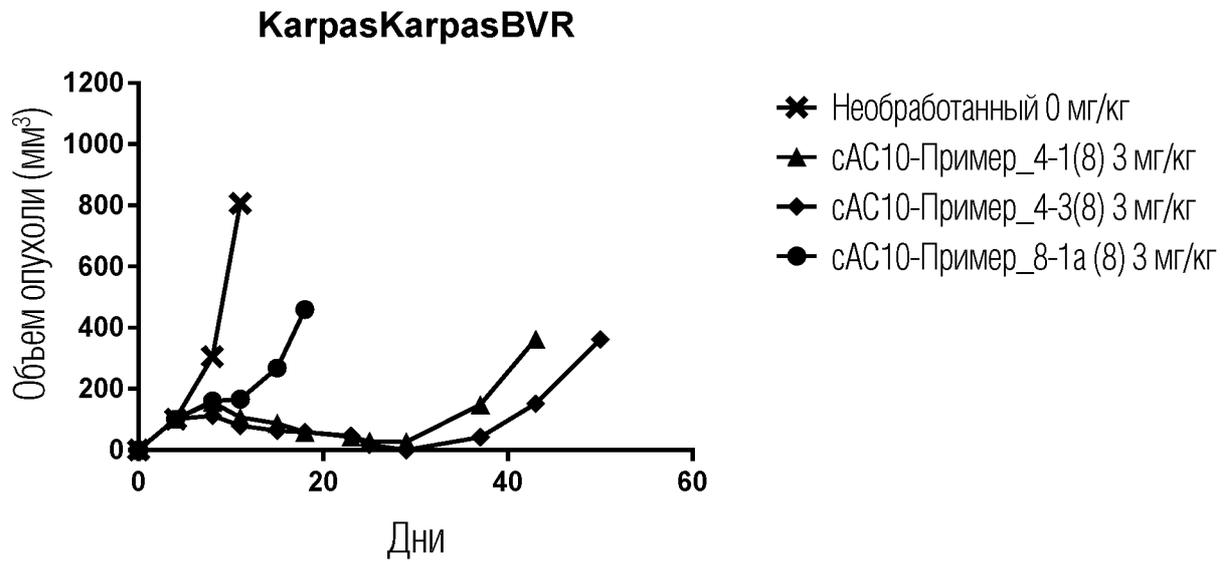
ФИГ. 2



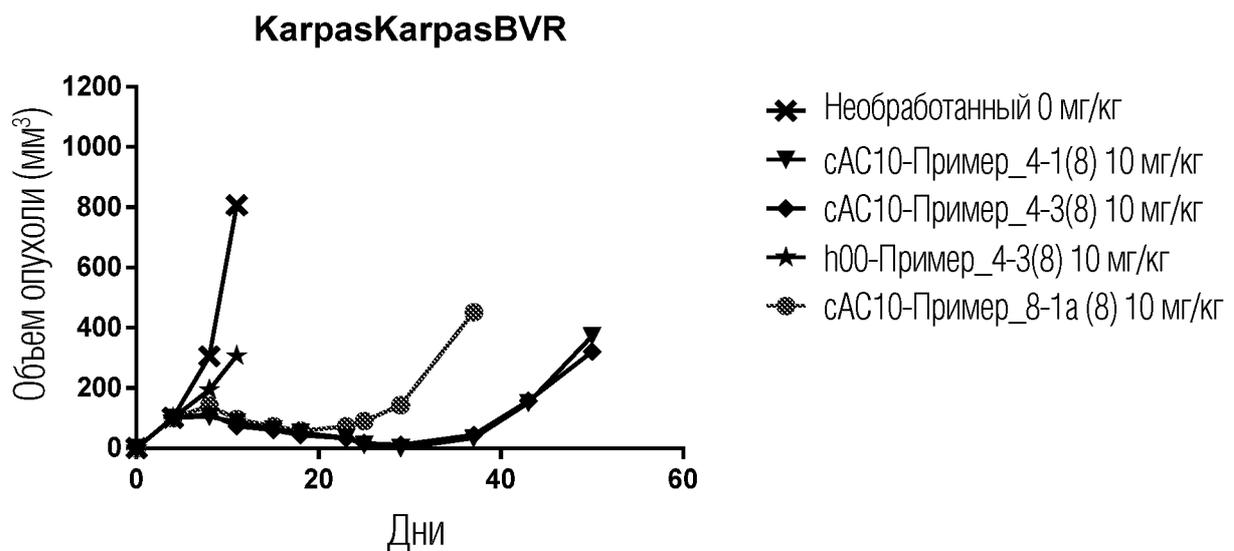
ФИГ. 3А



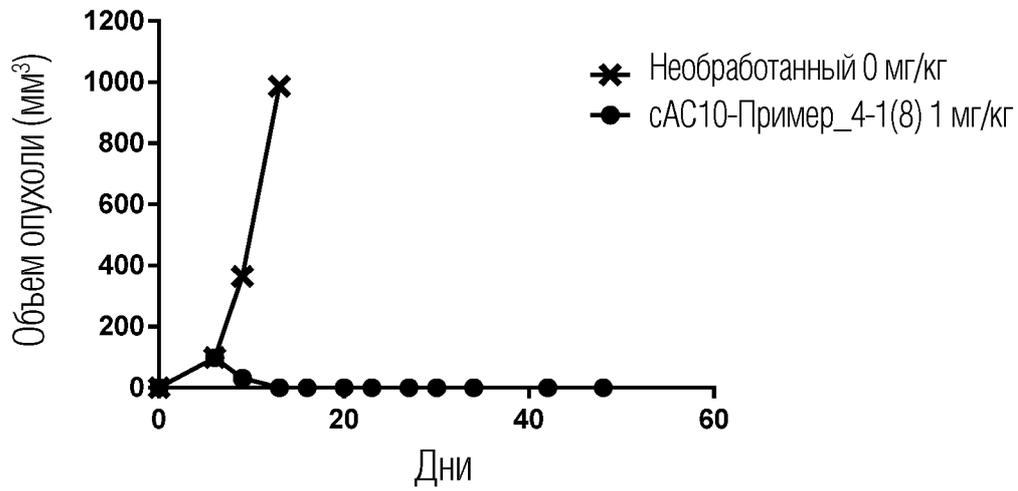
ФИГ. 3В



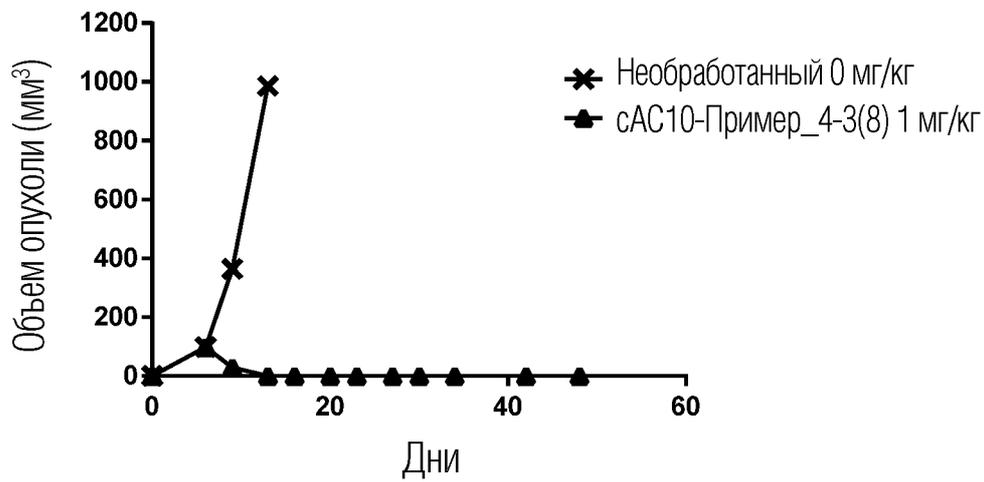
ФИГ. 3С



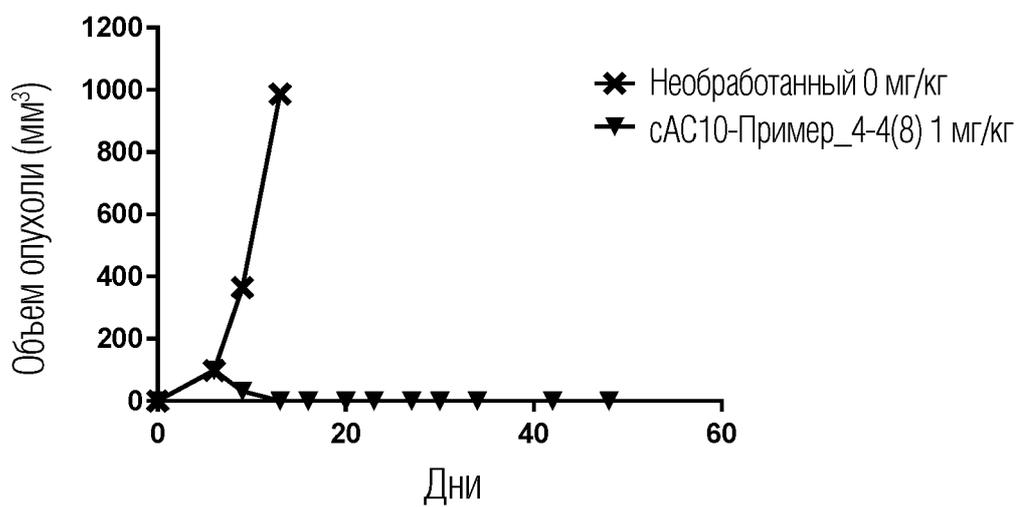
ФИГ. 4А



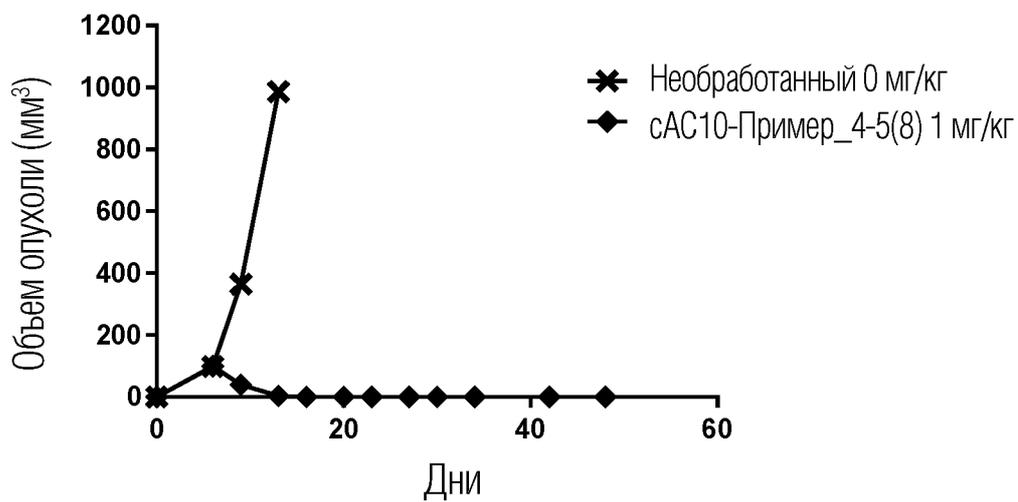
ФИГ. 4В



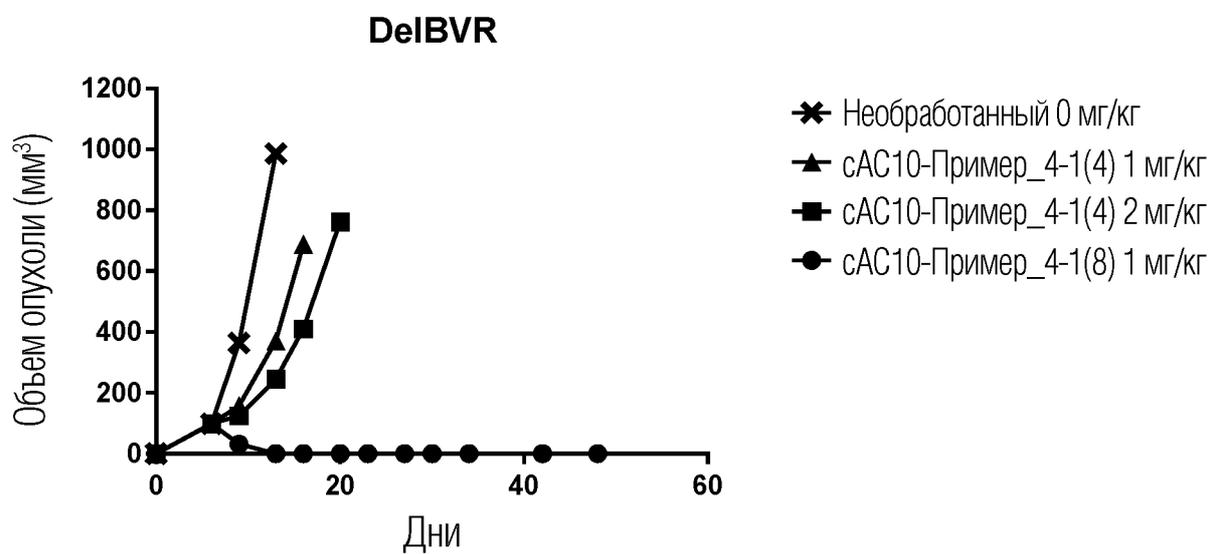
ФИГ. 4С



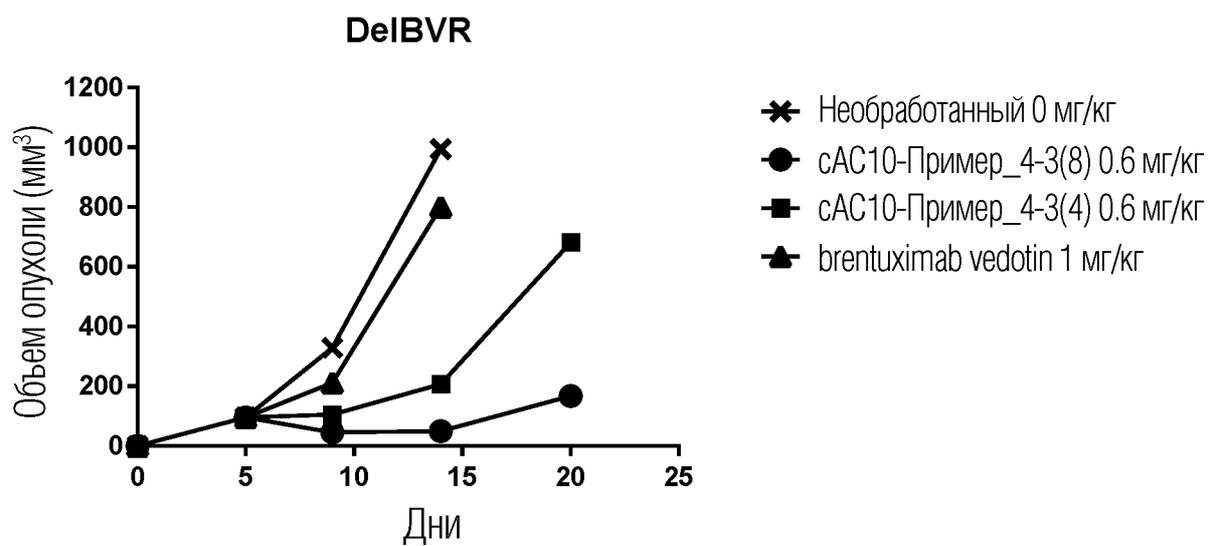
ФИГ. 4D



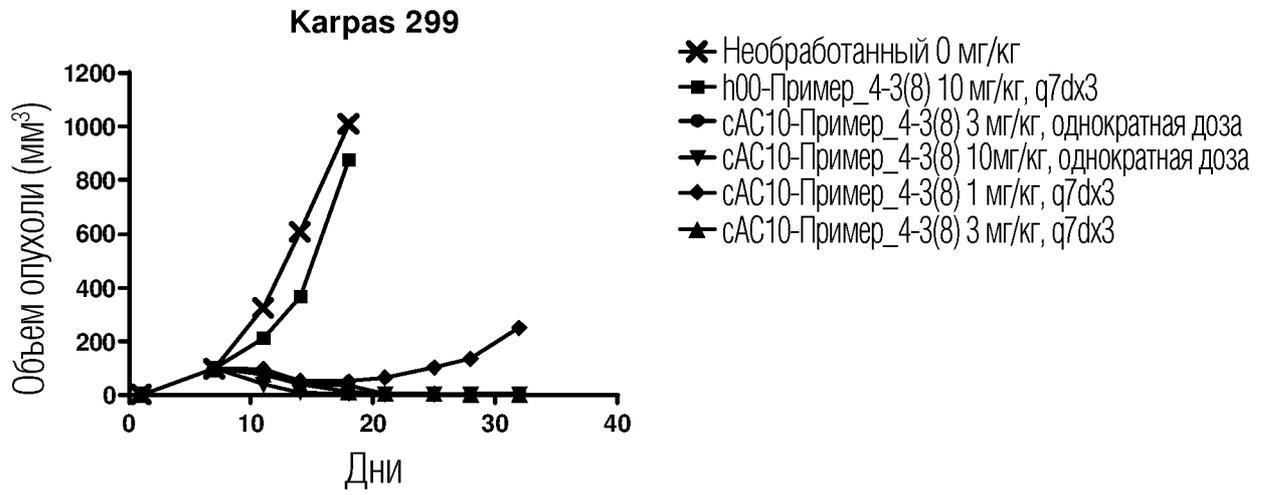
ФИГ. 5А



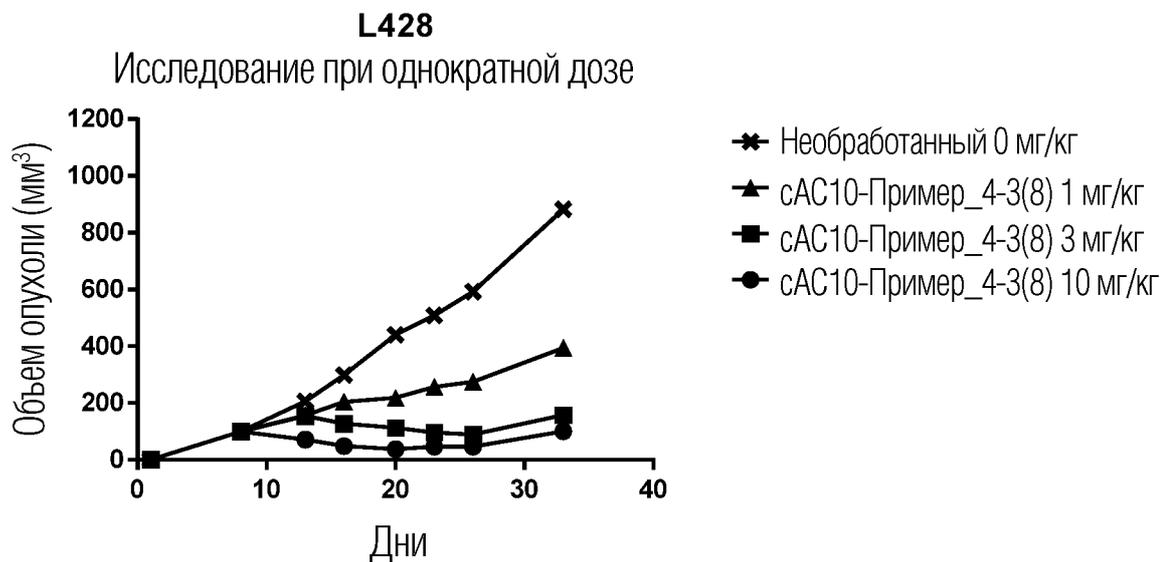
ФИГ. 5В



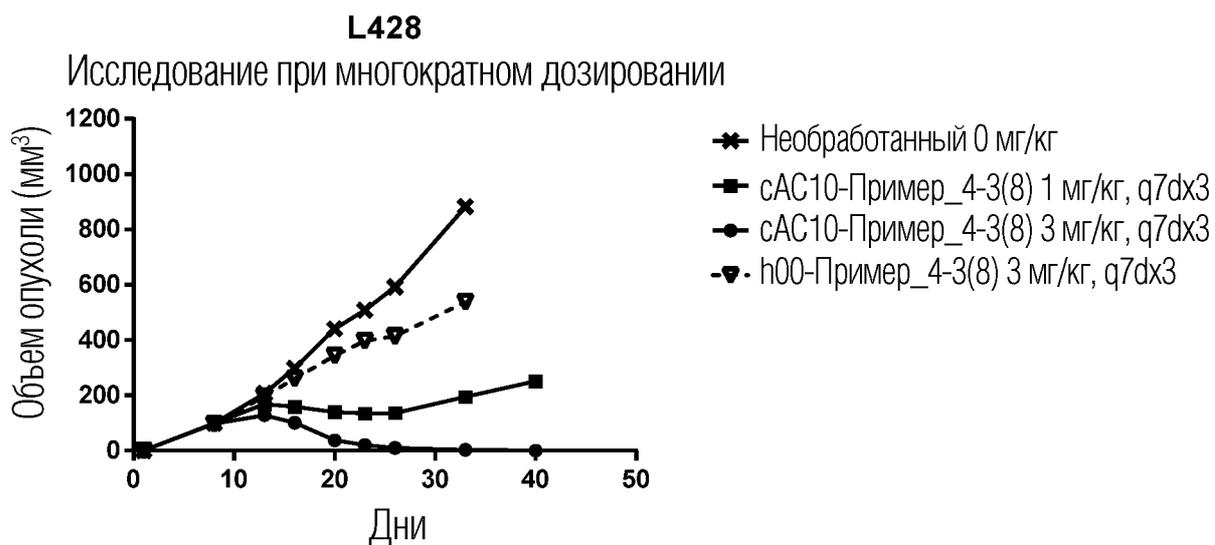
ФИГ. 6



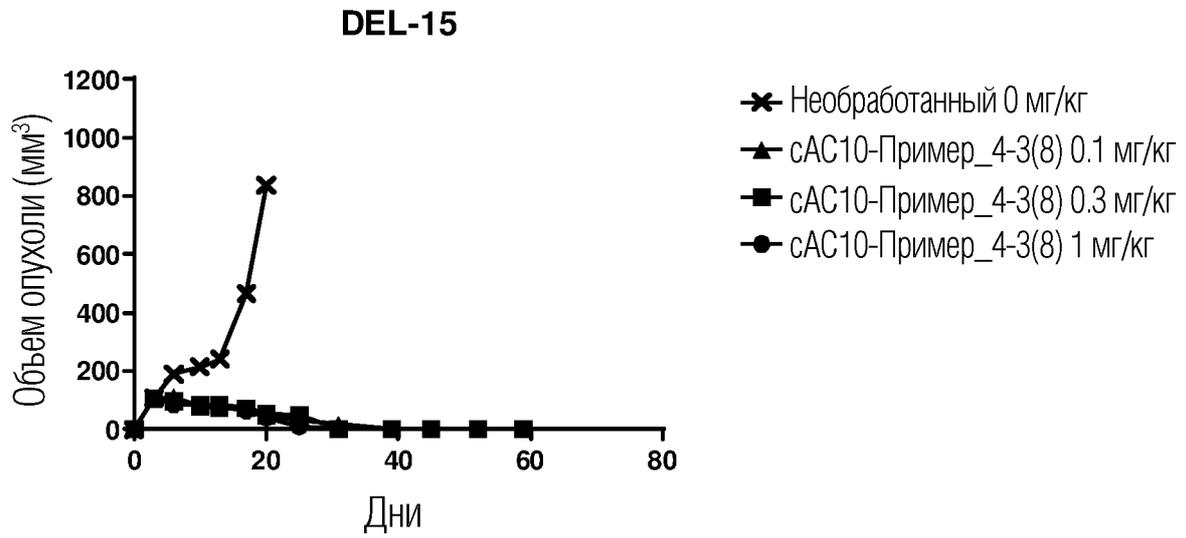
ФИГ. 7А



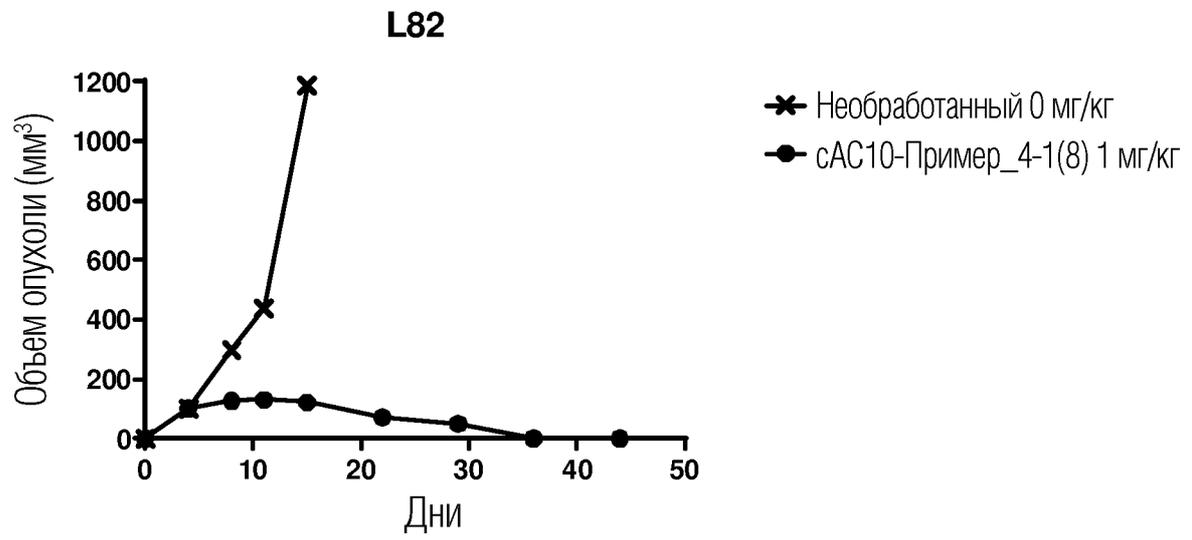
ФИГ. 7В



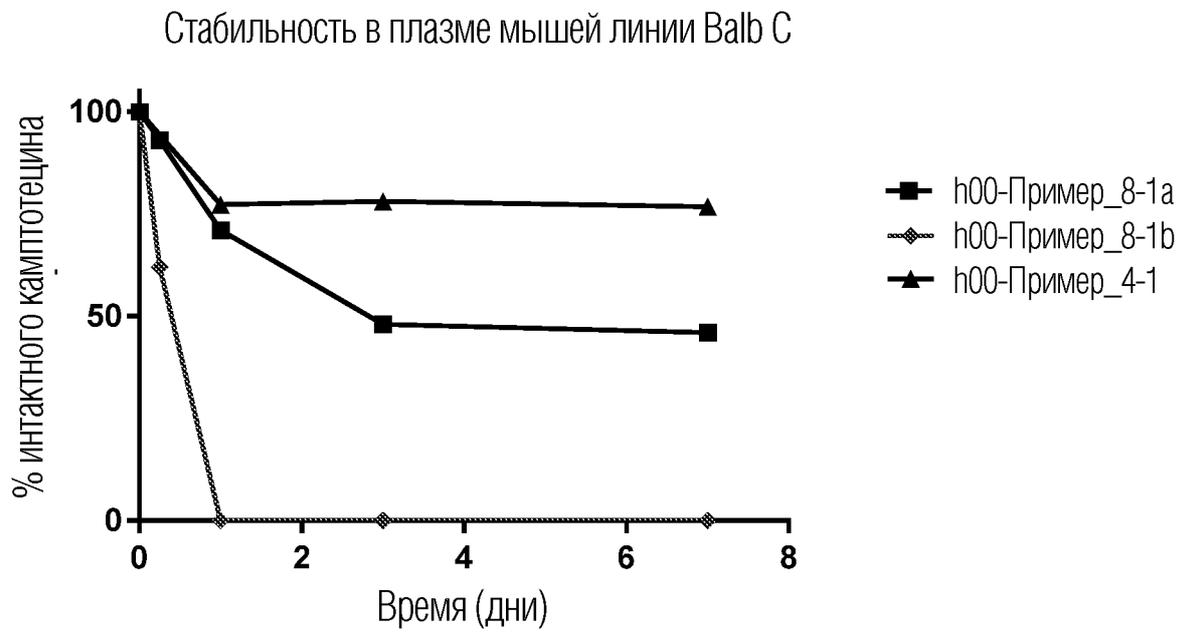
ФИГ. 8



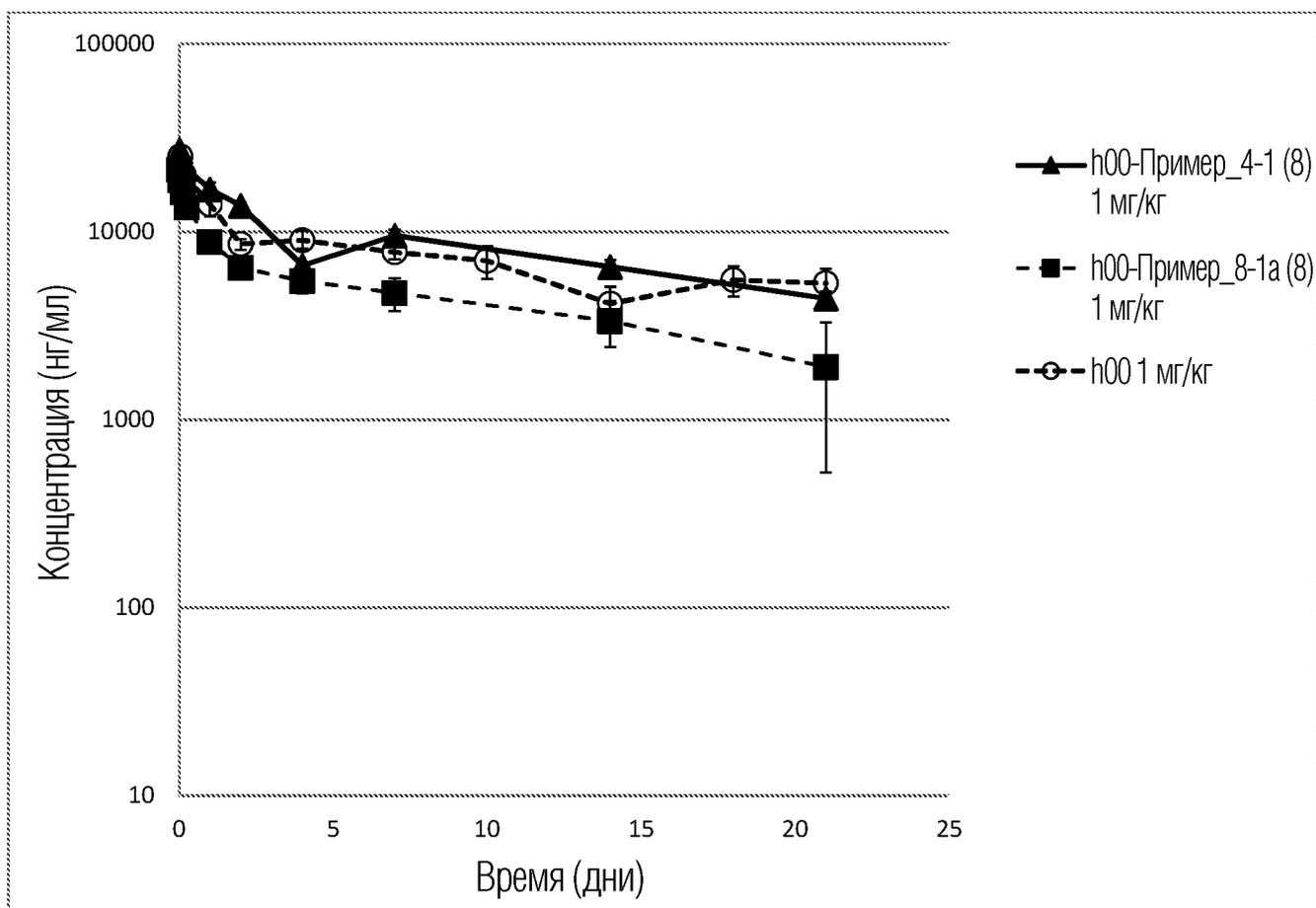
ФИГ. 9



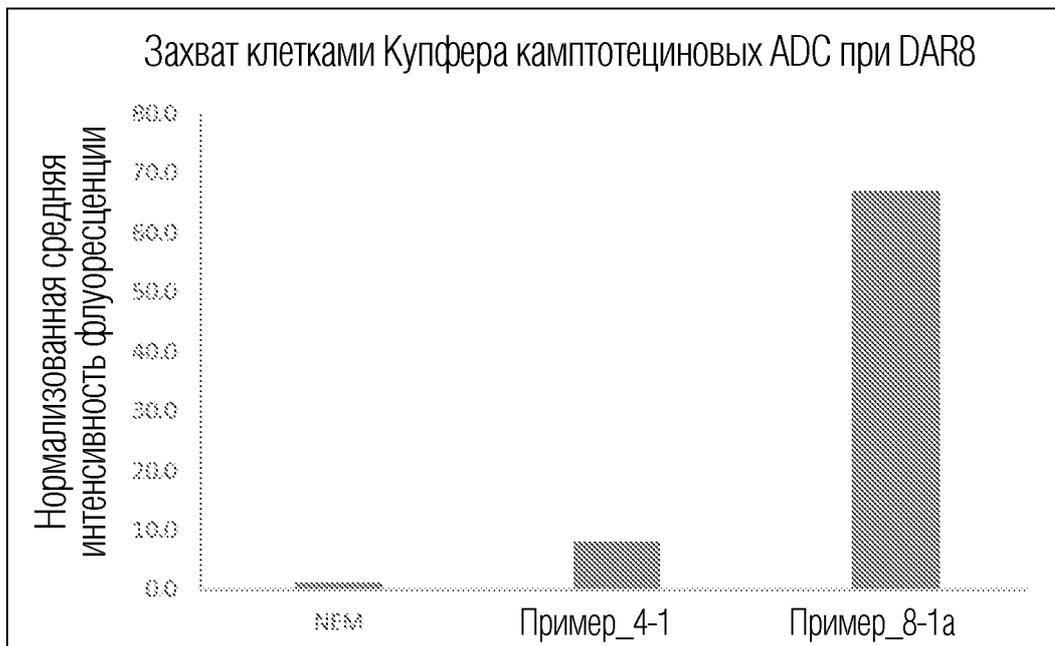
ФИГ. 10



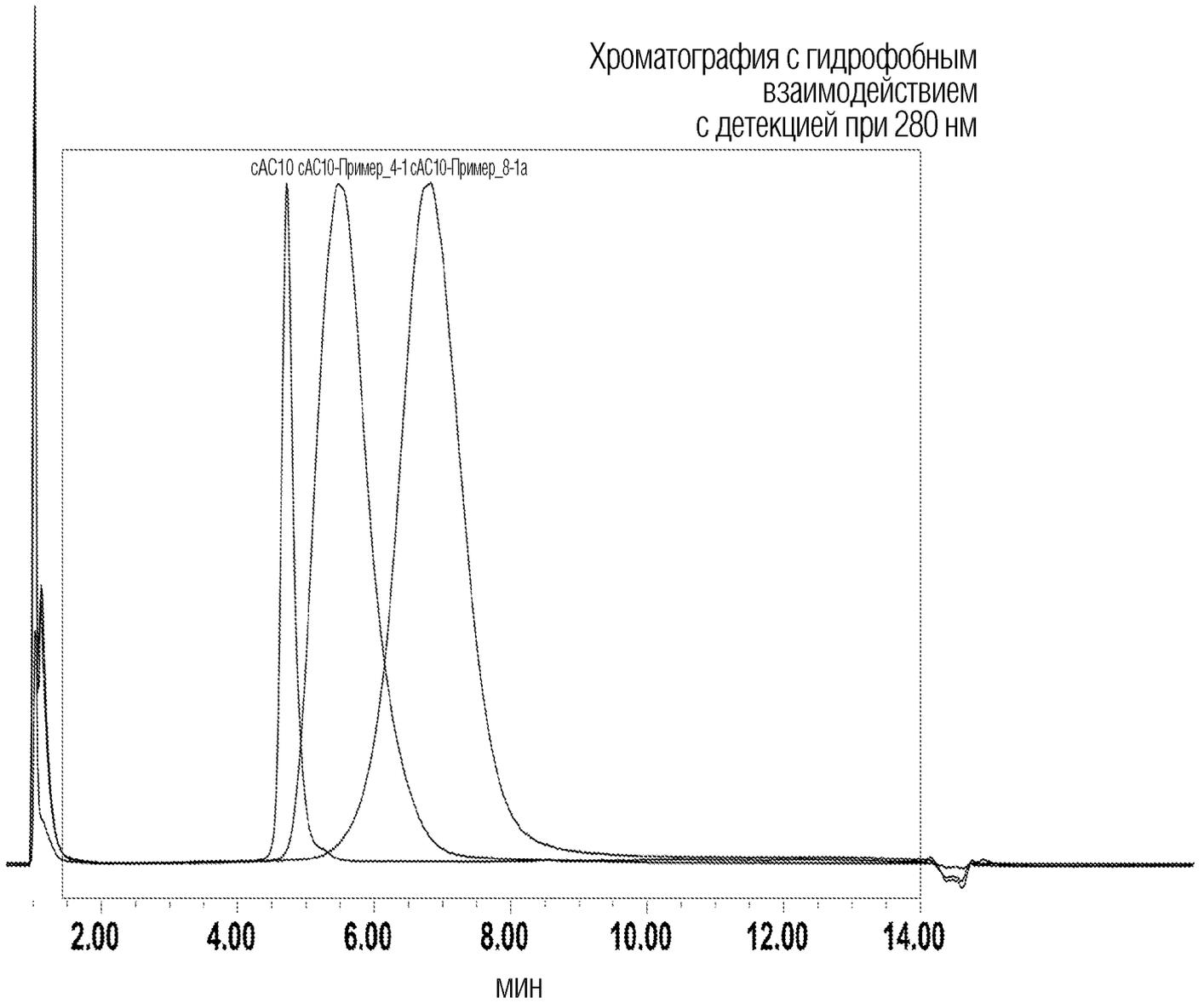
ФИГ. 11



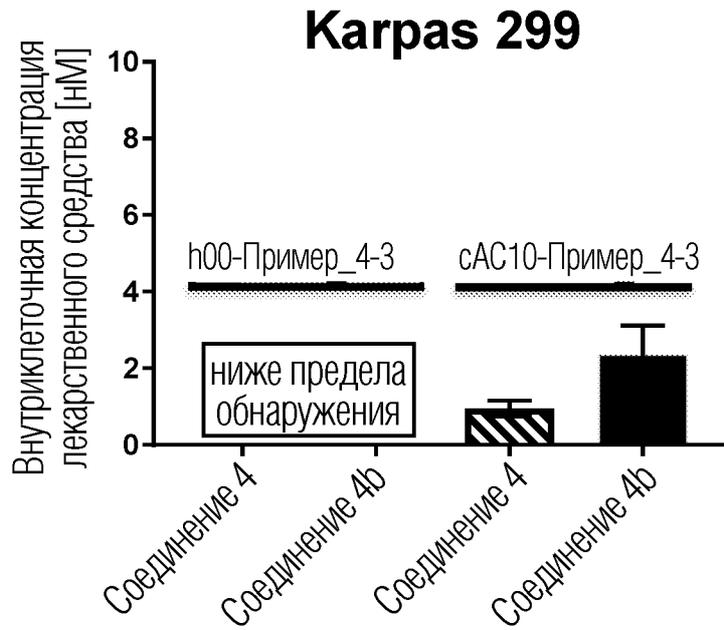
ФИГ. 12



ФИГ. 13



ФИГ. 14А



ФИГ. 14В

