

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202191175 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.09.08

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

(22) Дата подачи заявки
2019.10.29

(54) СКОНСТРУИРОВАННЫЕ С ЦИСТЕИНОМ КОНЬЮГАТЫ АНТИТЕЛО-
ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО, СОДЕРЖАЩИЕ ПЕПТИДСОДЕРЖАЩИЕ ЛИНКЕРЫ

(31) 62/751,945

(32) 2018.10.29

(33) US

(86) PCT/US2019/058586

(87) WO 2020/092385 2020.05.07

(71) Заявитель:
МЕРСАНА ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.
(US)

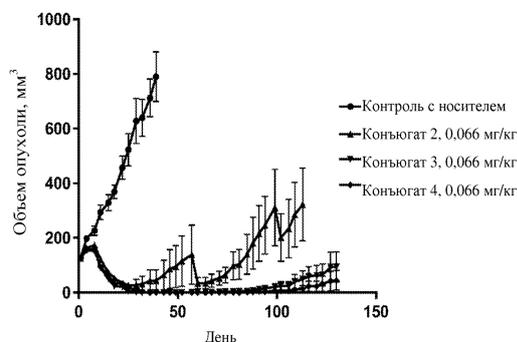
(72) Изобретатель:

Тоадер Дорин, Кэткотт Калли,
Лоунджер Тимоти (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение в целом относится к сконструированным с цистеином конъюгатам антитело-лекарственное средство, содержащим пептидсодержащие линкеры, и к способам применения данных конъюгатов в качестве терапевтических и/или диагностических средств.



A1

202191175

202191175

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-568343EA/055

СКОНСТРУИРОВАННЫЕ С ЦИСТЕИНОМ КОНЬЮГАТЫ АНТИТЕЛО- ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО, СОДЕРЖАЩИЕ ПЕПТИДСОДЕРЖАЩИЕ ЛИНКЕРЫ

РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Данная заявка испрашивает приоритет и преимущество на основании предварительной заявки на патент США № 62/751945, поданной 29 октября 2018 года, согласно § 119(e) раздела 35 Свода федеральных законов США. Содержание данной заявки включено в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Традиционно лекарственные средства состояли в основном из малых молекул, которые вводили пероральным путем (в виде твердых пилюль и жидкостей) или посредством инъекции. В течение трех последних десятилетий составы (*m. e.* композиции, которые регулируют путь и/или скорость доставки лекарственного средства, а также обеспечивают возможность доставки терапевтического средства в требуемое местоположение) становятся все более распространенными и сложными. Тем не менее, множество вопросов и задач, касающихся разработки новых видов лечения, а также механизмов, с помощью которых обеспечивается их введение, остаются нерешенными. В некоторых вариантах осуществления множество лекарственных средств проявляют ограниченные или иным образом сниженные виды активности и виды терапевтического эффекта, поскольку либо, как правило, подвергаются частичному разрушению до достижения требуемой мишени в организме, либо накапливаются в ткани, отличной от ткани-мишени, либо характеризуются коротким периодом полужизни.

[0003] Таким образом, одна цель в области систем доставки лекарственных средств состоит в доставке лекарственных препаратов в интактном состоянии в области организма, в отношении которых осуществляется специфическое нацеливание, посредством системы, которая может обеспечивать стабилизацию лекарственного средства и/или увеличение продолжительности периода полужизни, а также контроль переноса терапевтического средства *in vivo* с применением либо физиологических, либо химических механизмов, либо обоих.

[0004] Конъюгаты антитело-лекарственное средство разрабатывались в качестве мишень-специфических терапевтических средств. Антитела к разнообразным антигенам клеточной поверхности раковых клеток конъюгировали с различными цитотоксическими средствами, включающими без ограничения ингибиторы микротубулина (такие как майтанзиноиды, ауристатины и таксаны, см., например, патенты США №№ 5208020; 5416064; 6333410; 6441163; 6340701; 6372738; 6436931; 6596757 и 7276497); ДНК (такие как калихеамицин, доксорубицин и аналоги СС-1065; см., например, патенты США №№ 5475092; 5585499; 5846545; 6534660; 6756397 и 6630579). Конъюгаты антитело-лекарственное средство, содержащие некоторые из данных цитотоксических

лекарственных средств, активно подвергаются клиническим исследованиям в качестве средств для противораковой терапии (см., например, Ricart, A. D. и Tolcher, A. W., 2007, Nature Clinical Practice, 4, 245-255; Krop et al., 2010, J. Clin. Oncol., 28, 2698-2704). Однако существующие конъюгаты антитело-лекарственное средство демонстрировали ряд ограничений. Основное ограничение представляет собой отсутствие у них способности доставлять лекарственное средство в достаточной концентрации в сайт-мишень по причине ограниченного количества целевых антигенов и/или относительно умеренной цитотоксичности противораковых лекарственных средств, таких как ауристатины, метотрексат, даунорубин, майтанзиноиды, таксаны и винкристин. Успешная разработка ADC к заданному целевому антигену зависит от оптимизации выбора антитела, стабильности линкера, цитотоксической активности лекарственного средства и режима конъюгации линкера и лекарственного средства с антителом.

[0005] Конъюгация фрагмента, представляющего собой лекарственное средство, с антителом посредством ковалентных связей, как правило, приводит к получению неоднородной смеси молекул, где фрагменты, представляющие собой лекарственное средство, являются присоединенными к ряду сайтов на антителе. В некоторых вариантах осуществления цитотоксические лекарственные средства обычно подвергаются конъюгации с антителом посредством лизиновых или цистеиновых остатков антитела, что приводит к получению неоднородной смеси на основе конъюгата антитело-лекарственное средство. В зависимости от условий реакции неоднородная смесь обычно предусматривает диапазон от 0 до приблизительно 8 фрагментов, представляющих собой лекарственное средство, присоединенных к разнообразным сайтам на антителе. Аналитический и препаративный способы являются недостаточными для выделения и определения характеристик молекул данных форм конъюгатов антитело-лекарственное средство в пределах неоднородной смеси, получаемой в результате осуществления реакции конъюгации. Более того, процесс конъюгации может являться невозпроизводимым по причине сложности контроля условий реакции. Следовательно, существует потребность в воспроизводимом пути получения гомогенных конъюгатов антитело-лекарственное средство, в ходе которого могут быть определены характеристики молекул конъюгатов антитело-лекарственное средство.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0006] Настоящее изобретение описывает сконструированный с цистеином конъюгат нацеливающий фрагмент-лекарственное средство, который демонстрирует высокую нагрузку лекарственным средством, а также сильное связывание с целевым антигеном. В некоторых вариантах осуществления сконструированный с цистеином нацеливающий фрагмент представляет собой распознающую молекулу на основе белка (PBRM).

[0007] В некоторых вариантах осуществления PBRM содержит сконструированный цистеин до момента конъюгации. Предпочтительно сконструированная с цистеином PBRM по сути сохраняет одну или более структурных или функциональных

характеристик PBRM без наличия сконструированного цистеина.

[0008] В некоторых вариантах осуществления антитело или фрагмент антитела представляет собой сконструированное антитело или фрагмент антитела. В некоторых вариантах осуществления сконструированная с цистеином PBRM представляет собой сконструированное с цистеином антитело или фрагмент антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело или фрагмент антитела содержит сконструированный цистеин в определенном местоположении, и соответствующее антитело дикого типа или фрагмент антитела не содержит цистеин в том же местоположении.

[0009] В некоторых вариантах осуществления PBRM представляет собой иммуноглобулин, содержащий сконструированный цистеин (например, цистеин, введенный посредством конструирования иммуноглобулина), и сконструированный цистеин не обуславливает нарушение сворачивания и сборки PBRM или изменение антигенсвязывающей и эффекторной функции PBRM.

[0010] В некоторых вариантах осуществления при осуществлении конъюгации PBRM конъюгируют с одним или более лекарственными средствами (например, цитотоксическими лекарственными средствами) посредством сконструированного цистеина (например, посредством тиольной группы сконструированного цистеина). В некоторых вариантах осуществления фрагмент линкер-лекарственное средство присоединяют к PBRM в положении сконструированного цистеина (например, в положении тиольной группы сконструированного цистеина). В некоторых вариантах осуществления одна или более структурных или функциональных характеристик PBRM по сути поддерживается при осуществлении конъюгации. В некоторых вариантах осуществления PBRM представляет собой иммуноглобулин, и конъюгация не обуславливает нарушение сворачивания и сборки иммуноглобулина или изменение антигенсвязывающей и эффекторной функции PBRM. В некоторых вариантах осуществления конъюгат обеспечивает гомогенный стехиометрический состав среди фрагментов линкер-лекарственное средство и PBRM (например, не более двух фрагментов линкер-лекарственное средство являются конъюгированными с каждой PBRM, содержащей сконструированный цистеин в каждой легкой цепи).

[0011] В некоторых вариантах осуществления PBRM представляет собой антитело IgG1, IgG2a или IgG2b, содержащее сконструированный цистеин. В некоторых вариантах осуществления PBRM (например, антитело) содержит один или более сконструированных цистеинов в одном или более местоположениях PBRM и обеспечивает присоединение лекарственного средства в данных местоположениях (например, местоположениях сконструированных цистеинов в Fab легкой цепи, Fab тяжелой цепи или Fc тяжелой цепи). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один сконструированный цистеин располагается в тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один сконструированный цистеин располагается в легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления PBRM (например, антитело) содержит по меньшей мере одну мутацию в константной области легкой цепи в положении V205C (система

нумерации по Kabat).

[0012] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к конъюгату, содержащему сконструированный с цистеином нацеливающий фрагмент и один или более фрагментов линкер-лекарственное средство, ковалентно связанных со сконструированным с цистеином нацеливающим фрагментом, где

каждый фрагмент линкер-лекарственное средство включает многофункциональный линкер, который присоединяет сконструированный с цистеином нацеливающий фрагмент к одному или более звеньям, представляющим собой лекарственное средство, посредством сборочного звена, обеспечивающего возможность высвобождения, для каждого звена, представляющего собой лекарственное средство, и присоединяет гидрофильную группу к звеньям, представляющим собой лекарственное средство, из каждого фрагмента линкер-лекарственное средство,

где сборочные звенья, обеспечивающие возможность высвобождения, обладают способностью высвобождать лекарственное средство в свободной форме вблизи сайта-мишени, на который нацелен нацеливающий фрагмент, и

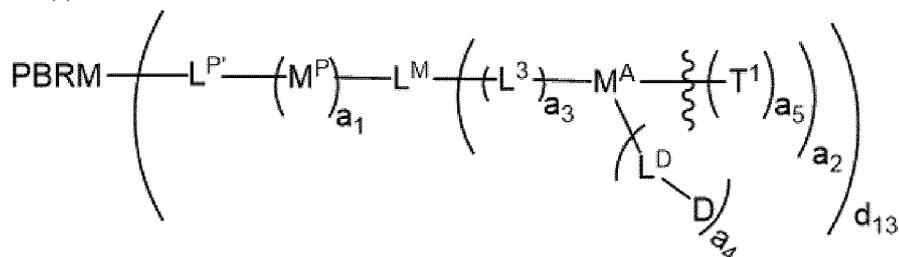
где многофункциональный линкер содержит пептидный фрагмент между сконструированным с цистеином нацеливающим фрагментом и гидрофильной группой, где пептидный фрагмент включает по меньшей мере две аминокислоты.

[0013] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к конъюгату, содержащему нацеливающий фрагмент и один или более фрагментов линкер-лекарственное средство, ковалентно связанных со сконструированным с цистеином нацеливающим фрагментом, где

каждый фрагмент линкер-лекарственное средство включает многофункциональный линкер, который присоединяет сконструированный с цистеином нацеливающий фрагмент к одному или более звеньям, представляющим собой лекарственное средство, посредством сборочного звена, обеспечивающего возможность высвобождения, для каждого звена, представляющего собой лекарственное средство, а также присоединяет многоатомный спирт или его производное к звеньям, представляющим собой лекарственное средство, из каждого фрагмента линкер-лекарственное средство,

где сборочные звенья, обеспечивающие возможность высвобождения, обладают способностью высвобождать лекарственное средство в свободной форме вблизи сайта-мишени, на который нацелен нацеливающий фрагмент.

[0014] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к конъюгату формулы (I):



(I),

где

 a_1 , если присутствует, представляет собой целое число от 0 до 1; a_2 представляет собой целое число от 1 до 3; a_3 , если присутствует, представляет собой целое число от 0 до 1; a_4 представляет собой целое число от 1 до приблизительно 5; a_5 представляет собой целое число от 1 до 3; d_{13} представляет собой целое число от 1 до приблизительно 6;

PBRM обозначает распознающую молекулу на основе белка, где PBRM содержит сконструированный цистеин;

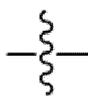
L^P представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, присоединяющий сконструированный цистеин из PBRM к M^P ; при этом соответствующий одновалентный фрагмент L^P содержит функциональную группу W^P , обладающую способностью образовывать ковалентную связь со сконструированным цистеином из PBRM;

 M^P , если присутствует, представляет собой вставочное звено;

L^M представляет собой связь или трехвалентный или четырехвалентный линкер, и в случае, если L^M представляет собой связь, a_2 равняется 1, в случае, если L^M представляет собой трехвалентный линкер, a_2 равняется 2, или в случае, если L^M представляет собой четырехвалентный линкер, a_2 равняется 3;

 L^3 , если присутствует, представляет собой карбонилсодержащий фрагмент;

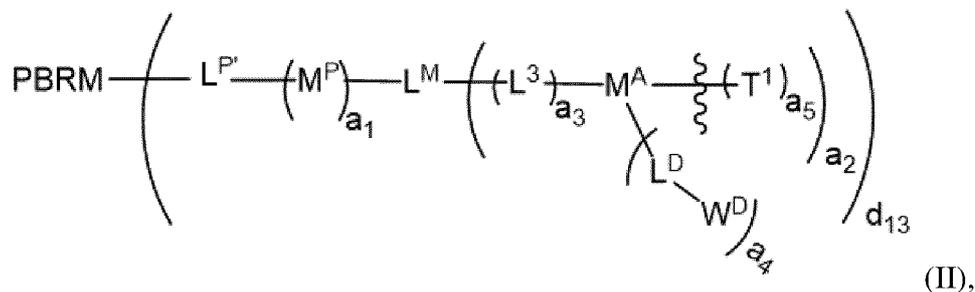
M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит по меньшей мере две аминокислоты;

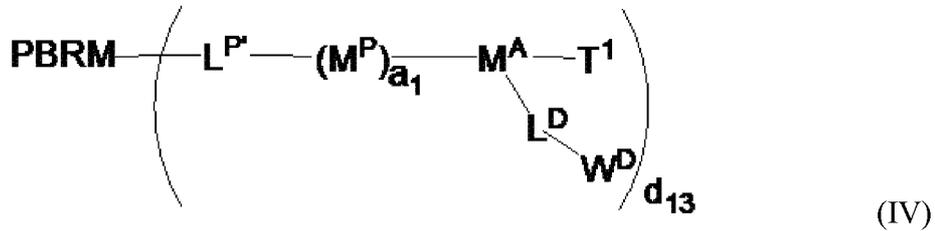
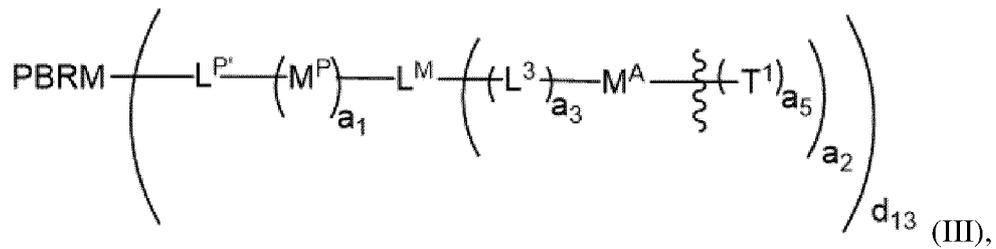
T^1 представляет собой гидрофильную группу, и  между T^1 и M^A обозначает прямое или не прямое присоединение к T^1 и M^A ;

в каждом случае D независимо представляет собой терапевтическое средство, имеющее молекулярную массу \leq приблизительно 5 кДа; и

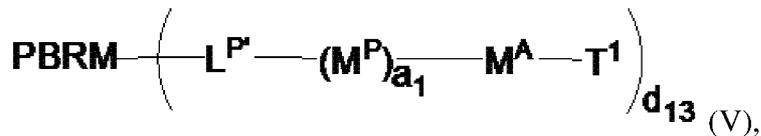
в каждом случае L^D независимо представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, присоединяющий D к M^A , и содержит по меньшей мере одну расщепляемую связь таким образом, чтобы при разрушении связи D высвобождалось в активной форме для обеспечения его предполагаемого терапевтического эффекта.

[0015] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к пептидсодержащему каркасу, характеризующимся любой из формул (II)-(V):





или



где:

a_1 , если присутствует, представляет собой целое число от 0 до 1;

a_2 , если присутствует, представляет собой целое число от 1 до 3;

a_3 , если присутствует, представляет собой целое число от 0 до 1;

a_4 , если присутствует, представляет собой целое число от 1 до приблизительно 5;

a_5 , если присутствует, представляет собой целое число от 1 до 3;

d_{13} представляет собой целое число от 1 до приблизительно 6;

PBRM обозначает распознающую молекулу на основе белка, где PBRM содержит сконструированный цистеин;

L^{P} представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, присоединяющий сконструированную с цистеином PBRM к M^{P} ; при этом соответствующий одновалентный фрагмент L^{P} содержит функциональную группу W^{P} , обладающую способностью образовывать ковалентную связь с функциональной группой сконструированного цистеина из PBRM;

M^{P} , если присутствует, представляет собой вставочное звено;

L^{M} , если присутствует, представляет собой связь, или трехвалентный или четырехвалентный линкер, и в случае, если L^{M} представляет собой связь, a_2 равняется 1, в случае, если L^{M} представляет собой трехвалентный линкер, a_2 равняется 2, или в случае, если L^{M} представляет собой четырехвалентный линкер, a_2 равняется 3;

L^3 , если присутствует, представляет собой карбонилсодержащий фрагмент;

M^{A} содержит пептидный фрагмент, который содержит по меньшей мере две аминокислоты;

T^1 представляет собой гидрофильную группу, и  между T^1 и M^{A} обозначает прямое или не прямое присоединение к T^1 и M^{A} ;

в каждом случае W^D , если присутствует, независимо представляет собой функциональную группу, которая обладает способностью образовывать ковалентную связь с функциональной группой терапевтического средства («D»), имеющего молекулярную массу \leq приблизительно 5 кДа; и

в каждом случае L^D независимо представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, присоединяющий W^D или D к M^A , и L^D содержит по меньшей мере одну расщепляемую связь таким образом, чтобы при разрушении связи D высвобождалось в активной форме для обеспечения его предполагаемого терапевтического эффекта.

[0016] Конъюгаты и каркасы по настоящему изобретению могут включать один или более из следующих характеристик в случае, если это применимо.

[0017] В некоторых вариантах осуществления каждое из звеньев, представляющих собой лекарственное средство, и гидрофильная группа присоединены к многофункциональному линкеру в параллельной ориентации.

[0018] В некоторых вариантах осуществления сконструированный с цистеином нацеливающий фрагмент представляет собой распознающую молекулу на основе белка (PBRM). В некоторых вариантах осуществления PBRM представляет собой антитело или фрагмент антитела.

[0019] В некоторых вариантах осуществления PBRM содержит сконструированный цистеин в положении V205 (в соответствии с системой нумерации по Kabat) легкой цепи.

[0020] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент в составе многофункционального линкера содержит от трех до приблизительно шестнадцати аминокислот, например, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5, приблизительно 6, приблизительно 7, приблизительно 8, приблизительно 9, приблизительно 10, приблизительно 11, приблизительно 12, приблизительно 13, приблизительно 14, приблизительно 15 или приблизительно 16 аминокислот.

[0021] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент в составе многофункционального линкера содержит от трех до приблизительно десяти аминокислот, например, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5, приблизительно 6, приблизительно 7, приблизительно 8, приблизительно 9 или приблизительно 10 аминокислот.

[0022] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит от трех до приблизительно десяти аминокислот, выбранных из глицина, серина, глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, лизина, цистеина, их стереоизомеров (например, изоглутаминовой кислоты или изоаспарагиновой кислоты) и их комбинации.

[0023] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит по меньшей мере четыре глицина и по меньшей мере один серин.

[0024] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит по меньшей мере четыре глицина, по меньшей мере один серин и по меньшей мере одну глутаминовую кислоту или изоглутаминовую кислоту.

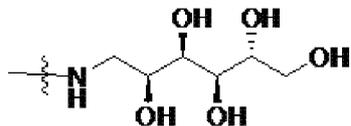
[0025] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит по

меньшей мере четыре глицина и по меньшей мере одну глутаминовую кислоту.

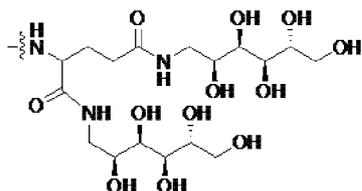
[0026] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит многоатомный спирт или его производное, его полиэфир или производное или их комбинацию.

[0027] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит аминовый многоатомный спирт, например, глюкамин или бис-глюкамин.

[0028] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит:



[0029] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит:



[0030] В некоторых вариантах осуществления аминовый многоатомный спирт представляет собой $\frac{1}{2}\text{NH-R}_{60}-(\text{CR}_{58}\text{OH})_{n1}-\text{R}_{61}$, где

n_1 представляет собой целое число от 0 до приблизительно 6;

каждый R_{58} , если присутствует, независимо представляет собой водород или C_{1-8} алкил;

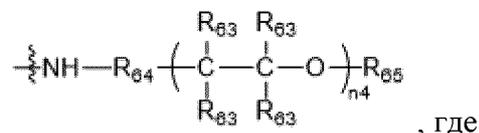
R_{60} представляет собой связь, C_{1-6} алкильный линкер или $-\text{CHR}_{59}-$, где R_{59} представляет собой $-\text{H}$, C_{1-8} алкил, циклоалкил или арилалкил;

R_{61} представляет собой $\text{CH}_2\text{OR}_{62}$, COOR_{62} , $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{COOR}_{62}$ или гетероциклоалкил, замещенный одним или более гидроксилами;

R_{62} представляет собой H или C_{1-8} алкил; и

n_2 представляет собой целое число от 1 до приблизительно 5.

[0031] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит



n_4 представляет собой целое число от 1 до приблизительно 25;

каждый R_{63} независимо представляет собой водород или C_{1-8} алкил;

R_{64} представляет собой связь или C_{1-8} алкильный линкер;

R_{65} представляет собой H , C_{1-8} алкил или $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{COOR}_{62}$;

R_{62} представляет собой H или C_{1-8} алкил; и

n_2 представляет собой целое число от 1 до приблизительно 5.

[0032] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит полиэтиленгликоль, например, полиэтиленгликоль, содержащий от приблизительно 6 до

приблизительно 24 субъединиц PEG.

[0033] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит полиэтиленгликоль, содержащий от приблизительно 6 до приблизительно 12 субъединиц PEG.

[0034] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит полиэтиленгликоль, содержащий от приблизительно 8 до приблизительно 12 субъединиц PEG.

[0035] В некоторых вариантах осуществления L^3 , если присутствует, содержит -X- C_{1-10} алкилен-C(O)-, при этом X непосредственно присоединен к L^M , где X представляет собой CH_2 , O или NR_5 , и R_5 представляет собой водород, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, C_3 -циклоалкил, COOH или COO- C_{1-6} алкил.

[0036] В некоторых вариантах осуществления L^3 , если присутствует, представляет собой $-NR_5-(CH_2)_v-C(O)-$ или $-CH_2-(CH_2)_v-C(O)-NR_5-(CH_2)_v-C(O)-$, где каждый v независимо представляет собой целое число от 1 до 10 (например, каждый v независимо представляет собой целое число от 1 до 6 или от 2 до 4 или 2). В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой $-NH-(CH_2)_2-C(O)-$ или $-(CH_2)_2-C(O)-NH-(CH_2)_2-C(O)-$.

[0037] В некоторых вариантах осуществления a_4 равняется 1, 2 или 3.

[0038] В некоторых вариантах осуществления d_{13} представляет собой целое число от приблизительно 1 до приблизительно 6.

[0039] В некоторых вариантах осуществления d_{13} представляет собой целое число от приблизительно 1 до приблизительно 4.

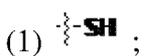
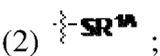
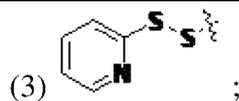
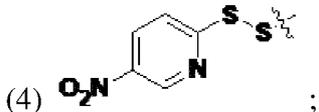
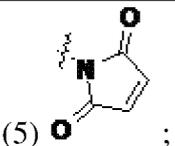
[0040] В некоторых вариантах осуществления d_{13} представляет собой целое число от приблизительно 4 до приблизительно 6.

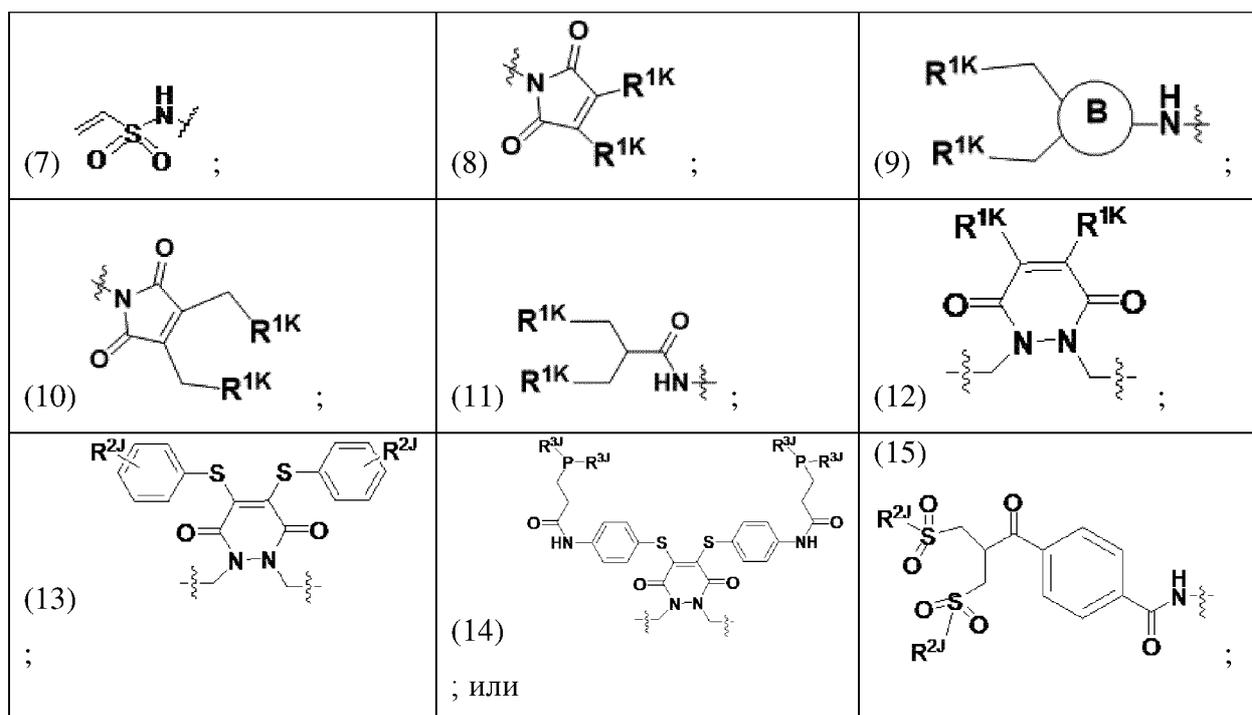
[0041] В некоторых вариантах осуществления d_{13} представляет собой целое число от приблизительно 2 до приблизительно 4.

[0042] В некоторых вариантах осуществления d_{13} представляет собой целое число от приблизительно 1 до приблизительно 2.

[0043] В некоторых вариантах осуществления d_{13} равняется 2.

[0044] В некоторых вариантах осуществления каждый W^P , если присутствует, представляет собой независимо:

(1)  ;	(2)  ;	(3)  ;
(4)  ;	(5)  ;	(6)  ;



где

кольцо В представляет собой циклоалкил, гетероциклоалкил, арил или гетероарил;

R^{1K} представляет собой уходящую группу;

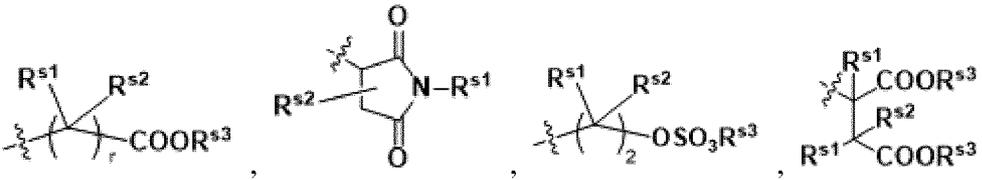
R^{1A} представляет собой защитную группу для атома серы;

R^{2J} представляет собой водород, алифатический, арильный, гетероалифатический или карбоциклический фрагмент; и

R^{3J} представляет собой C_{1-6} алкил, и каждый из Z_1 , Z_2 , Z_3 и Z_7 независимо представляет собой атом углерода или азота.

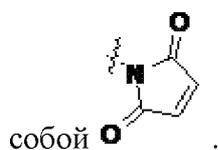
[0045] В некоторых вариантах осуществления R^{1K} представляет собой атом галогена или $RC(O)O-$, где R представляет собой водород, алифатический, гетероалифатический, карбоциклический или гетероциклоалкильный фрагмент.

[0046] В некоторых вариантах осуществления R^{1A} представляет собой



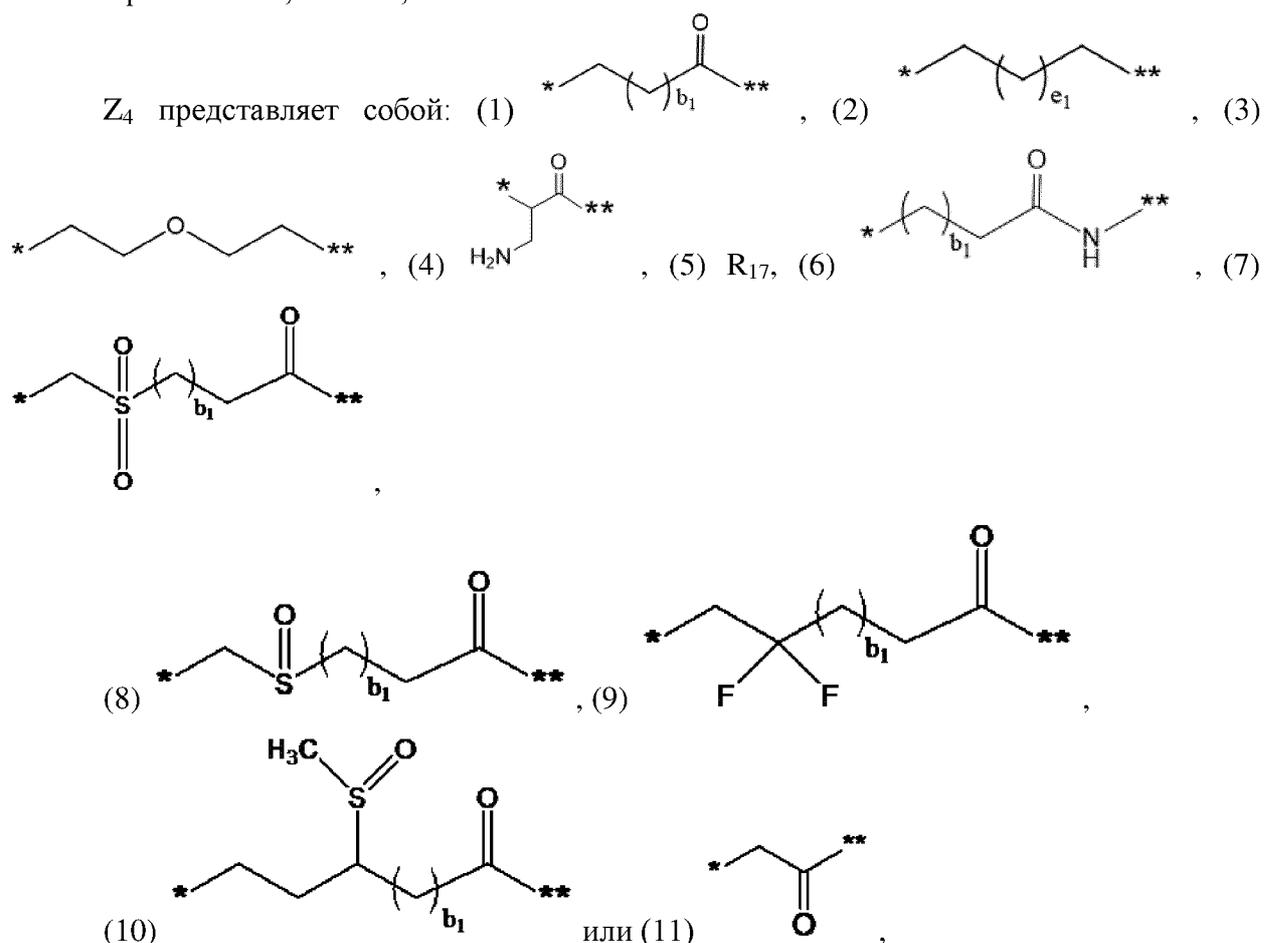
где r равняется 1 или 2, и каждый из R^{s1} , R^{s2} и R^{s3} независимо представляет собой водород, алифатический фрагмент, гетероалифатический фрагмент, карбоциклический фрагмент или гетероциклоалкильный фрагмент.

[0047] В некоторых вариантах осуществления каждый W^P независимо представляет



[0048] В некоторых вариантах осуществления M^P , если присутствует, представляет

собой $-(Z_4)-[(Z_5)-(Z_6)]_z-$, при этом Z_4 присоединен к $L^{P'}$ или L^P , и Z_6 присоединен к L^M , где z равняется 1, 2 или 3;



где * обозначает присоединение к $L^{P'}$ или L^P , и ** обозначает присоединение к Z_5 или Z_6 , если присутствует, или к L^M , если как Z_5 , так и Z_6 отсутствуют;

b_1 представляет собой целое число от 0 до 6;

e_1 представляет собой целое число от 0 до 8,

R_{17} представляет собой C_{1-10} алкилен, C_{1-10} гетероалкилен, C_{3-8} циклоалкилен, $O-(C_{1-8}$ алкилен, арилен, $-C_{1-10}$ алкилен-арил-, -арил- C_{1-10} алкилен-, $-C_{1-10}$ алкилен- $(C_{3-8}$ циклоалкилен)-, $-(C_{3-8}$ циклоалкилен- C_{1-10} алкилен-, 4-14-членный гетероциклоалкилен, $-C_{1-10}$ алкилен-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-, $-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-C_{1-10}$ алкилен-, $-C_{1-10}$ алкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ гетероалкилен- $C(=O)-$, $-C_{3-8}$ циклоалкилен- $C(=O)-$, $-O-(C_{1-8}$ алкил)- $C(=O)-$, -арил- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен-арил- $C(=O)-$, -арил- C_{1-10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен- $(C_{3-8}$ циклоалкилен)- $C(=O)-$, $-(C_{3-8}$ циклоалкилен)- C_{1-10} алкилен- $C(=O)-$, 4-14-членный гетероциклоалкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен-(4-14-членный гетероциклоалкилен)- $C(=O)-$, $-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-C_{1-10}$ алкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен-NH-, $-C_{1-10}$ гетероалкилен-NH-, $-C_{3-8}$ циклоалкилен-NH-, $-O-(C_{1-8}$ алкил)-NH-, -арил-NH-, $-C_{1-10}$ алкилен-арил-NH-, -арил- C_{1-10} алкилен-NH-, $-C_{1-10}$ алкилен- $(C_{3-8}$ циклоалкилен)-NH-, $-(C_{3-8}$ циклоалкилен)- C_{1-10} алкилен-NH-, 4-14-членный гетероциклоалкилен-NH-, $-C_{1-10}$ алкилен-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-NH-, $-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-C_{1-10}$ алкилен-NH-, $-C_{1-10}$ алкилен-S-, $-C_{1-10}$ гетероалкилен-S-,

-C₃₋₈циклоалкилен-S-, -O-C₁₋₈алкил)-S-, -арилен-S-, -C₁₋₁₀алкилен-арилен-S-, -арилен-C₁₋₁₀алкилен-S-, -C₁₋₁₀алкилен-(C₃₋₈циклоалкилен)-S-, -(C₃₋₈циклоалкилен)-C₁₋₁₀алкилен-S-, -4-14-членный гетероциклоалкилен-S-, -C₁₋₁₀алкилен-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-S- или -(4-14-членный гетероциклоалкилен)-C₁₋₁₀алкилен-S-;

каждый Z₅ независимо отсутствует, представляет собой R₅₇-R₁₇ или полиэфирное звено;

каждый R₅₇ независимо представляет собой связь, NR₂₃, S или O;

каждый R₂₃ независимо представляет собой водород, C₁₋₆алкил, C₆₋₁₀арил, C₃₋₈циклоалкил, COOH или COO-C₁₋₆алкил; и

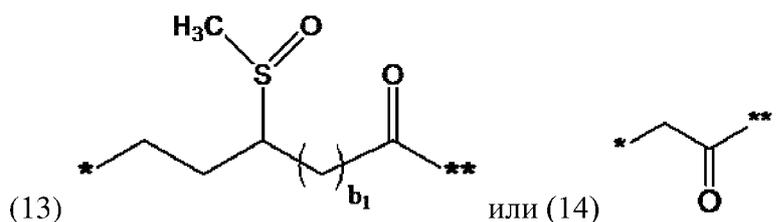
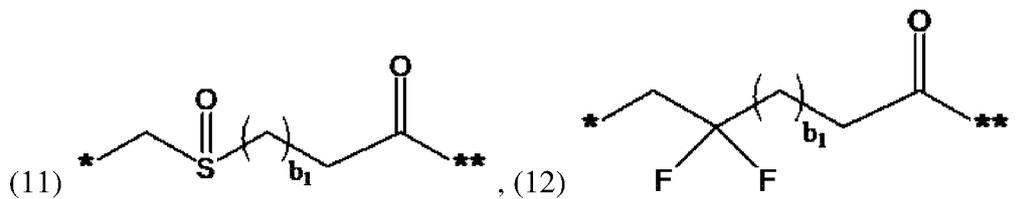
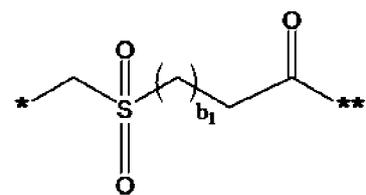
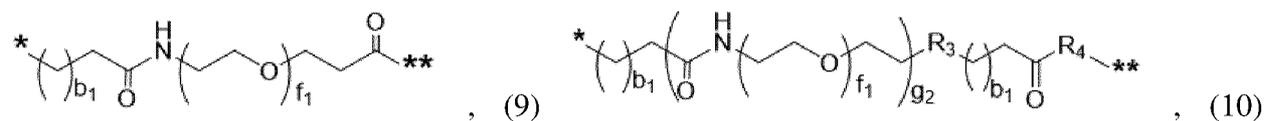
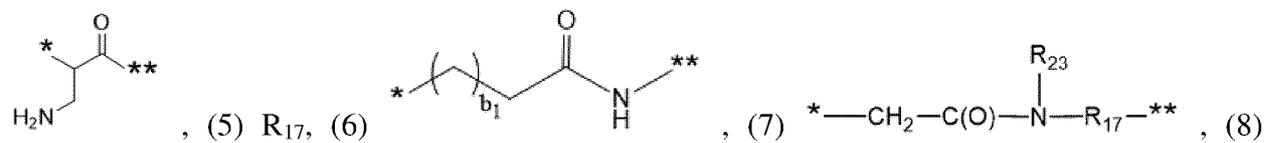
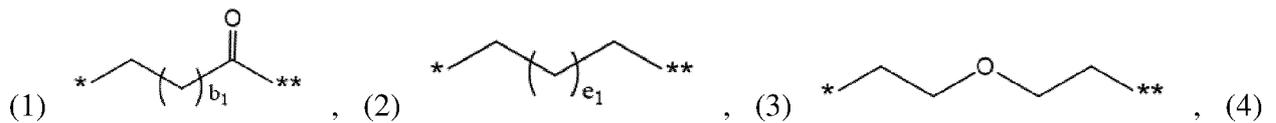
каждый Z₆ независимо отсутствует, представляет собой -C₁₋₁₀алкил-R₃-, -C₁₋₁₀алкил-NR₅-, -C₁₋₁₀алкил-C(O)-, -C₁₋₁₀алкил-O-, -C₁₋₁₀алкил-S- или -(C₁₋₁₀алкил-R₃)_{g₁}-C₁₋₁₀алкил-C(O)-;

каждый R₃ независимо представляет собой -C(O)-NR₅- или -NR₅-C(O)-;

каждый R₅ независимо представляет собой водород, C₁₋₆алкил, C₆₋₁₀арил, C₃₋₈циклоалкил, COOH или COO-C₁₋₆алкил; и

g₁ представляет собой целое число от 1 до 4.

[0049] В некоторых вариантах осуществления M^P, если присутствует, представляет собой



где * обозначает присоединение к L^P или L^M , и ** обозначает присоединение к L^M ;

R_3 представляет собой $-C(O)-NR_5$ или $-NR_5-C(O)-$;

R_4 представляет собой связь или $-NR_5-(CR_{20}R_{21})-C(O)-$;

R_5 представляет собой водород, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, C_{3-8} циклоалкил, $-COOH$ или $-COO-C_{1-6}$ алкил;

R_{17} представляет собой C_{1-10} алкилен, C_{1-10} гетероалкилен, C_{3-8} циклоалкилен, $O-(C_{1-8}$ алкилен, арилен, $-C_{1-10}$ алкилен-арил-, $-арил-С_{1-10}$ алкилен-, $-C_{1-10}$ алкилен- $(C_{3-8}$ циклоалкилен)-, $-(C_{3-8}$ циклоалкилен- C_{1-10} алкилен-, $4-14$ -членный гетероциклоалкилен, $-C_{1-10}$ алкилен- $(4-14$ -членный гетероциклоалкилен)-, $-(4-14$ -членный гетероциклоалкилен)- C_{1-10} алкилен-, $-C_{1-10}$ алкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ гетероалкилен- $C(=O)-$, $-C_{3-8}$ циклоалкилен- $C(=O)-$, $-O-(C_{1-8}$ алкил)- $C(=O)-$, $-арил-С(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен-арил- $C(=O)-$, $-арил-С_{1-10}$ алкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен- $(C_{3-8}$ циклоалкилен)- $C(=O)-$, $-(C_{3-8}$ циклоалкилен)- C_{1-10} алкилен- $C(=O)-$, $4-14$ -членный гетероциклоалкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен- $(4-14$ -членный гетероциклоалкилен)- $C(=O)-$, $-(4-14$ -членный гетероциклоалкилен)- C_{1-10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен- $NH-$, $-C_{1-10}$ гетероалкилен- $NH-$, $-C_{3-8}$ циклоалкилен- $NH-$, $-O-(C_{1-8}$ алкил)- $NH-$, $-арил-НН-$, $-C_{1-10}$ алкилен-арил- $NH-$, $-арил-С_{1-10}$ алкилен- $NH-$, $-C_{1-10}$ алкилен- $(C_{3-8}$ циклоалкилен)- $NH-$, $-(C_{3-8}$ циклоалкилен)- C_{1-10} алкилен- $NH-$, $4-14$ -членный гетероциклоалкилен- $NH-$, $-C_{1-10}$ алкилен- $(4-14$ -членный гетероциклоалкилен)- $NH-$, $-(4-14$ -членный гетероциклоалкилен)- C_{1-10} алкилен- $NH-$, $-C_{1-10}$ алкилен- $S-$, $-C_{1-10}$ гетероалкилен- $S-$, $-C_{3-8}$ циклоалкилен- $S-$, $-O-C_{1-8}$ алкил)- $S-$, $-арил-С-$, $-C_{1-10}$ алкилен-арил- $S-$, $-арил-С_{1-10}$ алкилен- $S-$, $-C_{1-10}$ алкилен- $(C_{3-8}$ циклоалкилен)- $S-$, $-(C_{3-8}$ циклоалкилен)- C_{1-10} алкилен- $S-$, $4-14$ -членный гетероциклоалкилен- $S-$, $-C_{1-10}$ алкилен- $(4-14$ -членный гетероциклоалкилен)- $S-$ или $-(4-14$ -членный гетероциклоалкилен)- C_{1-10} алкилен- $S-$;

каждый R_{20} и R_{21} независимо представляет собой водород, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, гидроксированный C_{6-10} арил, полигидроксированный C_{6-10} арил, $5-12$ -членный гетероцикл, C_{3-8} циклоалкил, гидроксированный C_{3-8} циклоалкил, полигидроксированный C_{3-8} циклоалкил или боковую цепь существующей в природе или не существующей в природе аминокислоты;

каждый R_{23} независимо представляет собой водород, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, C_{3-8} циклоалкил, $COOH$ или $COO-C_{1-6}$ алкил;

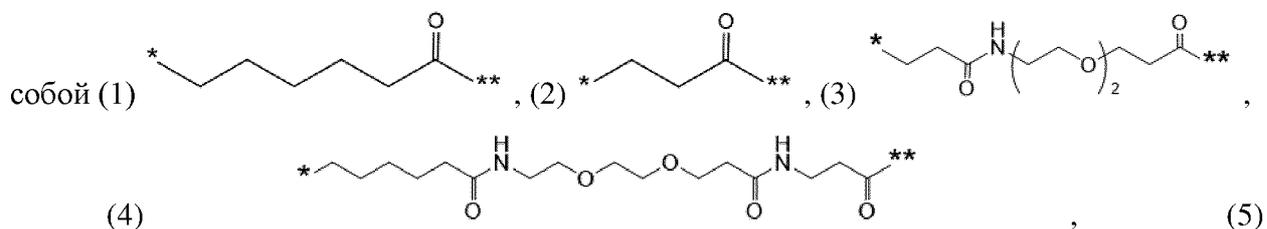
каждый b_1 независимо представляет собой целое число от 0 до 6;

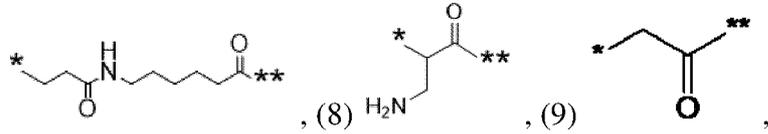
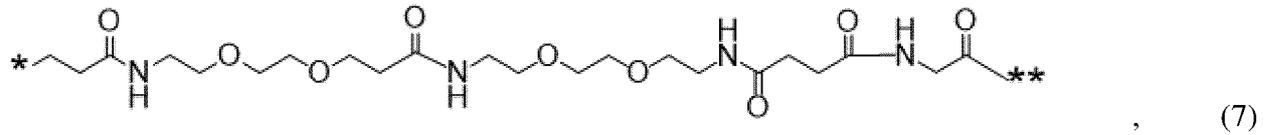
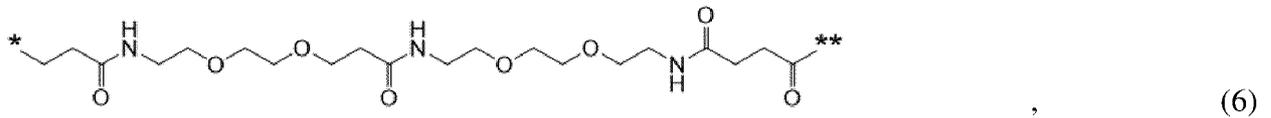
e_1 представляет собой целое число от 0 до 8;

каждый f_1 независимо представляет собой целое число от 1 до 6; и

g_2 представляет собой целое число от 1 до 4.

[0050] В некоторых вариантах осуществления M^P , если присутствует, представляет

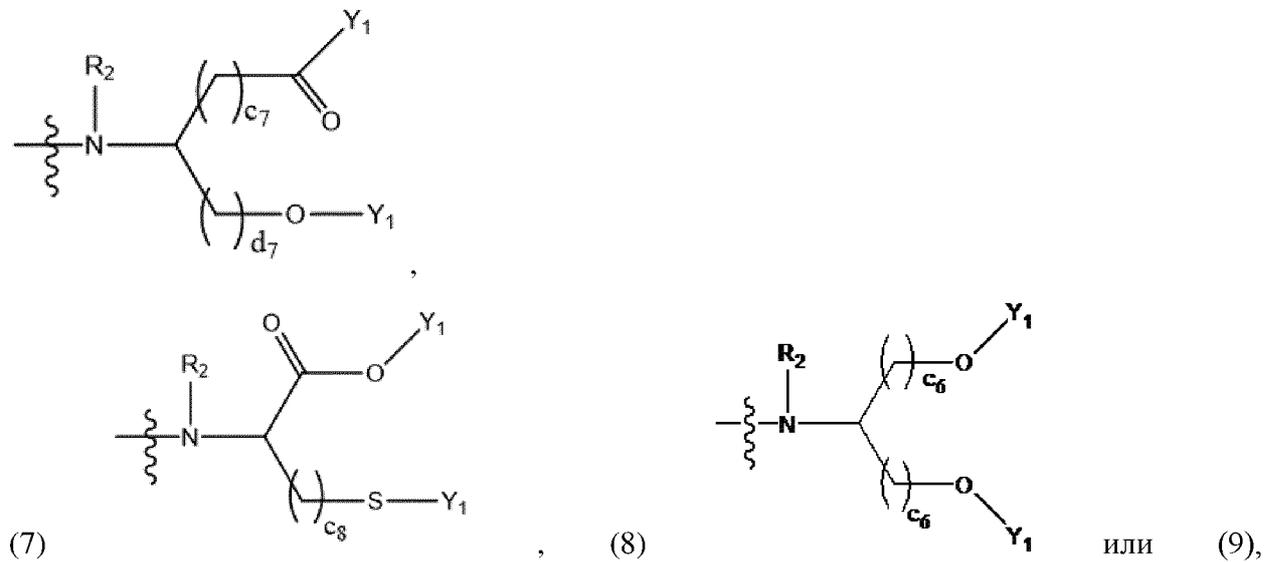
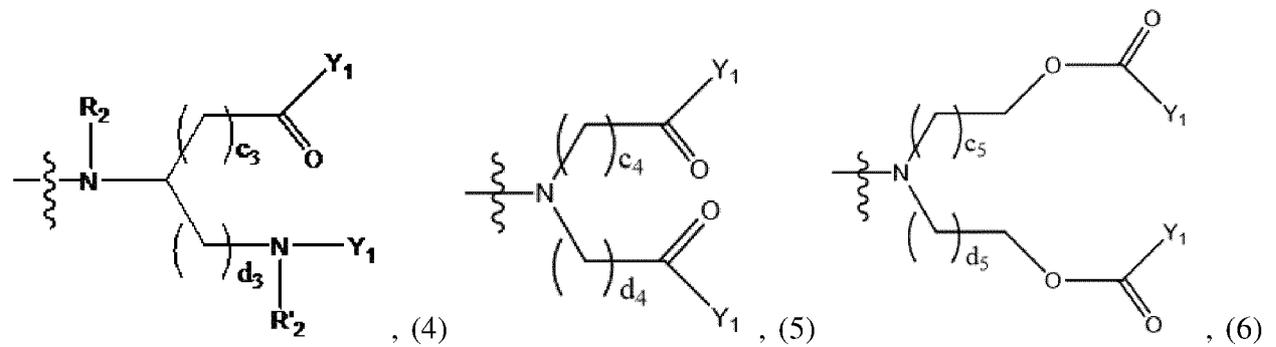
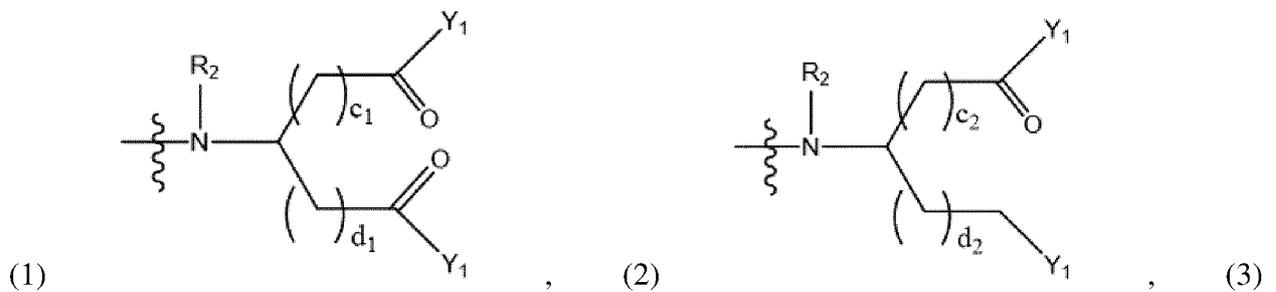


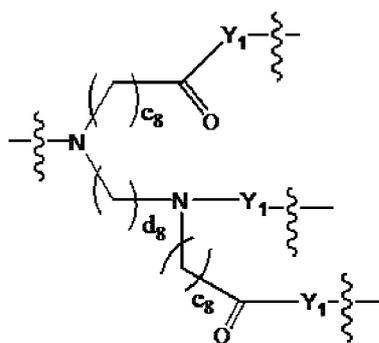


где * обозначает присоединение к L^P или L^P , и ** обозначает присоединение к L^M .

[0051] В некоторых вариантах осуществления L^M представляет собой связь и a_2 равняется 1.

[0052] В некоторых вариантах осуществления a_2 равняется 2, и L^M представляет собой





где

 обозначает присоединение к M^P , если присутствует, или присоединение к L^P или $L^{P'}$, если M^P отсутствует;

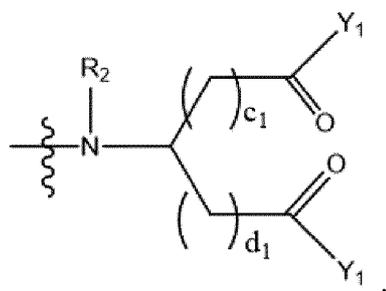
Y_1 обозначает присоединение к L^3 , если присутствует, или присоединение к M^A , если L^3 отсутствует;

каждый R_2 и R'_2 независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_{1-6} алкил, необязательно замещенный C_{2-6} алкенил, необязательно замещенный C_{2-6} алкинил, необязательно замещенный разветвленный C_{3-19} алкил, необязательно замещенный C_{3-8} циклоалкил, необязательно замещенный C_{6-10} арил, необязательно замещенный гетероарил, необязательно замещенный C_{1-6} гетероалкил, C_{1-6} алкокси, арилокси, C_{1-6} гетероалкокси, C_{2-6} алканоил, необязательно замещенный арилкарбонил, C_{2-6} алкоксикарбонил, C_{2-6} алканоилокси, арилкарбонилокси, необязательно замещенный C_{2-6} алканоил, необязательно замещенный C_{2-6} алканоилокси, необязательно замещенный C_{2-6} алканоилокси, $COOH$ или $COO-C_{1-6}$ алкил;

каждый из $c_1, c_2, c_3, c_4, c_5, c_7$ и c_8 представляет собой целое число, независимо находящееся в диапазоне от 0 до 10; и

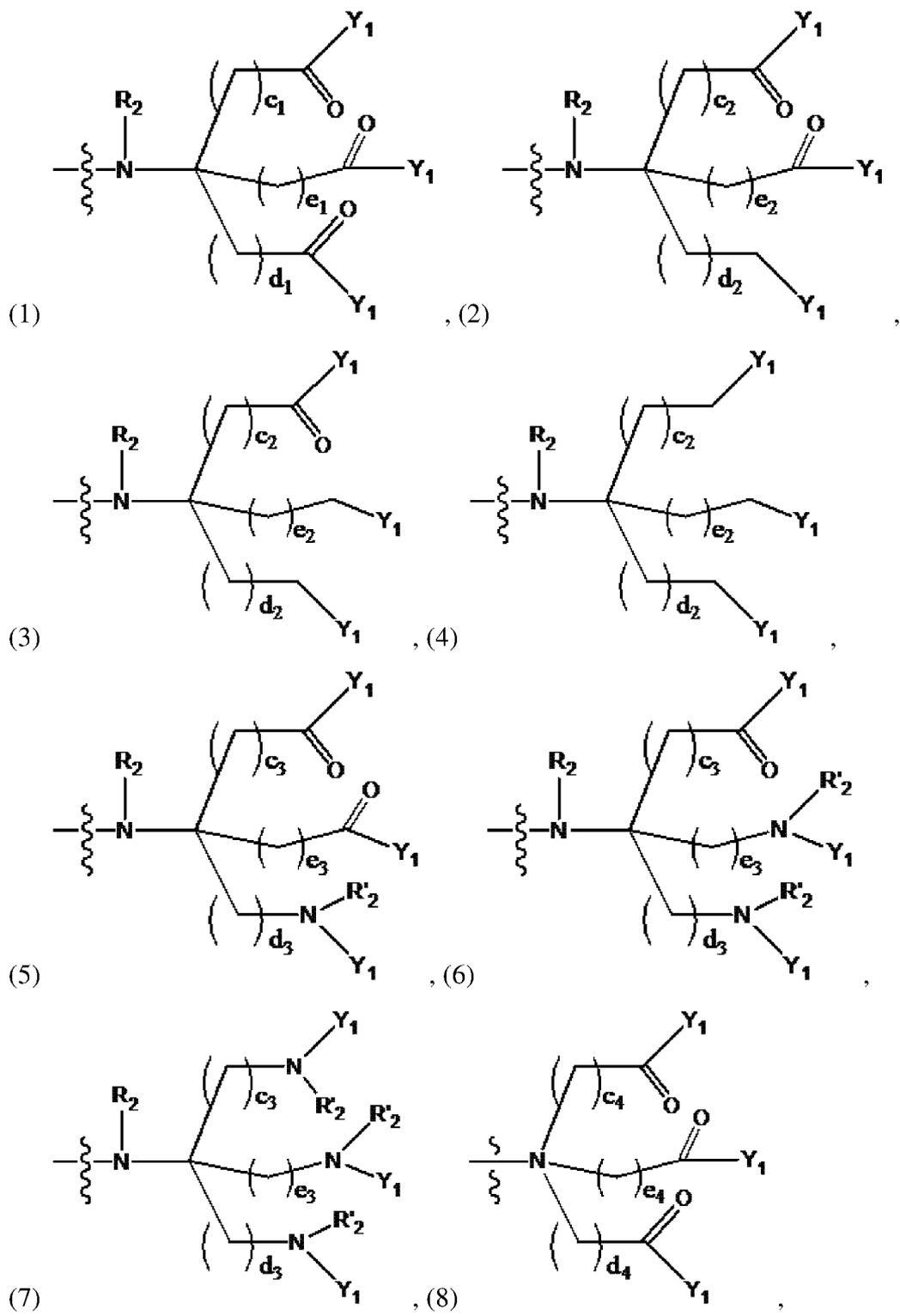
каждый из d_1, d_2, d_3, d_4, d_5 , и d_7 представляет собой целое число, независимо находящееся в диапазоне от 0 до 10.

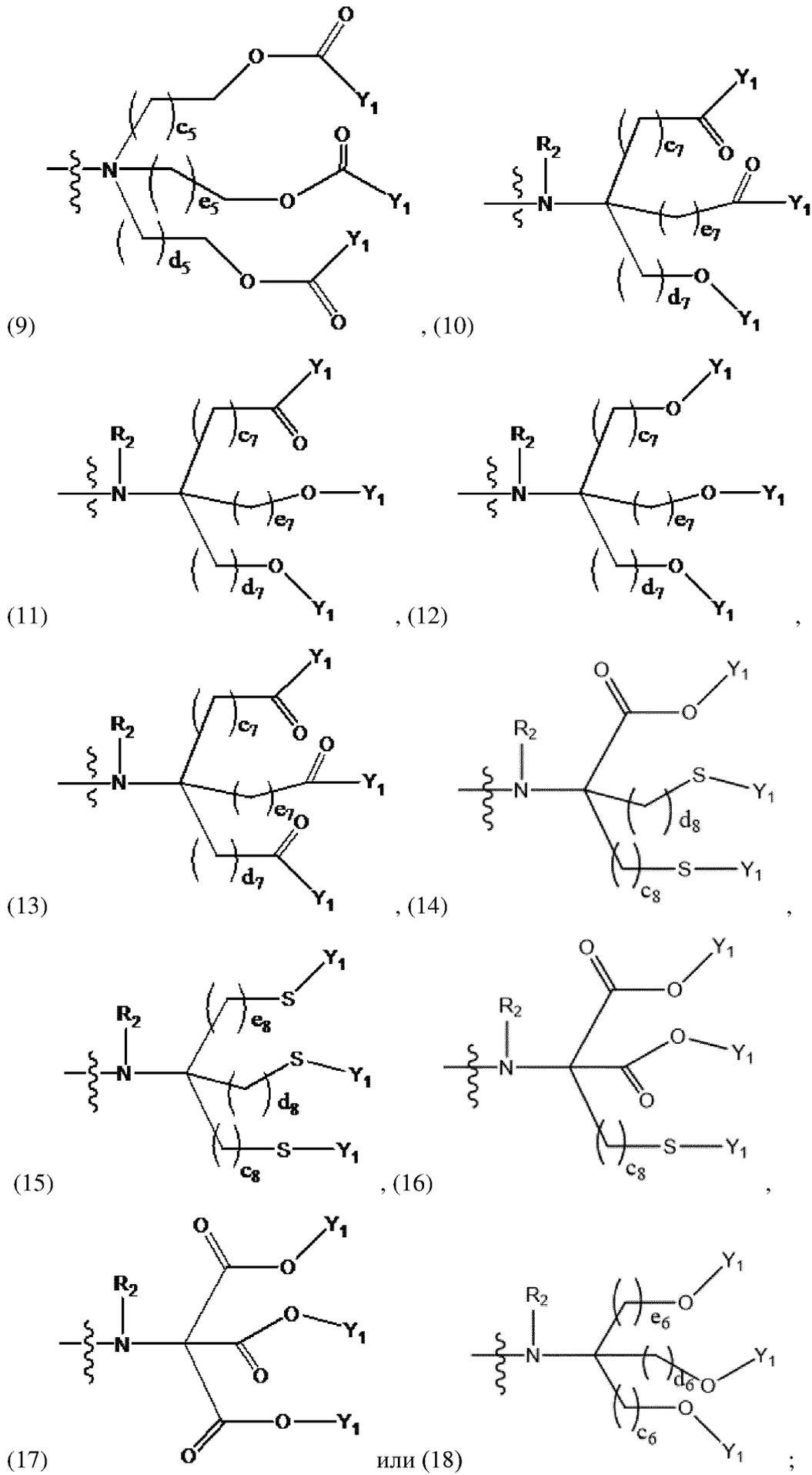
[0053] В некоторых вариантах осуществления a_2 равняется 2 и L^M представляет



собой:

[0054] В некоторых вариантах осуществления a_2 равняется 3 и L^M представляет собой:





где:

 обозначает присоединение к M^P , если присутствует, или присоединение к L^P или L^P , если M^P отсутствует;

Y_1 обозначает присоединение к L^3 , если присутствует, или присоединение к M^A , если L^3 отсутствует;

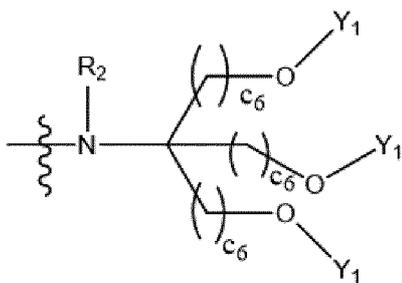
каждый R_2 и R'_2 независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_{1-6} алкил, необязательно замещенный C_{2-6} алкенил, необязательно замещенный C_{2-6} алкинил, необязательно замещенный разветвленный C_{3-19} алкил, необязательно замещенный C_{3-8} циклоалкил, необязательно замещенный C_{6-10} арил, необязательно замещенный гетероарил, необязательно замещенный C_{1-6} гетероалкил, C_{1-6} алкокси, арилокси, C_{1-6} гетероалкокси, C_{2-6} алканоил, необязательно замещенный арилкарбонил, C_{2-6} алкоксикарбонил, C_{2-6} алканоилокси, арилкарбонилокси, необязательно замещенный C_{2-6} алканоил, необязательно замещенный C_{2-6} алканоилокси, необязательно замещенный C_{2-6} алканоилокси, $-COOH$ или $-COO-C_{1-6}$ алкил;

каждый из $c_1, c_2, c_3, c_4, c_5, c_6, c_7$ и c_8 представляет собой целое число, независимо находящееся в диапазоне от 0 до 10;

каждый из $d_1, d_2, d_3, d_4, d_5, d_6, d_7$ и d_8 представляет собой целое число, независимо находящееся в диапазоне от 0 до 10; и

каждый из $e_1, e_2, e_3, e_4, e_5, e_6, e_7$ и e_8 представляет собой целое число, независимо находящееся в диапазоне от 0 до 10.

[0055] В некоторых вариантах осуществления a_2 равняется 3 и L^M представляет



собой

[0056] В некоторых вариантах осуществления M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит по меньшей мере приблизительно пять аминокислот.

[0057] В некоторых вариантах осуществления M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит не более приблизительно шестнадцати аминокислот.

[0058] В некоторых вариантах осуществления M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит приблизительно 4, приблизительно 5, приблизительно 6, приблизительно 7, приблизительно 8, приблизительно 9, приблизительно 10, приблизительно 11, приблизительно 12, приблизительно 13, приблизительно 14, приблизительно 15 или приблизительно 16 аминокислот.

[0059] В некоторых вариантах осуществления M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит не более приблизительно десяти аминокислот.

[0060] В некоторых вариантах осуществления M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит приблизительно 4, приблизительно 5, приблизительно 6, приблизительно 7, приблизительно 8, приблизительно 9, или приблизительно 10 аминокислот.

[0061] В некоторых вариантах осуществления M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит от приблизительно трех до приблизительно десяти аминокислот, выбранных из глицина, серина, глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, лизина, цистеина, их стереоизомеров (например, изоглутаминовой кислоты или изоаспарагиновой кислоты) и их комбинации.

[0062] В некоторых вариантах осуществления M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит по меньшей мере четыре глицина и по меньшей мере один серин.

[0063] В некоторых вариантах осуществления M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит по меньшей мере четыре глицина и по меньшей мере одну глутаминовую кислоту.

[0064] В некоторых вариантах осуществления M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит по меньшей мере четыре глицина, по меньшей мере один серин и по меньшей мере одну глутаминовую кислоту.

[0065] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к PBRM или отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к сконструированному с цистеином нацеливаемому фрагменту составляет от 2:1 до 4:1 или от 2:1 до 1:1. Примеры PBRM включают без ограничения полноразмерные антитела, такие как IgG и IgM, фрагменты антитела, такие как Fab, scFv, антитела верблюдовых, Fab2 и т. п., малые белки и пептиды.

[0066] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к PBRM или отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к нацеливаемому фрагменту составляет приблизительно 6:1, приблизительно 5:1, приблизительно 4:1, приблизительно 3:1, приблизительно 2:1 или приблизительно 1:1.

[0067] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к PBRM составляет приблизительно 6:1, приблизительно 5:1, приблизительно 4:1, приблизительно 3:1, приблизительно 2:1 или приблизительно 1:1.

[0068] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к нацеливаемому фрагменту составляет приблизительно 6:1, приблизительно 5:1, приблизительно 4:1, приблизительно 3:1, приблизительно 2:1 или приблизительно 1:1.

[0069] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к PBRM или отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к нацеливаемому фрагменту составляет приблизительно 5:1, приблизительно 4:1, приблизительно 3:1, приблизительно 2:1 или приблизительно 1:1.

[0070] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к PBRM составляет приблизительно 5:1, приблизительно 4:1,

[0085] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к PBRM составляет приблизительно 2:1 или приблизительно 1:1.

[0086] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к нацеливающему фрагменту составляет приблизительно 2:1 или приблизительно 1:1.

[0087] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к PBRM или отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к нацеливающему фрагменту составляет 2:1.

[0088] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к PBRM составляет 2:1.

[0089] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к нацеливающему фрагменту составляет 2:1.

[0090] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к PBRM или отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к нацеливающему фрагменту составляет 1:1.

[0091] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к PBRM составляет 1:1.

[0092] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к нацеливающему фрагменту составляет 1:1.

[0093] В некоторых вариантах осуществления конъюгат, раскрытый в данном документе, применяют для изготовления лекарственного препарата, применимого для лечения или уменьшения тяжести нарушений, например, характеризующихся аномальным ростом клеток (например, рака).

[0094] В некоторых вариантах осуществления конъюгат, раскрытый в данном документе, применяют для изготовления лекарственного препарата, применимого для лечения нарушений, например, характеризующихся аномальным ростом клеток (например, рака).

[0095] В некоторых вариантах осуществления конъюгат, раскрытый в данном документе, применяют для изготовления лекарственного препарата, применимого для уменьшения тяжести нарушения, например, характеризующегося аномальным ростом клеток (например, рака).

[0096] В некоторых вариантах осуществления звено, представляющее собой лекарственное средство, или D, доставляют местно в определенную клетку-мишень, ткань или орган.

[0097] В некоторых аспектах настоящее изобретение предусматривает композиции, содержащие конъюгаты, способы их получения и способы их применения для лечения разнообразных нарушений, включающих без ограничения рак.

[0098] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей каркас или конъюгат, описанный в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель.

[0099] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения нарушения у субъекта, нуждающегося в этом, включающему введение субъекту эффективного количества конъюгата, раскрытого в данном документе.

[00100] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способу диагностики нарушения у субъекта, у которого подозревается наличие нарушения. Способ включает введение эффективного количества конъюгата, описанного в данном документе, субъекту, у которого подозревается наличие нарушения, или проведение анализа для определения целевого антигена/рецептора в образце от субъекта таким образом, чтобы определить наличие экспрессии целевого антигена/рецептора у субъекта.

[00101] Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют те же значения, которые в большинстве случаев понятны рядовым специалистам в данной области техники, к которой относится настоящее изобретение. В описании изобретения формы единственного числа также предусматривают формы множественного числа, если в контексте четко не указано иное. Хотя способы и материалы, подобные или эквивалентные таковым, описанным в данном документе, могут использоваться при практическом применении или тестировании настоящего изобретения, подходящие способы и материалы описаны ниже. Все публикации, заявки на патенты, патенты и другие литературные источники, упомянутые в данном документе, включены посредством ссылки. Литературные источники, цитируемые в данном документе, не допускаются в качестве уровня техники в отношении заявленного изобретения. В случае конфликта настоящее описание изобретения, включая определения, будет иметь преимущественную силу. Кроме того, материалы, способы и примеры являются только иллюстративными и не подразумеваются как ограничивающие.

[00102] Другие характеристики и преимущества изобретения будут очевидны из следующего подробного описания и формулы изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

[00103] Фиг. 1 иллюстрирует противоопухолевую эффективность конъюгатов трастузумаб-лекарственное средство, конъюгата 2, конъюгата 3 и конъюгата 4, как было измерено с применением мышинной модели ксенотрансплантата опухоли JMT-1.

[00104] На фиг. 2 показано воздействие конъюгированного лекарственного средства на мышинной модели ксенотрансплантата опухоли JMT-1, как было измерено после введения мыши конъюгата 2, конъюгата 3 и конъюгата 4.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[00105] Настоящее изобретение предусматривает новые сконструированные с цистеином конъюгаты нацеливающий фрагмент-лекарственное средство, способы синтеза для получения конъюгатов или каркасов, фармацевтические композиции, их содержащие, и разнообразные пути применения конъюгатов.

Определения

[00106] Определенные соединения по настоящему изобретению и определения конкретных функциональных групп также более подробно описаны в данном документе.

Для целей настоящего изобретения химические элементы идентифицированы в соответствии с Периодической таблицей элементов, версия CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed., внутренняя сторона обложки, и конкретные функциональные группы в целом имеют определения, описанные в данном документе. Кроме того, общие принципы органической химии, а также конкретные функциональные фрагменты и реакционная способность описаны в «Organic Chemistry», Thomas Sorrell, University Science Books, Саусалито: 1999, полное содержание которой включено в данный документ посредством ссылки. Более того, рядовому специалисту в данной области техники будет понятно, что в способах синтеза, описанных в данном документе, используются разнообразные защитные группы.

[00107] Применение как в следующем далее описании, так и в пунктах формулы настоящего изобретения формы единственного числа следует рассматривать как охватывающее формы как единственного, так и множественного числа, если в данном документе не указано иное или если это явно не противоречит контексту. Термины «предусматривающий», «имеющий», «относящийся к» как в «относящийся к химической формуле», «включающий» и «содержащий» следует рассматривать в качестве неограничивающих терминов (т. е. означающих «включающий, но без ограничения»), если не указано иное, что допускает, но не требует включения дополнительных элементов или стадий. В некоторых вариантах осуществления каркас определенной формулы содержит все компоненты, показанные в формуле, и может также содержать дополнительный компонент, не показанный в формуле. Кроме того, во всех случаях, когда в одном варианте осуществления применяется термин «содержащий» или другой открытый термин, следует понимать, что такой же вариант осуществления может быть заявлен в более ограничительном виде с использованием промежуточного термина «по сути состоящий из» или закрытого термина «состоящий из».

[00108] Используемые в данном документе выражения «один или более из А, В или С», «один или более А, В или С», «один или более из А, В и С», «один или более А, В и С» и т. п. используют взаимозаменяемо, и все они относятся к выбору из группы, состоящей из А, В и /или С, т. е. одного или более А, одного или более В, одного или более С или любой их комбинации.

[00109] Термин «приблизительно», «примерно» или «примерный» в случае использования в сочетании с численным значением означает включение совокупности или диапазона значений. В некоторых вариантах осуществления «приблизительно Х» включает диапазон значений, составляющих $X \pm 25\%$, $\pm 20\%$, $\pm 15\%$, $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, $\pm 2\%$, $\pm 1\%$, $\pm 0,5\%$, $\pm 0,2\%$ или $\pm 0,1\%$, где Х представляет собой численное значение. В некоторых вариантах осуществления термин «приблизительно» относится к диапазону значений, которые составляют на 5% более или менее чем указанное значение. В некоторых вариантах осуществления термин «приблизительно» относится к диапазону значений, которые составляют на 2% более или менее чем указанное значение. В некоторых вариантах осуществления термин «приблизительно» относится к диапазону значений,

которые составляют на 1% более или менее чем указанное значение.

[00110] Предполагается, что перечисление диапазонов значений служит лишь сокращенным способом отдельного упоминания каждого отдельного значения, попадающего в пределы диапазона, если в данном документе не указано иное, и каждое отдельное значение включено в описание как если бы его перечисляли по-отдельности в данном документе. Диапазон, используемый в данном документе, если не указано иное, включает два предела диапазона. В некоторых вариантах осуществления оба выражения «где x представляет собой целое число в диапазоне между 1 и б» и «где x представляет собой целое число от 1 до б» означают «где x представляет собой 1, 2, 3, 4, 5 или б», *т. е.* термины «составляет от X до Y» и «находится в диапазоне от X до Y» включают X и Y, а также целые числа, находящиеся между ними.

[00111] **«Защитная группа»:** используемый в данном документе термин *«защитная группа»* означает, что определенный функциональный фрагмент, *например*, O, S или N, является временно заблокированным таким образом, чтобы реакция может быть селективно осуществлена в другом реакционноспособном сайте в многофункциональном соединении. В предпочтительных вариантах осуществления защитная группа селективно реагирует с высоким выходом с получением защищенного субстрата, который является устойчивым в отношении предполагаемых реакций; защитная группа должна быть селективно удалена с высоким выходом с помощью легко доступных, предпочтительно, нетоксичных реагентов, которые не взаимодействуют с другими функциональными группами; защитная группа образует легко отделяемое производное (более предпочтительно без образования новых стереогенных центров); и защитная группа обладает минимумом дополнительных функциональных свойств для предотвращения появления дополнительных сайтов протекания реакции. Как подробно описано в данном документе, могут быть использованы защитные группы для атомов кислорода, серы, азота и углерода. В некоторых вариантах осуществления можно использовать определенные иллюстративные защитные группы для атома кислорода. Данные защитные группы для атома кислорода включают без ограничения метиловые эфиры, замещенные метиловые эфиры (*например*, MOM (метоксиметиловый эфир), MTM (метилтиометиловый эфир), BOM (бензилоксиметиловый эфир) и PMBM (p-метоксибензилоксиметиловый эфир)), замещенные этиловые эфиры, замещенные бензиловые эфиры, силиловые эфиры (*например*, TMS (триметилсилиловый эфир), TES (триэтилсилиловый эфир), TIPS (триизопропилсилиловый эфир), TBDMS (t-бутилдиметилсилиловый эфир), трибензилсилиловый эфир и TBDPS (t-бутилдифенилсилиловый эфир), сложные эфиры (*например*, формиат, ацетат, бензоат (Bz), трифторацетат и дихлорацетат), карбонаты, циклические ацетали и кетали. В определенных других иллюстративных вариантах осуществления используются защитные группы для атома азота. Защитные группы для атома азота, а также способы введения защитной группы и удаления защитной группы известны из уровня техники. Защитные группы для атома азота включают без ограничения карбаматы (включая метил-, этил- и замещенный этилкарбаматы (*например*,

Грос), амиды, производные циклических имидов, N-алкил- и N-ариламины, производные иминов и производные енаминов. В еще одних других вариантах осуществления могут использоваться определенные иллюстративные защитные группы для атома серы. Защитные группы для атома серы включают без ограничения те защитные группы для атома кислорода, описанные выше, а также алифатическую карбоновую кислоту (например, акриловую кислоту), малеимид, винилсульфонил и необязательно замещенную малеиновую кислоту. Определенные другие иллюстративные защитные группы подробно описаны в данном документе, однако следует понимать, что настоящее изобретение не предполагает ограничения данными защитными группами; скорее множество дополнительных эквивалентных защитных групп можно без труда идентифицировать с применением указанных выше критериев и применять в настоящем изобретении. Более того, множество защитных групп описаны в «Protective Groups in Organic Synthesis» Third Ed. Greene, T.W. and Wuts, P.G., Eds., John Wiley & Sons, New York: 1999, полное содержание которой включено в данный документ посредством ссылки.

[00112] Термин **«уходящая группа»** относится к фрагменту молекулы, который уходит с парой электронов при гетеролитическом расщеплении связи. Уходящие группы могут представлять собой анионы или нейтральные молекулы. Уходящие группы включают без ограничения галогениды, такие как Cl^- , Br^- и I^- , сульфонатные сложные эфиры, такие как паратолуолсульфонат («тозилат», TsO^-) и $\text{RC}(\text{O})\text{O}^-$, где R представляет собой водород, алифатический, гетероалифатический, карбоциклический или гетероциклоалкильный фрагмент.

[00113] Термин **«антитело»** относится к полноразмерному антителу или функциональному фрагменту антитела, содержащему иммуноглобулин. Под «функциональным фрагментом» подразумевается достаточная часть иммуноглобулина или антитела при условии, что фрагмент эффективно связывается или образует комплекс с молекулой клеточной поверхности целевой популяции клеток, например, человеческим раковым эмбриональным антигеном.

[00114] Иммуноглобулин может быть очищенным, полученным рекомбинантным путем, полученным искусственным путем или посредством их комбинации, при этом применяются методики, известные специалистам в данной области техники. В то время как иммуноглобулины, входящие в состав или полученные из антител IgG, в частности, хорошо подходят для применения в составе конъюгатов или каркасов по настоящему изобретению, могут быть выбраны иммуноглобулины из любых классов или подклассов, например, IgG, IgA, IgM, IgD и IgE. Предпочтительно иммуноглобулин относится к классу IgG, включая, но без ограничения, подклассы IgG (IgG1, 2, 3 и 4), или классу IgM, при этом он обладает способностью специфически связываться с определенным эпитопом на антигене. Антитела могут представлять собой интактные иммуноглобулины, полученные из природных источников или из рекомбинантных источников, и могут представлять собой иммунореактивные части интактных иммуноглобулинов. Антитела могут существовать в виде разнообразных форм, включающих, например, поликлональные

антитела, моноклональные антитела, камелизированные однодоменные антитела, внутриклеточные антитела («интратела»), антитела, полученные рекомбинантным путем, антиидиотипические антитела, доменные антитела, линейное антитело, мультиспецифическое антитело, фрагменты антител, такие как Fv, Fab, F(ab)₂, F(ab)₃, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, одноцепочечные переменные фрагменты антител (scFv), тандемные/бис-scFv, Fc, pFc', scFvFc (или scFv-Fc), дисульфидный Fv (dsfv), биспецифические антитела (bc-scFv), такие как антитела BiTE; антитела верблюдовых, антитела с измененной поверхностью, гуманизированные антитела, полностью человеческие антитела, однодоменное антитело (sdAb, также известное как NANOBODY®), химерные антитела, химерные антитела, содержащие по меньшей мере одну человеческую константную область, антитела с двойной аффинностью, такие как переориентирующиеся белки с двойной аффинностью (DART™), двухвалентные (или бивалентные) одноцепочечные переменные фрагменты (ди-scFv, би-scFv), включающие без ограничения минитела, диатела, триатела или тритела, тетратела и т. п., а также поливалентные антитела. Термин «фрагмент антитела» относится к по меньшей мере части переменной области молекулы иммуноглобулина, который связывается со своей мишенью, т. е. антигенсвязывающей области. Используемый в данном документе термин «антитело» относится как к полноразмерному антителу, так и к фрагментам антител, если не указано иное.

[00115] Термин «распознающая молекула на основе белка» или «PBRM» относится к молекуле, которая распознает и связывается с маркером или рецептором клеточной поверхности, такими как трансмембранный белок, поверхностный иммобилизованный белок или протеогликан. В некоторых вариантах осуществления PBRM содержит сконструированный цистеин. Примеры PBRM включают без ограничения антитела (например, трастузумаб, цетуксимаб, ритуксимаб, бевацизумаб, эпратузумаб, велтузумаб, лабетузумаб, B7-H4, B7-H3, CA125, CD33, CXCR2, EGFR, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, HER2, NaPi2b, c-Met, мезотелин, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, PD-L1, c-Kit, MUC1, MUC13, Trop-2 и антитело к 5T4) или пептиды (пептиды, нацеливающиеся на рецептор LHRH, пептид EC-1), липокалина, такие как, например, антикалина, белки, такие как, например, интерфероны, лимфокины, факторы роста, колониестимулирующие факторы и т. п., пептиды или миметики пептидов, и т. п. Распознающая молекула на основе белка, кроме нацеливания конъюгата на конкретную клетку, ткань или местоположение, может также обладать определенным терапевтическим эффектом, таким как антипролиферативная (цитостатическая и/или цитотоксическая) активность по отношению к клетке-мишени или сигнальному пути. Распознающая молекула на основе белка содержит или может быть сконструирована таким образом, чтобы содержать по меньшей мере одну химически реакционноспособную группу, такую как -COOH, первичный амин, вторичный амин -NHR, -SH или химически реакционноспособные фрагменты или боковые цепи аминокислот, таких как, например, тирозин, гистидин, цистеин или лизин. В некоторых вариантах осуществления PBRM

может представлять собой лиганд (LG) или нацеливающий фрагмент, который специфически связывается или образует комплекс с молекулой клеточной поверхности, такой как рецептор или антиген клеточной поверхности заданной целевой популяции клеток. После специфического связывания или образования комплекса лиганда с соответствующим ему рецептором клетка позволяет поглощение лиганда или конъюгата лиганд-лекарственное средство, который затем поглощается клеткой. Как используется в данном документе, лиганд, который «специфически связывается или образует комплекс» или «нацеливается» на молекулу клеточной поверхности, преимущественно связывается с молекулой клеточной поверхности посредством межмолекулярных сил. В некоторых вариантах осуществления лиганд может преимущественно связываться с молекулой клеточной поверхности с K_d , составляющей менее приблизительно 50 нМ, менее приблизительно 5 нМ или менее 500 пМ. Методики для измерения аффинности связывания лиганда с молекулой клеточной поверхности являются хорошо известными; например, одна подходящая методика называется поверхностным плазмонным резонансом (SPR). В некоторых вариантах осуществления лиганд применяют для нацеливания и он не обладает выявляемым терапевтическим эффектом по отдельности от лекарственного средства, которое он доставляет. В некоторых вариантах осуществления лиганд функционирует и как нацеливающий фрагмент, и как терапевтическое или иммуномодулирующее средство (*например*, для повышения активности активного лекарственного средства или пролекарства).

[00116] Используемый в данном документе термин **«сконструированный цистеин»** относится к аминокислоте цистеину, которая присутствует в сконструированном с цистеином нацеливающим фрагменте (*например*, сконструированной с цистеином PBRM). В некоторых вариантах осуществления аминокислоту цистеин вводят в сконструированный с цистеином нацеливающий фрагмент посредством замены аминокислоты, отличной от цистеина, в соответствующем исходном нацеливающим фрагменте (*например*, исходной PBRM) аминокислотой цистеином. В некоторых вариантах осуществления сконструированный с цистеином нацеливающий фрагмент представляет собой сконструированное с цистеином антитело или фрагмент антитела, и аминокислоту цистеин вводят посредством замены аминокислоты, отличной от цистеина, в соответствующем исходном антителе или фрагменте антитела (*например*, в положении V205C (в соответствии с системой нумерации по Kabat) константной области легкой цепи) аминокислотой цистеином. В некоторых вариантах осуществления замену осуществляют посредством мутации.

[00117] Используемое в данном документе выражение **«исходный нацеливающий фрагмент»** относится к соответствующему нацеливающему фрагменту сконструированного с цистеином нацеливающего фрагмента до процесса конструирования (*например*, процесса конструирования, посредством которого осуществляется введение сконструированного цистеина). Известно, что исходный нацеливающий фрагмент может быть дикого типа, мутированным или синтетическим.

[00118] Используемое в данном документе выражение **«исходная распознающая молекула на основе белка»** или **«исходная PBRM»** относится соответствующей распознающей молекуле на основе белка сконструированной с цистеином распознающей молекулы на основе белка до процесса конструирования (например, процесса конструирования, посредством которого осуществляется введение сконструированного цистеина). Известно, что исходная PBRM (например, исходное антитело или фрагмент антитела) может быть дикого типа, мутированной или синтетической.

[00119] Используемое в данном документе выражение **«сконструированный с цистеином»** относится к характеристике нацеливающего фрагмента (например, PBRM (например, антитела или фрагмента антитела)) в виде содержания по меньшей мере одного сконструированного цистеина.

[00120] Подразумевается, что используемый в данном документе термин **«биологически совместимый»** предназначен для описания соединений, которые оказывают минимальное разрушающее действие или эффект в виде ответной реакции организма-хозяина при контакте с биологическими жидкостями или живыми клетками или тканями. Таким образом, используемое в данном документе выражение *«биологически совместимая группа»* относится к алифатическому, циклоалкильному, гетероалифатическому, гетероциклоалкильному, арильному или гетероарильному фрагменту, который подпадает под определение термина *«биологически совместимый»*, определение которого приведено выше в данном документе. Используемый в данном документе термин *«биосовместимость»* также подразумевает, что соединения демонстрируют минимальные взаимодействия с распознающими белками, *например*, встречающимися в природе антителами, клеточными белками, клетками и другими компонентами биологических систем, если только данные взаимодействия не являются особенно необходимыми. Таким образом, вещества и функциональные группы, специально предназначенные для осуществления вышеуказанных минимальных взаимодействий, *например*, лекарственные средства и пролекарства, считаются биологически совместимыми. Предпочтительно (за исключением соединений, которые рассматриваются как цитотоксические, такие как, например, противоопухолевые средства), соединения являются «биологически совместимыми», если их добавление к нормальным клеткам *in vitro* при концентрациях, сходных с предполагаемыми системными концентрациями *in vivo*, приводит к гибели клеток в количестве менее или равном 1% в течение периода времени, эквивалентного периоду полужизни соединения *in vivo* (*например*, периоду времени, требующемуся для элиминации/выведения 50% введенного соединения *in vivo*), и их введение *in vivo* приводит к развитию минимального и приемлемого с медицинской точки зрения воспаления, реакции на инородное тело, иммунотоксичности, химической токсичности и/или других подобных нежелательных явлений. В вышеуказанном предложении термин «нормальные клетки» относится к клеткам, которые не предназначены для разрушения или иного значительного воздействия со стороны тестируемого соединения.

[00121] Термин **«биоразлагаемый»**: как используется в данном документе, «биоразлагаемые» соединения или фрагменты представляют собой соединения и фрагменты, которые при поглощении клеткой могут разлагаться с помощью лизосомального или другого химического механизма или гидролиза до компонентов, которые могут либо использоваться клетками повторно, либо утилизироваться без оказания значительного токсического воздействия на клетки. Используемый в данном документе термин «биорасщепляемый» имеет такое же значение, как и «биоразлагаемый». Полученные в результате разложения фрагменты предпочтительно вызывают в небольшой степени или не вызывают развития перегрузки органа или клетки, или развития патологических процессов, обусловленных такой перегрузкой, или развития других нежелательных явлений *in vivo*. Примеры процессов биоразложения включают ферментативный и неферментативный гидролиз, окисление и восстановление. Предпочтительные условия для неферментативного гидролиза биоразлагаемых конъюгатов (или их компонентов, например, пептидсодержащих каркасов и линкеров между каркасами и антителом или молекулой лекарственного средства), описанных в данном документе, например, включают воздействие на биоразлагаемые конъюгаты водой при температуре и рН лизосомального внутриклеточного компартмента. Биоразложение некоторых конъюгатов (или их компонентов, например, пептидсодержащих каркасов и линкеров между каркасами и антителом или молекулой лекарственного средства) также может быть усилено вне клетки, *например*, в областях с низким рН в организме животного, *например*, в участке воспаления, в непосредственной близости к активированным макрофагам или другим клеткам, высвобождающим факторы, обеспечивающие разложение. Целостность конъюгатов или каркасов, раскрытых в данном документе, может быть измерена, например, посредством эксклюзионной HPLC или LC/MS. Хотя ускоренное разложение может являться предпочтительным в некоторых случаях, в целом, более желательной может являться внутриклеточное разложение конъюгатов или каркасов, раскрытых в данном документе, со скоростью, которая не превышает скорость метаболизма или выведения их фрагментов клетками. В предпочтительных вариантах осуществления побочные продукты биоразложения конъюгатов или каркасов, раскрытых в данном документе, являются биологически совместимыми.

[00122] **«Биодоступность»**: термин «биодоступность» относится к системной доступности (т. е. уровням в крови/плазме крови) заданного количества лекарственного средства или соединения, вводимого субъекту. Биодоступность представляет собой абсолютный термин, который обозначает показатель как времени (скорости), так и общего количества (степени), с которыми лекарственное средство или соединение достигает общего кровотока из введенной лекарственной формы.

[00123] **«Гидрофильный»**: термин «гидрофильный» существенно не отличается от общепринятого значения данного термина в уровне техники и обозначает химические фрагменты, которые содержат ионизируемые, полярные или поляризуемые атомы или

которые в другом случае могут быть сольватированы с помощью молекул воды. Таким образом, *гидрофильный фрагмент или группа*, использованные в данном документе, относятся к алифатическому, циклоалкильному, гетероалифатическому, гетероциклоалкильному, арильному или гетероарильному фрагменту, который подпадает под определение термина «*гидрофильный*», определение которого дано выше. Примеры конкретных гидрофильных органических фрагментов, которые подходят, включают без ограничения алифатические или гетероалифатические группы, содержащие цепочку атомов длиной от приблизительно одного до двенадцати атомов, гидроксил, гидроксилалкил, амин, карбоксил, амид, эфир карбоновой кислоты, тиоэфир, альдегид, нитрил, изонитрил, нитрозо, гидроксиламин, меркаптоалкил, гетероцикл, карбаматы, карбоновые кислоты и их соли, сульфоновые кислоты и их соли, эфиры сульфоновых кислот, фосфорные кислоты и их соли, фосфатные эфиры, полигликолевые эфиры, полиамины, поликарбоксилаты, полиэфиры, политиоэфиры, многоатомные спирты и их производные. В некоторых вариантах осуществления гидрофильный заместители содержат карбоксильную группу (COOH), альдегидную группу (CHO), кетонную группу (COC₁₋₄алкил), метиол (CH₂OH) или гликоль (например, СНОН-СН₂ОН или СН-(СН₂ОН)₂), NH₂, F, циано, SO₃H, PO₃H и т. п.

[00124] Гидрофильность соединений (включающих лекарственные средства, конъюгаты и каркасы), раскрытых в данном документе, может быть непосредственно измерена посредством определения энергии гидратации, или определена посредством исследования между двух жидких фаз, или посредством хроматографии НС, или посредством хроматографии с использованием твердых фаз с известной гидрофобностью, таких как, например, С4 или С18.

[00125] «**Физиологические условия**»: выражение «физиологические условия», используемое в данном документе, относится к диапазону химических (*например*, рН, ионная сила) и биохимических (*например*, концентрации ферментов) условий, которые с большой вероятностью встречаются во внеклеточных жидкостях живых тканей. Для большинства нормальных тканей физиологическое значение рН находится в диапазоне от приблизительно 7,0 до 7,4. Плазма циркулирующей крови и нормальная интерстициальная жидкость представляют собой типичные примеры нормальных физиологических условий.

[00126] «**Полисахарид**», «**углевод**» или «**олигосахарид**»: термины «полисахарид», «углевод» или «олигосахарид» известны из уровня техники и относятся, в целом, к веществам, имеющим химическую формулу (СН₂О)_n, где, как правило n>2, и их производным. Углеводы представляют собой полигидроксиальдегиды или полигидроксикетоны, или превращаются в такие вещества в результате простых химических превращений, таких как гидролиз, окисление или восстановление. Как правило, углеводы присутствуют в форме циклических ацеталей или кеталей (таких как глюкоза или фруктоза). Такие циклические единицы (моносахариды) могут быть соединены друг с другом с образованием молекул с малым числом (олигосахариды) или несколькими (полисахариды) моносахаридными единицами. Часто углеводы с четко

определенным числом, типом и расположением моносахаридных единиц называют олигосахаридами, при этом углеводы, состоящие из смеси молекул с различным числом и/или расположением моносахаридных единиц, называют полисахаридами. Термины «полисахарид», «углевод» и «олигосахарид» используются в данном документе взаимозаменяемо. Полисахарид может включать природные сахара (*например*, глюкозу, фруктозу, галактозу, маннозу, арабинозу, рибозу и ксилозу) и/или производные встречающихся в природе сахаров (*например*, 2'-фторрибозу, 2'-дезоксиррибозу и гексозу).

[00127] **«Лекарственное средство»:** используемый в данном документе термин «лекарственное средство» относится к соединению, которое является биологически активным и обеспечивает требуемый физиологический эффект после введения субъекту, нуждающемуся в этом (*например*, активному фармацевтическому ингредиенту).

[00128] **«Пролекарство»:** используемый в данном документе термин «пролекарство» относится к предшественнику активного лекарственного средства, то есть соединению, которое может быть превращено в активное лекарственное средство. Как правило, такое пролекарство подлежит обработке *in vivo*, которая превращает лекарственное средство в физиологически активную форму. В некоторых случаях пролекарство само может обладать требуемым физиологическим эффектом. Требуемый физиологический эффект может быть, например, терапевтическим, цитотоксическим, иммуномодуляторным или т. п.

[00129] **«Цитотоксический»:** используемый в данном документе термин «цитотоксический» означает токсический по отношению к клеткам или выбранной клеточной популяции (*например*, раковым клеткам). Токсический эффект может приводить к гибели клеток и/или лизису. В определенных случаях токсический эффект может представлять собой сублетальный разрушающий эффект в отношении клетки, *например*, замедление или остановку роста клетки. С целью достижения цитотоксического эффекта лекарственное средство или пролекарство может быть выбрано из группы, состоящей из средства, повреждающего ДНК, средства, разрушающего микротрубочки, или цитотоксического белка или полипептида, среди прочего.

[00130] **«Цитостатический»:** используемый в данном документе термин цитостатический относится к лекарственному средству или другому соединению, которое подавляет или останавливает рост и/или размножение клеток.

[00131] **«Малая молекула»:** используемый в данном документе термин «малая молекула» относится к молекулам, либо встречающимся в природе, либо полученным искусственным путем (*например*, посредством химического синтеза), которые имеют относительно низкую молекулярную массу. Предпочтительные малые молекулы являются биологически активными, в том смысле, что они вызывают местный или системный эффект у животных, предпочтительно, у млекопитающих, более предпочтительно, у людей. В определенных предпочтительных вариантах осуществления малая молекула представляет собой лекарственное средство, и малая молекула называется «молекулой лекарственного средства», или «лекарственным средством», или «терапевтическим

средством». В некоторых вариантах осуществления молекула лекарственного средства имеет MW менее чем или равную приблизительно 5 кДа. В других вариантах осуществления молекула лекарственного средства имеет MW менее чем или равную приблизительно 1,5 кДа. В вариантах осуществления молекула лекарственного средства выбрана из алкалоидов барвинка, ауристатинов, дуокармицинов, ингибиторов киназы, ингибиторов MEK, ингибиторов KSP, ингибиторов киназы PI3, калихеамицинов, SN38, камптотецина, ингибиторов топоизомеразы, неприродных камптотецинов, ингибиторов синтеза белка, ингибиторов РНК-полимеразы, пирролобензодиазепинов, майтанзиноидов, лекарственных средств, связывающих ДНК, лекарственных средств, интеркалирующих ДНК, и их аналогов. Предпочтительно, хотя и необязательно, лекарственное средство представляет собой лекарственное средство, которое уже было признано безопасным и эффективным для применения соответствующим государственным органом или учреждением, например, FDA. В некоторых вариантах осуществления все лекарственные средства для применения в отношении человека, перечисленные FDA в разделе 21 Свода федеральных нормативных актов в §§ 330.5, 331-361 и 440-460; лекарственные средства для применения в ветеринарии, перечисленные FDA в разделе 21 Свода федеральных нормативных актов в §§ 500-589, включенных в данный документ посредством ссылки, считаются подходящими для способов, конъюгатов и каркасов, раскрытых в данном документе. Классы молекул лекарственных средств, которые могут использоваться при практическом осуществлении настоящего изобретения, включают без ограничения противоопухолевые средства, радионуклиды, витамины, лекарственные средства для лечения СПИД, антибиотики, иммунодепрессанты, иммуномодулирующие соединения, противовирусные средства, ингибиторы ферментов, нейротоксины, опиоиды, снотворные средства, антигистаминные средства, смазывающие вещества, транквилизаторы, противосудорожные средства, миорелаксанты и противопаркинсонические средства, спазмолитики и мышечные контрактанты, включающие блокаторы каналов, миотические средства и антихолинергические средства, противоглаукомные соединения, противопаразитарные и/или противопротозойные соединения, модуляторы взаимодействий клетка-внеклеточный матрикс, включающие ингибиторы роста клеток и антиадгезионные молекулы, сосудорасширяющие средства, ингибиторы синтеза ДНК, РНК или белка, антигипертензивные средства, анальгетики, жаропонижающие средства, стероидные и нестероидные противовоспалительные средства, антиангиогенные факторы, антисекреторные факторы, антикоагулянты и/или антитромботические средства, местные анестетики, лекарственные средства для применения в офтальмологии, простагландины, антидепрессанты, нейролептики, противорвотные средства, радиофармацевтические средства. Много больших молекул также являются лекарственными средствами, и такие большие молекулы могут применяться в составе конъюгатов и других конструкций, описанных в данном документе. Примеры подходящих больших молекул включают, например, молекулы на основе аминокислот. Молекулы на основе аминокислот могут охватывать, *например*, пептиды, полипептиды, ферменты, антитела, иммуноглобулины

или их функциональные фрагменты, среди прочего.

[00132] Более полный, хотя и не исчерпывающий, перечень классов и конкретных лекарственных средств, подходящих для применения в настоящем изобретении, может быть найден в «Pharmaceutical Substances: Syntheses, Patents, Applications» авторов Axel Kleemann и Jurgen Engel, Thieme Medical Publishing, 1999 и «Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals», под редакцией Susan Budavari et al., CRC Press, 1996, обе из которых включены в данный документ посредством ссылки. В предпочтительных вариантах осуществления лекарственное средство, применяемое в настоящем изобретении, представляет собой терапевтическое средство, обладающее антипролиферативной (цитостатической и/или цитотоксической) активностью в отношении клетки-мишени или сигнального пути. Лекарственное средство может содержать химически реакционноспособную группу, такую как, например, $-\text{COOH}$, первичный амин, вторичный амин $-\text{NHR}$, $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-\text{C(O)H}$, $-\text{C(O)R}$, $-\text{C(O)NHR}^{2b}$, C(S)OH , $-\text{S(O)}_2\text{OR}^{2b}$, $-\text{P(O)}_2\text{OR}^{2b}$, $-\text{CN}$, $-\text{NC}$ или $-\text{ONO}$, где R представляет собой алифатический, гетероалифатический, карбоциклический или гетероциклоалкильный фрагмент, и R^{2b} представляет собой водород, алифатический, гетероалифатический, карбоциклический или гетероциклический фрагмент.

[00133] Используемое в данном документе выражение «**активная форма**» относится к форме соединения, которая проявляет предполагаемую фармацевтическую эффективность *in vivo* или *in vitro*. В частности, если молекула лекарственного средства, предназначенная для доставки с помощью конъюгата по настоящему изобретению, высвобождается из конъюгата, активная форма может представлять собой само лекарственное средство или его производные, которые демонстрируют предполагаемые терапевтические свойства. Высвобождение лекарственного средства из конъюгата может быть достигнуто посредством расщепления биоразлагаемой связи линкера, который присоединяет лекарственное средство к каркасу или конъюгату по настоящему изобретению. Активные производные лекарственного средства, соответственно, могут содержать часть линкера.

[00134] «**Диагностическая метка**»: используемый в данном документе термин *диагностическая метка* относится к атому, группе атомов, фрагменту или функциональной группе, нанокристаллу или другому отдельному элементу композиции вещества, который может быть определен *in vivo* или *ex vivo* посредством аналитических методик, известных из уровня техники. В случае связи с конъюгатом по настоящему изобретению такие диагностические метки обеспечивают возможность отслеживания конъюгата *in vivo*. В качестве альтернативы или дополнительно конструкции и композиции, которые содержат диагностические метки, могут использоваться для отслеживания биологических функций или структур. Примеры диагностических меток включают без ограничения метки, которые могут быть использованы в медицинских диагностических процедурах, такие как радиоактивные изотопы (радионуклиды) для гамма-сцинтиграфии и позитронной эмиссионной томографии (PET), контрастные

средства для магнитно-резонансной томографии (MRI) (например, парамагнитные атомы и суперпарамагнитные нанокристаллы), контрастные средства для компьютерной томографии и других рентгеновских методов визуализации, средства для ультразвуковых диагностических методов (сонографии), средства для нейтронной активации (например, бор, гадолиний), флуорофоры для различных оптических методов и, в целом, фрагменты, которые могут испускать, отражать, поглощать, рассеивать или иным способом воздействовать на электромагнитные поля или волны (например, гамма-лучи, рентгеновское излучение, радиоволны, микроволновое излучение, видимый свет), частицы (например, альфа-частицы, электроны, позитроны, нейтроны, протоны) или другие формы излучения, например, ультразвук.

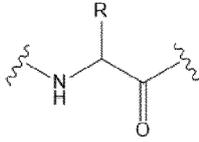
[00135] **«Животное»:** используемый в данном документе термин *животное* относится к людям, а также животным, отличным от человека, на любой стадии развития, включая, например, млекопитающих, птиц, рептилий, земноводных, рыб, червей и одноклеточных. Культуры клеток и образцы живой ткани считаются множеством животных. Предпочтительно животное, отличное от человека, представляет собой млекопитающее (*например*, грызуна, мышь, крысу, кролика, обезьяну, собаку, кошку, примата или свинью). Животное может представлять собой трансгенное животное или клон человека. Термин «субъект» охватывает животных.

[00136] **«Эффективное количество»:** в целом, поскольку он относится к активному средству или устройству для доставки лекарственного средства, термин *«эффективное количество»* относится к количеству, необходимому для того, чтобы вызвать требуемую биологическую ответную реакцию. Как будет понятно рядовым специалистам в данной области техники, эффективное количество средства или устройства может варьировать в зависимости от таких факторов как требуемая биологическая конечная точка, средство, подлежащее доставке, композиция инкапсулирующей матрицы, ткань-мишень *и т. д.* В некоторых вариантах осуществления эффективное количество микрочастиц, содержащих антиген, подлежащий доставке с целью иммунизации индивидуума, представляет собой количество, которое вызывает иммунную реакцию, достаточную для предупреждения инфицирования организмом, обладающим введенным антигеном.

[00137] Используемый в данном документе термин **«природная аминокислота»** относится к любой из распространенных, встречающихся в природе L-аминокислот, обнаруживаемых в составе встречающихся в природе белков, таких как глицин (Gly), аланин (Ala), валин (Val), лейцин (Leu), изолейцин (Ile), лизин (Lys), аргинин (Arg), гистидин (His), пролин (Pro), серин (Ser), треонин (Thr), фенилаланин (Phe), тирозин (Tyr), триптофан (Trp), аспарагиновая кислота (Asp), глутаминовая кислота (Glu), аспарагин (Asn), глутамин (Gln), цистеин (Cys), метионин (Met) или их стереоизомеры, например, изоглутаминовая кислота (iGlu) или изоаспарагиновая кислота (iAsp). Если не указано иное, упоминание аминокислоты включает саму аминокислоту и ее стереоизомеры. В некоторых вариантах осуществления термин «глутаминовая кислота» включает как Glu,

так и iGlu, в то время как термин «аспарагиновая кислота» включает как Asp, так и iAsp.

[00138] Используемый в данном документе термин «**неприродная аминокислота**» относится к любой аминокислоте, которая не является природной аминокислотой. Это включает, например, аминокислоты, которые содержат α -, β -, γ -, D-, L-аминоацильные остатки. В более общем смысле, неприродная аминокислота содержит остаток общей



формулы где боковая цепь R отличается от боковых цепей аминокислот, встречающихся в природе. Иллюстративные неприродные аминокислоты включают без ограничения саркозин (N-метилглицин), цитруллин (cit), гомоцитруллин, β -уреидоаланин, тиоцитруллин, гидроксипролин, аллотреонин, пипеколиновую кислоту (гомопролин), α -аминоизомасляную кислоту, трет-бутилглицин, трет-бутилаланин, аллоизолейцин, норлейцин, α -метиллейцин, циклогексилглицин, β -циклогексилаланин, β -циклопентилаланин, α -метилпролин, фенилглицин, α -метилфенилаланин и гомофенилаланин.

[00139] Известно, что «**H**», «**-H**» или «**водород**», используемые в данном документе, могут применяться взаимозаменяемо при упоминании атома водорода.

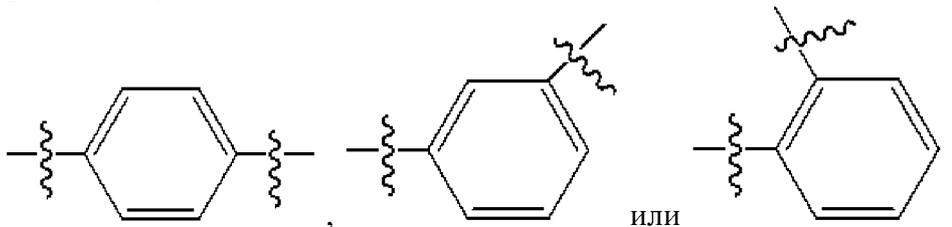
[00140] Термин «**алкил**» сам по себе или в виде части другого термина, используемый в данном документе, относится к замещенному или незамещенному, имеющему прямую цепь или разветвленному, насыщенному или ненасыщенному углеводороду, содержащему указанное число атомов углерода (например, «**-C₁₋₈алкил**» или «**-C₁₋₁₀алкил**» относятся к алкильной группе, содержащей 1-8 или 1-10 атомов углерода соответственно). Если число атомов углерода не указано, алкильная группа содержит 1-8 атомов углерода. Иллюстративные «**-C₁₋₈алкильные**» группы с прямой цепью включают без ограничения -метил, -этил, -н-пропил, -н-бутил, -н-пентил, -н-гексил, -н-гептил и -н-октил; в то время как разветвленные **-C₁₋₈алкилы** включают без ограничения -изопропил, *-втор*-бутил, -изобутил, *-трет*-бутил, -изопентил и -2-метилбутил; ненасыщенные **-C₂₋₈алкилы** включают без ограничения -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 вариантах осуществления алкильная группа является незамещенной. Алкильная группа может быть замещена одной или более группами. В других аспектах алкильная группа будет являться насыщенной.

[00141] Термин «**алкилен**» сам по себе или в виде части другого термина, используемый в данном документе, относится к замещенному или незамещенному, насыщенному или ненасыщенному, разветвленному, или имеющему прямую цепь, или циклическому углеводородному радикалу, имеющему указанное число атомов углерода,

как правило 1-10 атомов углерода, и имеющему два одновалентных радикальных центра, получаемому путем удаления двух атомов водорода от одного и того же или двух разных атомов углерода исходного алкана. Типичные алкиленовые радикалы включают без ограничения: метилен (-CH₂-), 1,2-этил (-CH₂CH₂-), 1,3-пропил (-CH₂CH₂CH₂-), 1,4-бутил (-CH₂CH₂CH₂CH₂-) и т. п. В некоторых вариантах осуществления алкилен представляет собой углеводород с разветвленной или прямой цепью (т. е. он не представляет собой циклический углеводород). В любом из вариантов осуществления, предусмотренных в данном документе, алкилен может представлять собой насыщенный алкилен.

[00142] Термин **«арил»** сам по себе или в виде части другого термина, используемый в данном документе, означает замещенный или незамещенный одновалентный карбоциклический ароматический углеводородный радикал, содержащий 6-20 атомов углерода (предпочтительно 6-14 атомов углерода), получаемый путем удаления одного атома водорода от одного атома углерода исходной ароматической кольцевой системы. Некоторые арильные группы представлены в иллюстративных структурах в виде «Ar». Типичные арильные группы включают без ограничения радикалы, полученные из бензола, замещенного бензола, нафталина, антрацена, бифенила и т. п. Иллюстративная арильная группа представляет собой фенильную группу.

[00143] Термин **«арилен»** сам по себе или в виде части другого термина, используемый в данном документе, представляет собой арильную группу согласно определению, приведенному выше, где один из атомов водорода арильной группы замещен связью (т. е. является двухвалентным) и может быть в орто-, мета-, или пара-ориентации, как показано в следующих структурах, где фенил показан в качестве иллюстративной группы:



[00144] В некоторых вариантах осуществления, например, если многофункциональный линкер или звено, представляющее собой лекарственное средство, содержит арилен, арилен представляет собой арильную группу согласно определению, приведенному выше, где один или два из атомов водорода арильной группы замещены связью (т. е. арилен может быть двухвалентным или трехвалентным).

[00145] Термин **«гетероцикл»** сам по себе или в виде части другого термина, используемый в данном документе, относится к одновалентной замещенной или незамещенной ароматической («гетероарильной») или неароматической («гетероциклоалкильной») моноциклической, бициклической, трициклической или тетрациклической кольцевой системе, содержащей определенное число (например, от 3 до 8 или C₃₋₈) атомов углерода (также называемых членами кольца) и от одного до четырех членов кольца в виде гетероатомов, независимо выбранных из N, O, P или S, и

получаемой путем удаления одного атома водорода от атома кольца исходной кольцевой системы. Один или более атомов N, C или S в составе гетероцикла могут являться окисленными. Кольцо, которое содержит гетероатом, может являться ароматическим или неароматическим. Если не указано иное, гетероцикл присоединен к его боковой группе в положении любого гетероатома или атома углерода, что приводит к получению стабильной структуры. Иллюстративные примеры гетероцикла (например, C₃₋₈-гетероцикла) включают без ограничения пирролидинил, азетидинил, пиперидинил, морфолинил, тетрагидрофуранил, тетрагидропиранил, бензофуранил, бензотиофен, индолил, бензопиразолил, пирролил, тиофенил (тиофен), фуранил, тиазолил, имидазолил, пиразолил, пиримидинил, пиридинил, пиразинил, пиридазинил, изотиазолил и изоксазолил.

[00146] Используемый в данном документе термин **«гетероцикло»** или **«гетероцикло-»** относится к гетероциклической группе (например, C₃₋₈-гетероциклу) определенной выше, где один или более дополнительных атомов водорода гетероцикла замещен связью (т. е. она является поливалентной, например, двухвалентной или трехвалентной). В некоторых вариантах осуществления, если гидрофильная группа, многофункциональный линкер или фрагмент линкер-лекарственное средство содержат гетероцикло, гетероцикло представляет собой гетероциклическую группу согласно определению, приведенному выше, где один или два из атомов водорода гетероциклической группы замещены связью (т. е. гетероцикло может быть двухвалентным или трехвалентным).

[00147] Термин **«карбоцикл»** сам по себе или в виде части другого термина, используемый в данном документе, представляет собой одновалентную, замещенную или незамещенную, ароматическую («арильную») или насыщенную или ненасыщенную неароматическую («циклоалкильную»), моноциклическую, бициклическую, трициклическую или тетрациклическую карбоциклическую кольцевую систему, содержащую определенное число (например, от 3 до 8 или C₃₋₈) атомов углерода (также называемых членами кольца), получаемую путем удаления одного атома водорода от атома кольца исходной кольцевой системы. Карбоцикл может являться 3-, 4-, 5-, 6-, 7- или 8-членным. Иллюстративные C₃₋₈ карбоциклы включают без ограничения циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклопентадиенил, циклогексил, циклогексенил, фенил, 1,3-циклогексадиенил, 1,4-циклогексадиенил, циклогептил, 1,3-циклогептадиенил, 1,3,5-циклогептатриенил, циклооктил и циклооктадиенил.

[00148] Термин **«карбоцикло»** или **«карбоцикло-»** сам по себе или в виде части другого термина, используемый в данном документе, относится к C₃₋₈-карбоциклической группе согласно определению, приведенному выше, где еще один из атомов водорода карбоциклической группы замещен связью (т. е. она является двухвалентной). В выбранных вариантах осуществления, например, если гидрофильная группа, многофункциональный линкер или фрагмент линкер-лекарственное средство содержат карбоцикло, карбоцикло представляет собой карбоциклическую группу определенную,

выше, где один или два из атомов водорода карбоциклической группы замещены связью (т. е. карбоцикло может быть двухвалентным или трехвалентным).

[00149] Термин **«гетероалкил»** сам по себе или в виде части другого термина, используемый в данном документе, означает, если не указано иное, стабильный углеводород с прямой или разветвленной цепью, или их комбинации, полностью насыщенный или имеющий степень ненасыщенности от 1 до 3, состоящий из указанного числа 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 могут необязательно являться окисленными и гетероатом азота может необязательно являться кватернизованным. Гетероатом(гетероатомы) O, N и S может(могут) располагаться в любом внутреннем положении гетероалкильной группы или в положении, в котором алкильная группа присоединяется к остальной части молекулы. Гетероатом Si может располагаться в любом положении гетероалкильной группы, включающем положение, в котором алкильная группа присоединяется к остальной части молекулы. Примеры включают $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$, $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{O}-\text{CH}_3$ и $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$. Не более двух гетероатомов могут следовать подряд, как, например, в $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$ и $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$. В предпочтительных вариантах осуществления C_{1-4} гетероалкил или гетероалкилен содержит от 1 до 4 атомов углерода и 1 или 2 гетероатома, и C_{1-3} гетероалкил или гетероалкилен содержит от 1 до 3 атомов углерода и 1 или 2 гетероатома. В некоторых аспектах гетероалкил или гетероалкилен являются насыщенными.

[00150] Термин **гетероалкилен** сам по себе или как часть другого заместителя, используемый в данном документе, означает двухвалентную группу, полученную из гетероалкила (как было рассмотрено выше), как представлено на примере $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ и $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$. Что касается гетероалкиленовых групп, гетероатомы могут также занимать один из концов или оба конца цепи. Кроме того, что касается алкиленовых и гетероалкиленовых связующих групп, не подразумевается ни одна ориентация связывающей группы. В выбранных вариантах осуществления, например, если гидрофильная группа, многофункциональный линкер или фрагмент линкер-лекарственное средство содержат гетероалкилен, при этом гетероалкилен представляет собой гетероалкильную группу определенную выше, где один или два атома водорода гетероалкильной группы замещены связью (т. е. гетероалкилен может быть двухвалентным или трехвалентным).

[00151] Термин **«необязательно замещенный»**, используемый в данном документе, означает, что химический фрагмент (такой как алкил, гетероалкил, карбоцикл, и гетероцикл, и т. д.) является либо замещенным, либо незамещенным. Если не указано иное, химические фрагменты, раскрытые в данном документе, являются необязательно замещенными. Если химический фрагмент является замещенным, каждый из одного или более атомов водорода независимо замещен заместителем. Типичные заместители

включают, но без ограничения $-X'$, $-R'$, $-O$, $-OR'$, $-SR'$, $-S^-$, $-N(R')$, $-N(R')_2$, $-N(R')_3$, $=NR'$, $-C(X')_3$, $-CN$, $-OCN$, $-SCN$, $-N=C=O$, $-NCS$, $-NO$, $-NO_2$, $=N_2$, $-N_3$, $-NR'C(=O)R'$, $-C(=O)R'$, $-C(=O)N(R')_2$, $-SO_3^-$, $-SO_3H$, $-S(=O)_2R'$, $-OS(=O)_2OR'$, $-S(=O)_2NR'$, $-S(=O)R'$, $-OP(=O)(OR')_2$, $-P(=O)(OR')_2$, $-PO_3^-$, $-PO_3H_2$, $-AsO_2H_2$, $-C(=O)R'$, $-C(=O)X'$, $-C(=S)R'$, $-CO_2R'$, $-CO_2^-$, $-C(=S)OR'$, $C(=O)SR'$, $C(=S)SR'$, $C(=O)N(R')_2$, $C(=S)N(R')_2$ или $C(=NR')N(R')_2$, где каждый X' независимо представляет собой атом галогена: $-F$, $-Cl$, $-Br$ или $-I$; и каждый R' независимо представляет собой $-H$, $-C_{1-20}$ алкил, $-C_{6-20}$ арил, $-C_3-C_{14}$ гетероцикл, защитную группу или фрагмент, представляющий собой пролекарство. Типичные заместители также включают оксо ($=O$).

[00152] Термин **«фрагмент линкер-лекарственное средство»**, используемый в данном документе, относится к части ненацеливающего фрагмента конъюгата, раскрытого в данном документе. Линкерный компонент фрагмента линкер-лекарственное средство имеет механизм высвобождения, который называется сборочным звеном, обеспечивающим возможность высвобождения, располагающийся между многофункциональным линкером и звеном, представляющим собой лекарственное средство.

[00153] Термин **«многофункциональный линкер»**, используемый в данном документе, относится к линкеру, который соединяет одну или более гидрофильных групп, одно или более звеньев, представляющих собой лекарственное средство, и нацеливающий фрагмент (например, PBRM) с образованием конъюгата или каркаса, раскрытых в данном документе. Присоединение данных компонентов к многофункциональному линкеру может быть либо параллельным, либо последовательным. В некоторых вариантах осуществления многофункциональный линкер содержит пептидный фрагмент между нацеливающим фрагментом и гидрофильной группой, где пептидный фрагмент включает по меньшей мере две аминокислоты. В других вариантах осуществления многофункциональный линкер не должен содержать пептидный фрагмент, содержащий по меньшей мере две аминокислоты, если гидрофильная группа представляет собой многоатомный спирт или его производное. В других вариантах осуществления многофункциональный линкер не должен содержать пептидный фрагмент, содержащий по меньшей мере две аминокислоты, если гидрофильная группа представляет собой глюкозиламин, диглюкозиламин, триглюкозиламин или его производное.

[00154] Используемое в данном документе выражение «параллельная ориентация», «параллельное расположение», «параллельное соединение» или подобные ему термины относятся к конфигурации, где параллельно расположенные, или параллельно ориентированные, или параллельно соединенные компоненты присоединены к многофункциональному линкеру таким образом, чтобы каждый имел один конец, привязанный к многофункциональному линкеру, и один свободный конец. Термин «параллельный», используемый в данном документе, не используется для обозначения того, что два компонента находятся в непосредственной близости друг от друга в пространстве или имеют одинаковое расстояние между ними на протяжении некоторой

или всей их длины. В случаях, если параллельно ориентированный компонент сам по себе является разветвленным и, таким образом, имеет несколько концов, он все еще имеет только один привязанный конец. В некоторых вариантах осуществления только гидрофильные группы, требуемые для маскировки гидрофобности данного фрагмента линкер-лекарственное средство, находятся в параллельной ориентации по отношению к звену, представляющему собой лекарственное средство, что необязательно требует, чтобы все звенья, представляющие собой лекарственное средство, и гидрофильные группы, присоединенные к многофункциональному линкеру, находились в параллельной ориентации по отношению друг к другу. В других вариантах осуществления, все из звеньев, представляющих собой лекарственное средство, и гидрофильных групп, присоединенные к многофункциональному линкеру, находятся в параллельной ориентации по отношению друг к другу.

[00155] Выражение «последовательная ориентация», или «последовательное расположение», или «последовательное соединение», или подобные ему термины относятся к конфигурации компонента в составе конъюгата или каркаса по настоящему изобретению, где последовательно ориентированный компонент присоединен таким образом, чтобы он имел два привязанных конца, при этом каждый конец присоединен к разному компоненту конъюгата или каркаса по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления одна или более субъединиц (OCH_2CH_2), которые характеризуют звено или субъединицу PEG, располагаются между звеном, представляющим собой лекарственное средство, и нацеливающим фрагментом.

[00156] Выражение **«свободное лекарственное средство»**, используемое в данном документе, относится к биологически активной форме фрагмента, представляющего собой лекарственное средство, который либо непосредственно, либо опосредованно нековалентно присоединен к гидрофильной группе или продукту разложения звена, представляющего собой лиганд. Свободное лекарственное средство может относиться к лекарственному средству, возникающему непосредственно при отщеплении от многофункционального линкера с помощью механизма высвобождения, который обеспечивается сборочным звеном, обеспечивающим возможность высвобождения, в фрагменте линкер-лекарственное средство, или к последовательному внутриклеточному превращению или метаболизму. В некоторых аспектах свободное лекарственное средство будет иметь форму H-D или может существовать в виде заряженного фрагмента. Свободное лекарственное средство представляет собой фармакологически активное соединение, которое может оказывать требуемый биологический эффект. В некоторых аспектах фармакологически активное соединение может не являться исходным лекарственным средством и может содержать компонент линкера, посредством которого лекарственное средство присоединяется к нацеливающему фрагменту, который не подвергнулся последовательному внутриклеточному метаболизму.

[00157] Гидрофобность может быть измерена с помощью clogP . clogP определяют как логарифм коэффициента распределения в системе октанол/вода (включая атомы

водорода в неявной форме) и он может быть рассчитан с применением программы MOE™ компании Chemical Computing group (значения clogP рассчитывали с применением Wildman, S.A., Crippen, G.M.; Prediction of Physiochemical Parameters by Atomic Contributions; J. Chem. Inf. Comput. Sci. 39 No. 5 (1999) 868-873).

[00158] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает композицию на основе конъюгата нацеливающий фрагмент-лекарственное средство, содержащую популяцию конъюгатов нацеливающий фрагмент-лекарственное средство. Конъюгат нацеливающий фрагмент-лекарственное средство содержит звено, представляющее собой нацеливающий фрагмент, и несколько фрагментов линкер-лекарственное средство, присоединенных к нему. Предпочтительно в составе конъюгата присутствуют в среднем от приблизительно 2 до приблизительно 6, от приблизительно 2 до приблизительно 4 или от приблизительно 1 до приблизительно 2 фрагментов линкер-лекарственное средство (например, d_{13} формулы (I)) на нацеливающий фрагмент. Иллюстративное присоединение к нацеливающему фрагменту осуществляется посредством тиозфирных связей. Иллюстративные сайты конъюгации на нацеливающем фрагменте представляют собой тиольные группы, полученные путем восстановления межцепочечных дисульфидных остатков и/или тиолсодержащих остатков, введенных в нацеливающий фрагмент, таких как введенные цистеиновые остатки. Присоединение может осуществляться, например, посредством тиольных остатков, полученных из межцепочечного дисульфида, и от 0 до 8 введенных цистеиновых остатков.

[00159] Используемый в данном документе термин «молекулярная масса» или «MW» полимера относится к средневесовой молекулярной массе, если не указано иное.

[00160] Предполагается, что настоящее изобретение включает все изотопы атомов, встречающиеся в соединениях по настоящему изобретению. Изотопы включают атомы, имеющие такое же атомное число, но разные массовые числа. В качестве общего примера и без ограничения изотопы водорода включают тритий и дейтерий. Изотопы углерода включают ^{13}C и ^{14}C .

[00161] Соединение, каркас или конъюгат по настоящему изобретению может существовать в более чем одной изомерной форме. Известно, что при описании соединения, каркаса или конъюгата в данном документе настоящее изобретение относится ко всем изомерам соединения, каркаса или конъюгата. Настоящее изобретение относится, где это применимо, к региоизомерам, оптическим изомерам и таутомерным изомерам. В некоторых вариантах осуществления оптические изомеры включают энантиомеры, диастереомеры, хиральные изомеры и изомеры, отличные от хиральных. В некоторых вариантах осуществления оптические изомеры включают выделенные оптические изомеры, а также смеси оптических изомеров, включая рацемические и нерацемические смеси. Изомер может находиться в выделенной форме или в смеси с одним или более другими изомерами. Если не указано иное, подразумевается, что любое соединение, каркас или конъюгат, описанные в данном документе, относятся к каждому изомеру соединения, каркаса или конъюгата или любой их смеси. Если соединение, каркас или

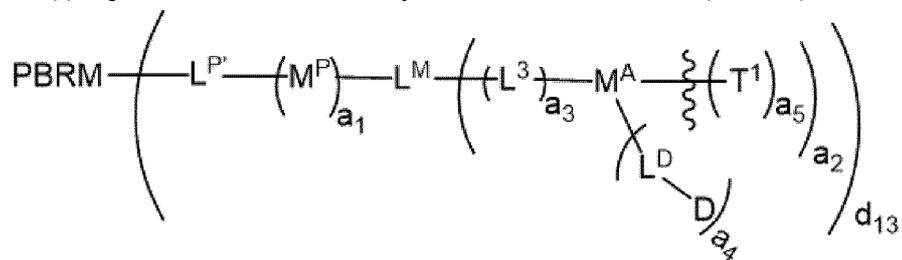
конъюгат изображены в виде конкретного изомера, известно, что настоящее изобретение не ограничено данным конкретным изомером, но может упоминать конкретный изомер в качестве необязательного варианта осуществления.

[00162] В некоторых вариантах осуществления соединение, каркас или конъюгат по настоящему изобретению могут существовать в виде цис- и/или транс-изомеров. Если не указано иное, подразумевается, что любое соединение, каркас или конъюгат, описанные в данном документе, относятся к цис-изомеру или транс-изомеру соединения, каркаса или конъюгата, а также любой их смеси. Если соединение, каркас или конъюгат изображены в виде цис- или транс-изомера, известно, что настоящее изобретение не ограничено данным конкретным цис- или транс-изомером, но может упоминать конкретный цис- или транс-изомер в качестве необязательного варианта осуществления.

[00163] В некоторых вариантах осуществления соединения, каркас или конъюгат по настоящему изобретению могут существовать в виде региоизомеров. Если не указано иное, подразумевается, что любое соединение, каркас или конъюгат, описанные в данном документе, относятся к каждому региоизомеру соединения, каркаса или конъюгата или любой их смеси. Если соединение, каркас или конъюгат изображены в виде конкретного региоизомера, известно, что настоящее изобретение не ограничено данным конкретным региоизомером, но может упоминать конкретный региоизомер в качестве необязательного варианта осуществления. Предполагается, что перечисление или изображение соединения, каркаса или конъюгата по настоящему изобретению без конкретного обозначения стереоконфигурации или при наличии такого обозначения для менее чем всех хиральных центров, охватывает в отношении таких необозначенных хиральных центров рацемат, рацемические смеси, каждый отдельный энантиомер, смесь диастереоизомеров и каждый отдельный диастереомер соединения, где такие формы являются возможными благодаря наличию одного или более асимметричных центров.

Конъюгаты и пептидсодержащие каркасы

[00164] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к конъюгату формулы (I) с распознающей молекулой на основе белка (PBRM):



(I),

где

a_1 , если присутствует, представляет собой целое число от 0 до 1;

a_2 представляет собой целое число от 1 до 3;

a_3 , если присутствует, представляет собой целое число от 0 до 1;

a_4 представляет собой целое число от 1 до приблизительно 5;

a_5 представляет собой целое число от 1 до 3;

d_{13} представляет собой целое число от 1 до приблизительно 6;

PBRM обозначает распознающую молекулу на основе белка, где PBRM содержит сконструированный цистеин;

L^P представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, присоединяющий сконструированный цистеин из PBRM к M^P ; при этом соответствующий одновалентный фрагмент L^P содержит функциональную группу W^P , обладающую способностью образовывать ковалентную связь со сконструированным цистеином из PBRM;

M^P , если присутствует, представляет собой вставочное звено;

L^M представляет собой связь или трехвалентный или четырехвалентный линкер, и в случае, если L^M представляет собой связь, a_2 равняется 1, в случае, если L^M представляет собой трехвалентный линкер, a_2 равняется 2, или в случае, если L^M представляет собой четырехвалентный линкер, a_2 равняется 3;

L^3 , если присутствует, представляет собой карбонилсодержащий фрагмент;

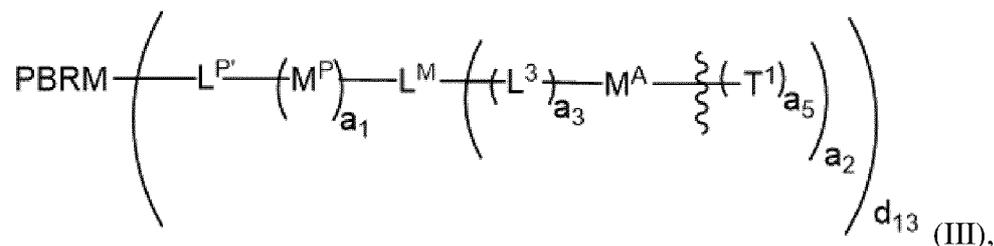
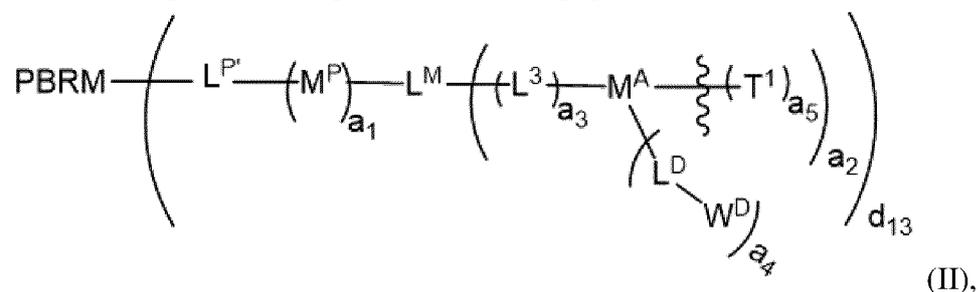
M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит по меньшей мере две аминокислоты;

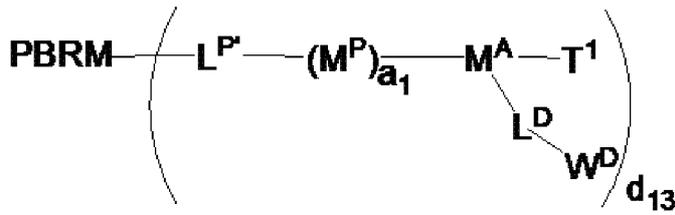
T^1 представляет собой гидрофильную группу, и  между T^1 и M^A обозначает прямое или не прямое присоединение к T^1 и M^A ;

в каждом случае D независимо представляет собой терапевтическое средство, имеющее молекулярную массу \leq приблизительно 5 кДа; и

в каждом случае L^D независимо представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, присоединяющий D к M^A , и содержит по меньшей мере одну расщепляемую связь таким образом, чтобы при разрушении связи D высвобождалось в активной форме для обеспечения его предполагаемого терапевтического эффекта.

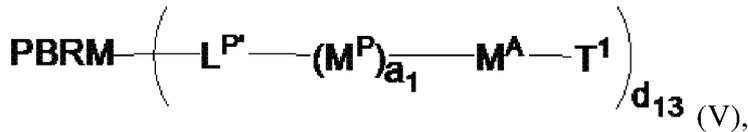
[00165] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к пептидсодержащему каркасу любой из формул (II)-(V):





(IV)

или



где

a_1 , если присутствует, представляет собой целое число от 0 до 1;

a_2 , если присутствует, равняется 3;

a_3 , если присутствует, представляет собой целое число от 0 до 1;

a_4 , если присутствует, представляет собой целое число от 1 до приблизительно 5;

a_5 , если присутствует, представляет собой целое число от 1 до 3;

d_{13} представляет собой целое число от 1 до приблизительно 6;

PBRM обозначает распознающую молекулу на основе белка, где PBRM содержит сконструированный цистеин;

L^{P} представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, присоединяющий сконструированный цистеин из PBRM к M^{P} ; при этом соответствующий одновалентный фрагмент L^{P} содержит функциональную группу W^{P} , обладающую способностью образовывать ковалентную связь со сконструированным цистеином из PBRM;

M^{P} , если присутствует, представляет собой вставочное звено;

L^{M} , если присутствует, представляет собой связь или трехвалентный или четырехвалентный линкер, и если L^{M} представляет собой связь, a_2 равняется 1, если L^{M} представляет собой трехвалентный линкер, a_2 равняется 2, или если L^{M} представляет собой четырехвалентный линкер, a_2 равняется 3;

L^3 , если присутствует, представляет собой карбонилсодержащий фрагмент;

M^{A} содержит пептидный фрагмент, который содержит по меньшей мере две аминокислоты;

T^1 представляет собой гидрофильную группу, и  между T^1 и M^{A} обозначает прямое или не прямое присоединение к T^1 и M^{A} ;

в каждом случае W^{D} независимо представляет собой функциональную группу, которая обладает способностью образовывать ковалентную связь с функциональной группой терапевтического средства («D»), имеющего молекулярную массу \leq приблизительно 5 кДа; и

в каждом случае L^{D} независимо представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, присоединяющий W^{D} или D к M^{A} , и L^{D} содержит по меньшей мере одну расщепляемую связь таким образом, чтобы при разрушении связи D высвобождалось в

активной форме для обеспечения его предполагаемого терапевтического эффекта.

[00166] Конъюгаты и каркасы по настоящему изобретению могут включать один или более из следующих характеристик в случае, если это применимо.

[00167] В некоторых вариантах осуществления d_{13} представляет собой целое число от приблизительно 1 до приблизительно 6 (например, d_{13} равняется 1, 2, 3, 4, 5 или 6).

[00168] В некоторых вариантах осуществления d_{13} представляет собой целое число от приблизительно 2 до приблизительно 6 (например, d_{13} равняется 2, 3, 4, 5 или 6).

[00169] В некоторых вариантах осуществления d_{13} представляет собой целое число от приблизительно 4 до приблизительно 6 (например, d_{13} равняется 4, 5 или 6).

[00170] В некоторых вариантах осуществления d_{13} представляет собой целое число от приблизительно 1 до приблизительно 4 (например, d_{13} равняется 1, 2, 3 или 4).

[00171] В некоторых вариантах осуществления d_{13} представляет собой целое число от приблизительно 2 до приблизительно 4 (например, d_{13} равняется 2, 3 или 4).

[00172] В некоторых вариантах осуществления d_{13} представляет собой целое число от приблизительно 3 до приблизительно 4.

[00173] В некоторых вариантах осуществления d_{13} представляет собой целое число от приблизительно 1 до приблизительно 2.

[00174] В некоторых вариантах осуществления d_{13} равняется 1. В некоторых вариантах осуществления d_{13} равняется 2. В некоторых вариантах осуществления d_{13} равняется 3. В некоторых вариантах осуществления d_{13} равняется 4. В некоторых вариантах осуществления d_{13} равняется 5. В некоторых вариантах осуществления d_{13} равняется 6.

[00175] В некоторых вариантах осуществления L^3 , если присутствует, содержит -X- C_{1-10} алкилен-C(O)-, при этом X непосредственно присоединен к L^M , где X представляет собой CH_2 , O или NR_5 , и R_5 представляет собой водород, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, C_3 -циклоалкил, COOH или COO- C_{1-6} алкил.

[00176] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой $-NR_5-(CH_2)_v-C(O)-$ или $-CH_2-(CH_2)_v-C(O)-NR_5-(CH_2)_v-C(O)-$, где каждый v независимо представляет собой целое число от 1 до 10. В некоторых вариантах осуществления L^3 , если присутствует, представляет собой $-NH-(CH_2)_2-C(O)-$ или $-(CH_2)_2-C(O)-NH-(CH_2)_2-C(O)-$.

[00177] В некоторых вариантах осуществления каждый v независимо представляет собой целое число от 1 до 6 или от 2 до 4 или v равняется 2.

[00178] В некоторых вариантах осуществления a_4 равняется 1.

[00179] В некоторых вариантах осуществления a_4 равняется 2. В некоторых вариантах осуществления a_4 равняется 3. В некоторых вариантах осуществления a_4 равняется 4.

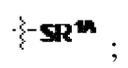
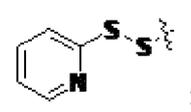
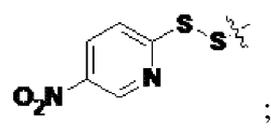
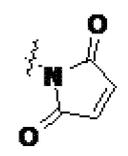
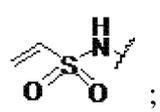
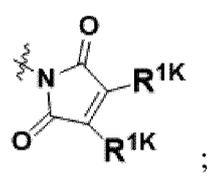
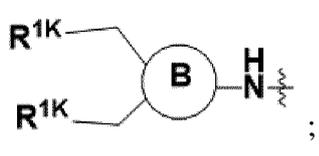
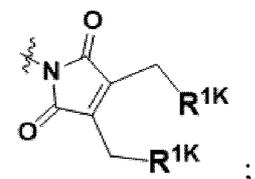
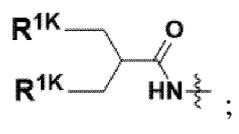
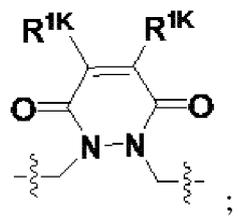
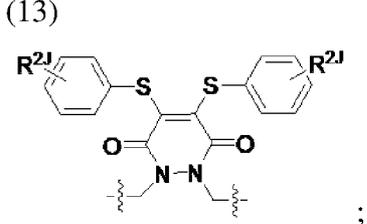
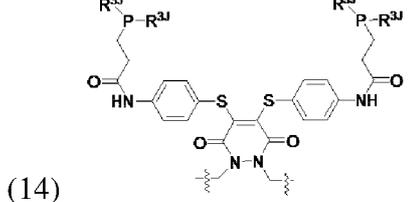
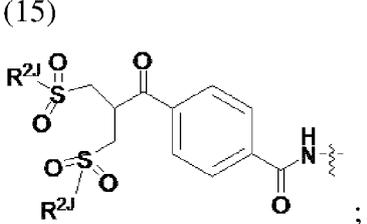
[00180] В некоторых вариантах осуществления a_4 равняется 5.

$L^{P'}$

[00181] В некоторых вариантах осуществления $L^{P'}$ представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, присоединяющий сконструированный цистеин из

PBRM к M^P , соответствующим одновалентным фрагментом которого является L^P .

[00182] В некоторых вариантах осуществления L^P представляет собой соответствующий одновалентный фрагмент L^P , если не присоединен к сконструированному цистеину из PBRM. В некоторых вариантах осуществления L^P содержит концевую группу W^P , где каждая W^P независимо представляет собой:

(1) 	(2) 	(3) 
(4) 	(5) 	(6) 
(7) 	(8) 	(9) 
(10) 	(11) 	(12) 
(13) 	(14) 	(15) 

где

кольцо В представляет собой циклоалкил, гетероциклоалкил, арил или гетероарил;

R^{1K} представляет собой уходящую группу;

R^{1A} представляет собой защитную группу для атома серы;

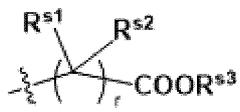
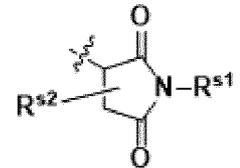
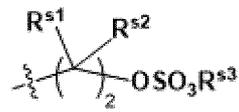
R^{2J} представляет собой водород, алифатический, арильный, гетероалифатический или карбоциклический фрагмент; и

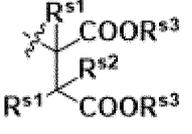
R^{3J} представляет собой C_{1-6} алкил, и каждый из Z_1 , Z_2 , Z_3 и Z_7 независимо представляет собой атом углерода или азота.

[00183] В некоторых вариантах осуществления каждый R^{1K} представляет собой

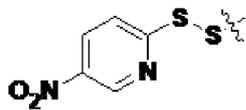
галоген или $RC(O)O-$, где R представляет собой водород, алифатический, гетероалифатический, карбоциклический или гетероциклоалкильный фрагмент.

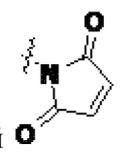
[00184] В некоторых вариантах осуществления каждый R^{1A} независимо

представляет собой , ,  или

, где r равняется 1 или 2, и каждый из R^{s1} , R^{s2} и R^{s3} представляет собой водород, алифатический, гетероалифатический, карбоциклический или гетероциклоалкильный фрагмент.

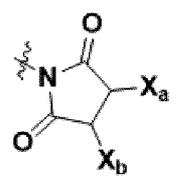
[00185] В некоторых вариантах осуществления W^P представляет собой



[00186] В некоторых вариантах осуществления W^P представляет собой .

[00187] В некоторых вариантах осуществления, если W^P представляет собой



[00188] В некоторых вариантах осуществления W^P представляет собой 

, где один из X_a и X_b представляет собой H и другой представляет собой фрагмент, блокирующий малеимино. В некоторых вариантах осуществления соединение, блокирующее малеимино (т. е. соединение, которое может вступать в реакцию с малеимидом с последующим превращением его в сукцинимид), может применяться с целью гашения реакции между, например, фрагментом линкер-лекарственное средство и PBRM (например, сконструированным цистеином из PBRM), и фрагмент, блокирующий малеимино, относится к химическому фрагменту, присоединенному к сукцинимиду при превращении. В некоторых вариантах осуществления фрагменты, блокирующие малеимино, представляют собой фрагменты, которые могут быть ковалентно присоединены к одному из двух атомов углерода олефина при осуществлении реакции

малеимидогруппы с тиолсодержащим соединением формулы (II'):



(II')

где:

R_{90} представляет собой NHR_{91} , OH , $COOR_{93}$, $CH(NHR_{91})COOR_{93}$ или замещенную фенильную группу;

R_{93} представляет собой водород или C_{1-4} алкил;

R_{91} представляет собой водород, CH_3 или CH_3CO ; и

d представляет собой целое число от 1 до 3.

[00189] В некоторых вариантах осуществления соединение, блокирующее малеимидо, может представлять собой цистеин, N-ацетилцистеин, метиловый эфир цистеина, N-метилцистеин, 2-меркаптоэтанол, 3-меркаптопропановую кислоту, 2-меркаптоуксусную кислоту, меркаптометанол (т. е. $HOCH_2SH$), бензилтиол, где фенил необязательно замещен одним или более гидрофильными заместителями, или 3-аминопропан-1-тиол. В некоторых вариантах осуществления один или более гидрофильных заместителей фенила включают OH , SH , метокси, этокси, $COOH$, CHO , COC_{1-4} алкил, NH_2 , F , циано, SO_3H , PO_3H и т. п.

[00190] В некоторых вариантах осуществления группа, блокирующая малеимидо, представляет собой $-S-(CH_2)_d-R_{90}$, где

R_{90} представляет собой OH , $COOH$ или $CH(NHR_{91})COOR_{93}$;

R_{93} представляет собой водород или CH_3 ;

R_{91} представляет собой водород или CH_3CO ; и

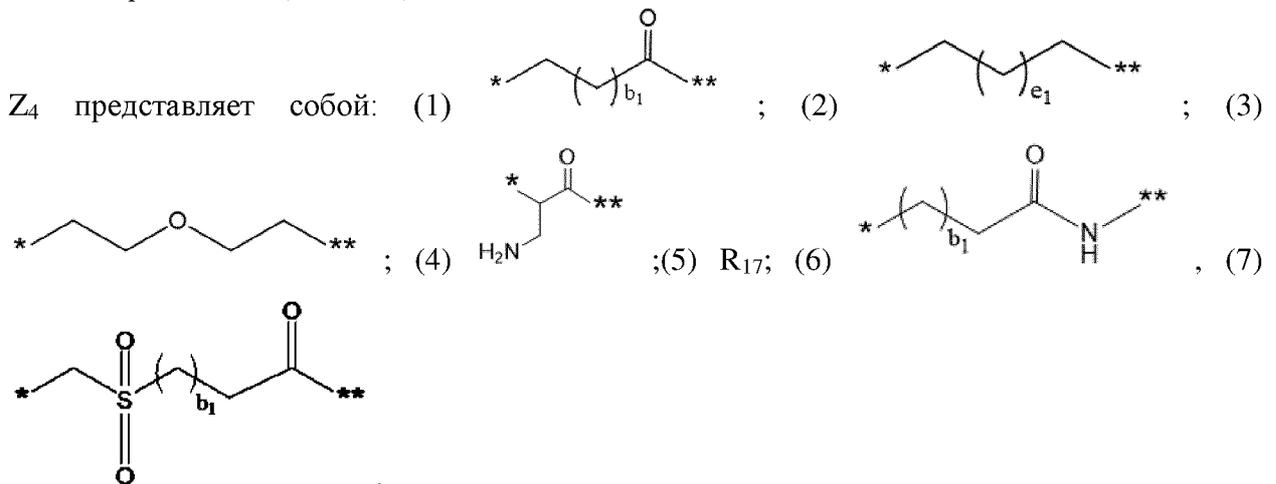
d равняется 1 или 2.

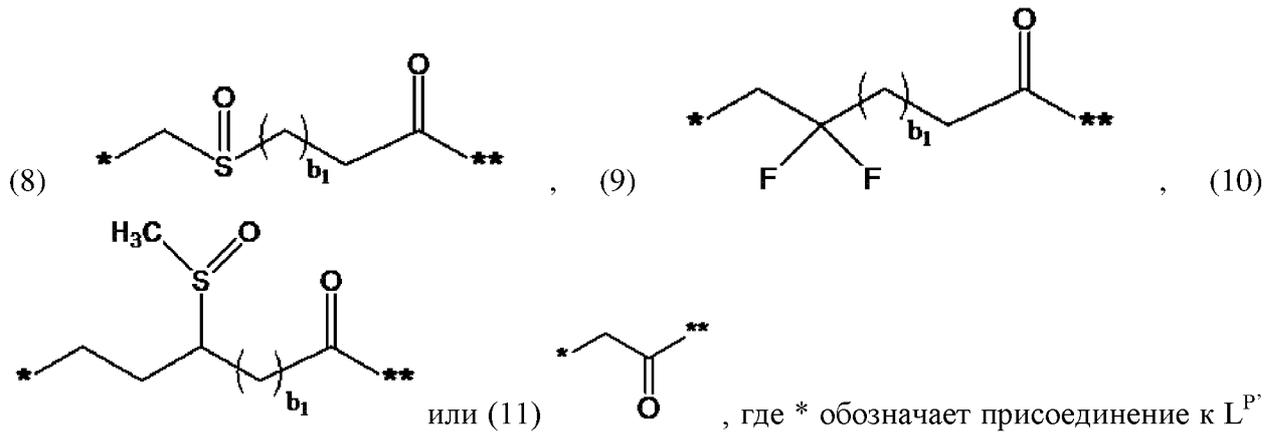
[00191] В некоторых вариантах осуществления группа, блокирующая малеимидо, представляет собой $-S-CH_2-CH(NH_2)COOH$.

Вставочное звено M^P

[00192] В некоторых вариантах осуществления M^P , если присутствует, представляет собой $-(Z_4)-[(Z_5)-(Z_6)]_z-$, где Z_4 присоединен к L^P или L^P , и Z_6 присоединен к L^M ; где

z равняется 1, 2 или 3;





b_1 представляет собой целое число от 0 до 6;

e_1 представляет собой целое число от 0 до 8;

R_{17} представляет собой C_{1-10} алкилен, C_{1-10} гетероалкилен, C_{3-8} циклоалкилен, $O-(C_{1-8}$ алкилен), арилен, $-C_{1-10}$ алкилен-арил-, $-арил-С_{1-10}$ алкилен-, $-C_{1-10}$ алкилен- $(C_{3-8}$ циклоалкилен)-, $-(C_{3-8}$ циклоалкилен- C_{1-10} алкилен)-, 4-14-членный гетероциклоалкилен, $-C_{1-10}$ алкилен- $(4-14-членный гетероциклоалкилен)-$, $-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-C_{1-10}$ алкилен-, $-C_{1-10}$ алкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ гетероалкилен- $C(=O)-$, $-C_{3-8}$ циклоалкилен- $C(=O)-$, $-O-(C_{1-8}$ алкил)- $C(=O)-$, $-арил-С(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен-арил- $C(=O)-$, $-арил-С_{1-10}$ алкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен- $(C_{3-8}$ циклоалкилен)- $C(=O)-$, $-(C_{3-8}$ циклоалкилен)- C_{1-10} алкилен- $C(=O)-$, $-4-14-членный гетероциклоалкилен-С(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен- $(4-14-членный гетероциклоалкилен)-С(=O)-$, $-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-C_{1-10}$ алкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен-NH-, $-C_{1-10}$ гетероалкилен-NH-, $-C_{3-8}$ циклоалкилен-NH-, $-O-(C_{1-8}$ алкил)-NH-, $-арил-NH-$, $-C_{1-10}$ алкилен-арил-NH-, $-арил-С_{1-10}$ алкилен-NH-, $-C_{1-10}$ алкилен- $(C_{3-8}$ циклоалкилен)-NH-, $-(C_{3-8}$ циклоалкилен)- C_{1-10} алкилен-NH-, 4-14-членный гетероциклоалкилен-NH-, $-C_{1-10}$ алкилен- $(4-14-членный гетероциклоалкилен)-NH-$, $-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-C_{1-10}$ алкилен-NH-, $-C_{1-10}$ алкилен-S-, $-C_{1-10}$ гетероалкилен-S-, $-C_{3-8}$ циклоалкилен-S-, $-O-C_{1-8}$ алкил)-S-, $-арил-S-$, $-C_{1-10}$ алкилен-арил-S-, $-арил-С_{1-10}$ алкилен-S-, $-C_{1-10}$ алкилен- $(C_{3-8}$ циклоалкилен)-S-, $-(C_{3-8}$ циклоалкилен)- C_{1-10} алкилен-S-, 4-14-членный гетероциклоалкилен-S-, $-C_{1-10}$ алкилен- $(4-14-членный гетероциклоалкилен)-S-$ или $-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-C_{1-10}$ алкилен-S-;

каждый Z_5 независимо отсутствует, представляет собой $R_{57}-R_{17}$ или полиэфирное звено;

каждый R_{57} независимо представляет собой связь, NR_{23} , S или O;

каждый R_{23} независимо представляет собой водород, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, C_{3-8} циклоалкил, COOH или COO- C_{1-6} алкил;

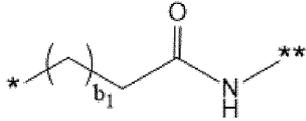
каждый Z_6 независимо отсутствует, представляет собой $-C_{1-10}$ алкил- R_3- , $-C_{1-10}$ алкил- NR_5- , $-C_{1-10}$ алкил- $C(O)-$, $-C_{1-10}$ алкил-O-, $-C_{1-10}$ алкил-S-, или $-(C_{1-10}$ алкил- R_3) $_g$ - C_{1-10} алкил- $C(O)-$;

каждый R_3 независимо представляет собой $-C(O)-NR_5-$ или $-NR_5-C(O)-$;

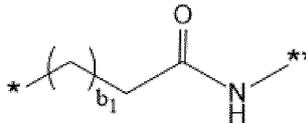
каждый R_5 независимо представляет собой водород, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, C_{3-8} циклоалкил, $COOH$ или $COO-C_{1-6}$ алкил; и

g_1 представляет собой целое число от 1 до 4.

[00193] В некоторых вариантах осуществления Z_4 представляет собой

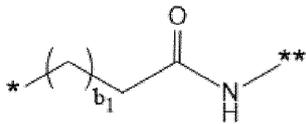


[00194] В некоторых вариантах осуществления Z_4 представляет собой



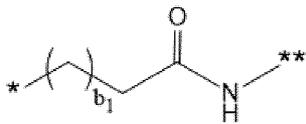
, где b_1 равняется 1 или 4.

[00195] В некоторых вариантах осуществления Z_4 представляет собой



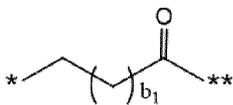
, где b_1 равняется 1.

[00196] В некоторых вариантах осуществления Z_4 представляет собой

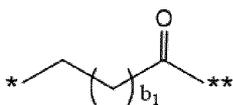


, где b_1 равняется 4.

[00197] В некоторых вариантах осуществления Z_4 представляет собой

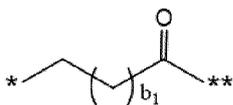


[00198] В некоторых вариантах осуществления Z_4 представляет собой



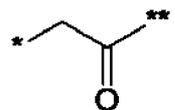
, например, где b_1 равняется 4.

[00199] В некоторых вариантах осуществления Z_4 представляет собой

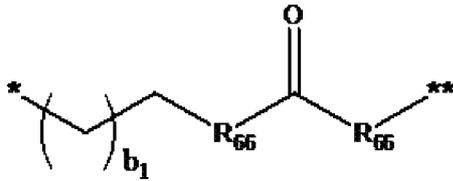


, например, где b_1 равняется 0.

[00200] В некоторых вариантах осуществления Z_4 представляет собой

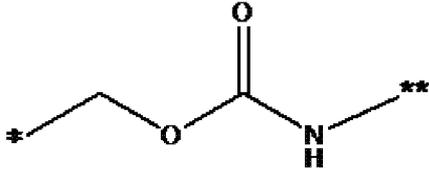


[00201] В некоторых вариантах осуществления Z_4 представляет собой

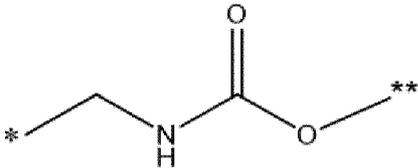


[00202] В некоторых вариантах осуществления b_1 равняется 0. В некоторых вариантах осуществления один из R₆₆ представляет собой O, и другой представляет собой NH.

[00203] В некоторых вариантах осуществления Z₄ представляет собой

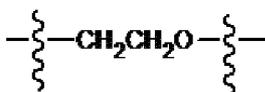


[00204] В некоторых вариантах осуществления Z₄ представляет собой



[00205] В некоторых вариантах осуществления каждый Z₅ независимо представляет собой полиалкиленгликоль (РАО), включающий без ограничения полимеры алкиленоксидов (например, полимеры этиленоксида, такие как, например, пропиленоксид, полипропиленгликоли, полиэтиленгликоль (РЕG), полиоксиэтиленированные полиолы, их сополимеры и их блок-сополимеры). В некоторых вариантах осуществления полиалкиленгликоль представляет собой полиэтиленгликоль (РЕG), включающий без ограничения полидисперсный РЕG, монодисперсный РЕG и дискретный РЕG. В некоторых вариантах осуществления полидисперсные РЕG представляют собой неоднородную смесь размеров и молекулярных масс, при этом монодисперсные РЕG являются выделенными из неоднородных смесей посредством очистки и, следовательно, предусматривают одну длину цепи и молекулярную массу. В некоторых вариантах осуществления звенья РЕG представляют собой дискретные РЕG. В некоторых вариантах осуществления дискретные РЕG предусматривают одну молекулу с определенной и заданной длиной цепи. В некоторых вариантах осуществления РЕG представляет собой mРЕG.

[00206] Используемый в данном документе термин «субъединица» при упоминании звена РЕG относится к субъединице полиэтиленгликоля формулы



. В некоторых таких вариантах осуществления звено РЕG содержит несколько субъединиц РЕG.

[00207] В некоторых вариантах осуществления, если z равняется 2 или 3, по

меньшей мере один Z_5 представляет собой полиалкиленгликоль (PAO), например, звено PEG.

[00208] В некоторых вариантах осуществления, если z равняется 2, по меньшей мере один Z_5 представляет собой полиалкиленгликоль (PAO), например, звено PEG.

[00209] В некоторых вариантах осуществления, если z равняется 3, по меньшей мере один Z_5 представляет собой полиалкиленгликоль (PAO), например, звено PEG.

[00210] В некоторых вариантах осуществления звено PEG содержит от 1 до 6 субъединиц.

[00211] В некоторых вариантах осуществления звено PEG содержит от 1 до 4 субъединиц.

[00212] В некоторых вариантах осуществления звено PEG содержит от 1 до 3 субъединиц.

[00213] В некоторых вариантах осуществления звено PEG содержит 1 субъединицу.

[00214] В некоторых вариантах осуществления звено PEG содержит 2 субъединицы.

[00215] В некоторых вариантах осуществления звено PEG содержит 3 субъединицы.

[00216] В некоторых вариантах осуществления звено PEG содержит 4 субъединицы.

[00217] В некоторых вариантах осуществления звено PEG содержит 5 субъединицы.

[00218] В некоторых вариантах осуществления звено PEG содержит 6 субъединицы.

[00219] В некоторых вариантах осуществления звено PEG содержит одну или несколько субъединиц PEG, связанных вместе посредством звена, связывающего PEG. В некоторых вариантах осуществления звено, связывающее PEG, которое соединяет одну или более цепей повторяющихся субъединиц $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -, представляет собой Z_6 . В некоторых вариантах осуществления Z_6 представляет собой $-\text{C}_{1-10}$ алкил- R_3 -, $-\text{C}_{2-10}$ алкил- NH -, $-\text{C}_{2-10}$ алкил- $\text{C}(\text{O})$ -, $-\text{C}_{2-10}$ алкил- O - или $-\text{C}_{1-10}$ алкил- S , где R_3 представляет собой $-\text{C}(\text{O})$ - NR_5 - или $-\text{NR}_5$ - $\text{C}(\text{O})$ -.

[00220] В некоторых вариантах осуществления звено, связывающее PEG, представляет собой $-\text{C}_{1-10}$ алкил- $\text{C}(\text{O})$ - NH - или $-\text{C}_{1-10}$ алкил- NH - $\text{C}(\text{O})$ -. В некоторых вариантах осуществления звено, связывающее PEG, представляет собой $-\text{C}_{1-10}$ алкил- $\text{C}(\text{O})$ - NH -. В некоторых вариантах осуществления звено, связывающее PEG, представляет собой $-\text{C}_{1-10}$ алкил- NH - $\text{C}(\text{O})$ -.
 $-\text{C}_{1-10}$ алкил- NH - $\text{C}(\text{O})$ -.

[00221] В некоторых вариантах осуществления звено, связывающее PEG, представляет собой $-(\text{CH}_2)_2$ - $\text{C}(\text{O})$ - NH -.

[00222] В некоторых вариантах осуществления каждый Z_5 отсутствует.

[00223] В некоторых вариантах осуществления, если z равняется 2 или 3, по

меньшей мере один Z_5 отсутствует.

[00224] В некоторых вариантах осуществления, если z равняется 2, по меньшей мере один Z_5 отсутствует. В некоторых вариантах осуществления, если z равняется 3, по меньшей мере один Z_5 отсутствует.

[00225] В некоторых вариантах осуществления каждый Z_5 представляет собой $-(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O})_2-$.

[00226] В некоторых вариантах осуществления, если z равняется 2 или 3, по меньшей мере один Z_5 представляет собой $-(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O})_2-$. В некоторых вариантах осуществления, если z равняется 2, по меньшей мере один Z_5 представляет собой $-(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O})_2-$. В некоторых вариантах осуществления, если z равняется 3, по меньшей мере один Z_5 представляет собой $-(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O})_2-$.

[00227] В некоторых вариантах осуществления каждый Z_5 независимо представляет собой $R_{57}\text{-}R_{17}$. В некоторых вариантах осуществления каждый Z_5 независимо представляет собой R_{17} , NHR_{17} , OR_{17} или SR_{17} .

[00228] В некоторых вариантах осуществления, если z равняется 2 или 3, по меньшей мере один Z_5 представляет собой $R_{57}\text{-}R_{17}$ (например, R_{17} , NHR_{17} , OR_{17} или SR_{17}).

[00229] В некоторых вариантах осуществления, если z равняется 2, по меньшей мере один Z_5 представляет собой $R_{57}\text{-}R_{17}$ (например, R_{17} , NHR_{17} , OR_{17} или SR_{17}). В некоторых вариантах осуществления, если z равняется 3, по меньшей мере один Z_5 представляет собой $R_{57}\text{-}R_{17}$ (например, R_{17} , NHR_{17} , OR_{17} или SR_{17}).

[00230] В некоторых вариантах осуществления каждый Z_6 отсутствует.

[00231] В некоторых вариантах осуществления, если z равняется 2 или 3, по меньшей мере один Z_6 отсутствует.

[00232] В некоторых вариантах осуществления, если z равняется 2, по меньшей мере один Z_6 отсутствует. В некоторых вариантах осуществления, если z равняется 3, по меньшей мере один Z_6 отсутствует.

[00233] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один из Z_5 и Z_6 не отсутствует.

[00234] В некоторых вариантах осуществления каждый Z_6 независимо представляет собой $-\text{C}_{1-10}\text{алкил-}R_3-$, $-\text{C}_{1-10}\text{алкил-NH-}$, $-\text{C}_{1-10}\text{алкил-C(O)-}$, $-\text{C}_{1-10}\text{алкил-O-}$, $-\text{C}_{1-10}\text{алкил-S-}$ или $-(\text{C}_{1-10}\text{алкил-}R_3)_{g_1}\text{-C}_{1-10}\text{алкил-C(O)-}$. В некоторых вариантах осуществления g_1 представляет собой целое число от 1 до 4.

[00235] В некоторых вариантах осуществления, если z равняется 2 или 3, по меньшей мере один Z_6 представляет собой $-\text{C}_{1-10}\text{алкил-}R_3-$, $-\text{C}_{1-10}\text{алкил-NH-}$, $-\text{C}_{1-10}\text{алкил-C(O)-}$, $-\text{C}_{1-10}\text{алкил-O-}$, $-\text{C}_{1-10}\text{алкил-S-}$ или $-(\text{C}_{1-10}\text{алкил-}R_3)_{g_1}\text{-C}_{1-10}\text{алкил-C(O)-}$. В некоторых вариантах осуществления g_1 представляет собой целое число от 1 до 4.

[00236] В некоторых вариантах осуществления каждый Z_6 независимо представляет собой $-\text{C}_{2-10}\text{алкил-C(O)-}$ (например, $-(\text{CH}_2)_2\text{-C(O)-}$).

[00237] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один Z_6 представляет собой $-\text{C}_{2-10}\text{алкил-C(O)-}$ (например, $-(\text{CH}_2)_2\text{-C(O)-}$).

[00238] В некоторых вариантах осуществления каждый Z_6 независимо представляет собой $-C_{2-10}$ алкил- R_3 - C_{2-10} алкил- $C(O)-$ (например, $-(CH_2)_2-C(O)NH-(CH_2)_2-C(O)-$).

[00239] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один Z_6 представляет собой $-C_{2-10}$ алкил- R_3 - C_{2-10} алкил- $C(O)-$ (например, $-(CH_2)_2-C(O)NH-(CH_2)_2-C(O)-$).

[00240] В некоторых вариантах осуществления каждый Z_6 независимо представляет собой $-(C_{2-10}$ алкил- $R_3)_{g1}$ - C_{2-10} алкил- $C(O)-$ (например, $-(CH_2)_2-C(O)NH-(CH_2)_2-NHC(O)-(CH_2)-C(O)-$).

[00241] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один Z_6 представляет собой $-(C_{2-10}$ алкил- $R_3)_{g1}$ - C_{2-10} алкил- $C(O)-$ (например, $-(CH_2)_2-C(O)NH-(CH_2)_2-NHC(O)-(CH_2)-C(O)-$) или $-(CH_2)_2-NH-C(O)-(CH_2)_2-C(O)-NH-(CH_2)-C(O)-$.

[00242] В некоторых вариантах осуществления каждый Z_6 независимо представляет собой $-(CH_2)_2-NH-C(O)-(CH_2)_2-C(O)-NH-CH_2-C(O)-$.

[00243] В некоторых вариантах осуществления каждый Z_6 независимо представляет собой $-(CH_2)_2-C(O)-NH-(CH_2)_2-NH-C(O)-(CH_2)-C(O)-$ или $-(CH_2)_2-NH-C(O)-(CH_2)_2-C(O)-NH-(CH_2)-C(O)-$.

[00244] В некоторых вариантах осуществления $-(Z_5)-(Z_6)]_z-$ не отсутствует.

[00245] В некоторых вариантах осуществления $-(Z_5)-(Z_6)]_z-$ представляет собой связь.

[00246] В некоторых вариантах осуществления $-(Z_5)-(Z_6)]_z-$ представляет собой $-(CH_2CH_2O)_2-(CH_2)_2-C(O)-$.

[00247] В некоторых вариантах осуществления $-(Z_5)-(Z_6)]_z-$ представляет собой $-(CH_2CH_2O)_2-(CH_2)_2-C(O)-NH-(CH_2CH_2O)_2-$.

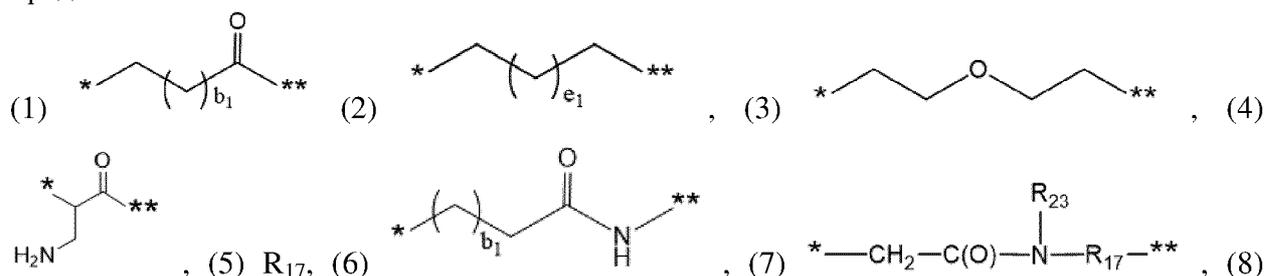
[00248] В некоторых вариантах осуществления $-(Z_5)-(Z_6)]_z-$ представляет собой $-(CH_2CH_2O)_2-(CH_2)_2-C(O)-NH-(CH_2)-C(O)-$.

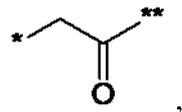
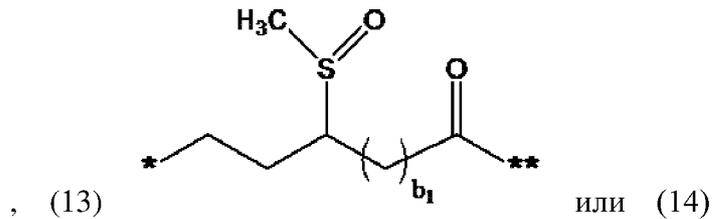
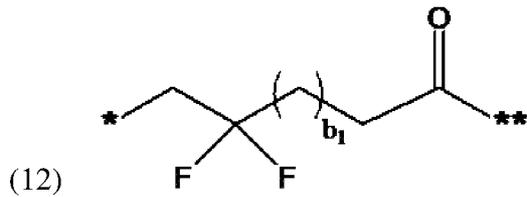
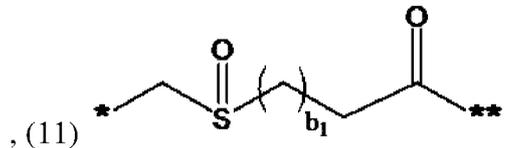
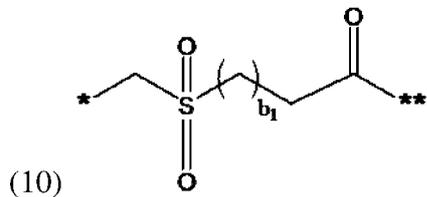
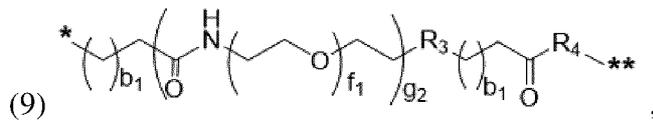
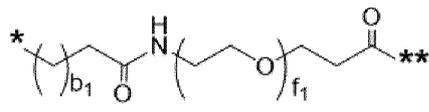
[00249] В некоторых вариантах осуществления $-(Z_5)-(Z_6)]_z-$ представляет собой $-(CH_2CH_2O)_2-(CH_2)_2-NH-C(O)-$.

[00250] В некоторых вариантах осуществления $-(Z_5)-(Z_6)]_z-$ представляет собой $-(CH_2CH_2O)_2-(CH_2)_2-NH-C(O)-(CH_2)_2-C(O)-NH-(CH_2)-C(O)-$.

[00251] В некоторых вариантах осуществления $-(Z_5)-(Z_6)]_z-$ представляет собой $-(CH_2CH_2O)_2-(CH_2)_2-C(O)-NH-(CH_2CH_2O)_2-(CH_2)_2-NH-C(O)-(CH_2)_2-C(O)-NH-(CH_2)-C(O)-$.

[00252] В некоторых вариантах осуществления M^P , если присутствует, представляет собой





где * обозначает присоединение к L^P или L^P , и ** обозначает присоединение к L^M ;

и

R_3 , R_5 , R_{17} и R_{23} являются такими, как определено в данном документе;

R_4 представляет собой связь или $-\text{NR}_5-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})-\text{C}(\text{O})-$;

каждый R_{20} и R_{21} независимо представляет собой водород, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, гидроксильированный C_{6-10} арил, полигидроксильированный C_{6-10} арил, 5-12-членный гетероцикл, C_{3-8} циклоалкил, гидроксильированный C_{3-8} циклоалкил, полигидроксильированный C_{3-8} циклоалкил или боковую цепь природной или не природной аминокислоты;

каждый b_1 независимо представляет собой целое число от 0 до 6;

e_1 представляет собой целое число от 0 до 8;

каждый f_1 независимо представляет собой целое число от 1 до 6; и

g_2 представляет собой целое число от 1 до 4.

[00253] В некоторых вариантах осуществления b_1 равняется 1.

[00254] В некоторых вариантах осуществления b_1 равняется 0.

[00255] В некоторых вариантах осуществления каждый f_1 независимо равняется 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления f_1 равняется 1.

[00256] В некоторых вариантах осуществления f_1 равняется 2.

[00257] В некоторых вариантах осуществления g_2 равняется 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления g_2 равняется 1.

[00258] В некоторых вариантах осуществления g_2 равняется 2.

[00259] В некоторых вариантах осуществления R_{17} является незамещенным.

[00260] В некоторых вариантах осуществления R_{17} является необязательно замещенным.

[00261] В некоторых вариантах осуществления R_{17} является замещенным.

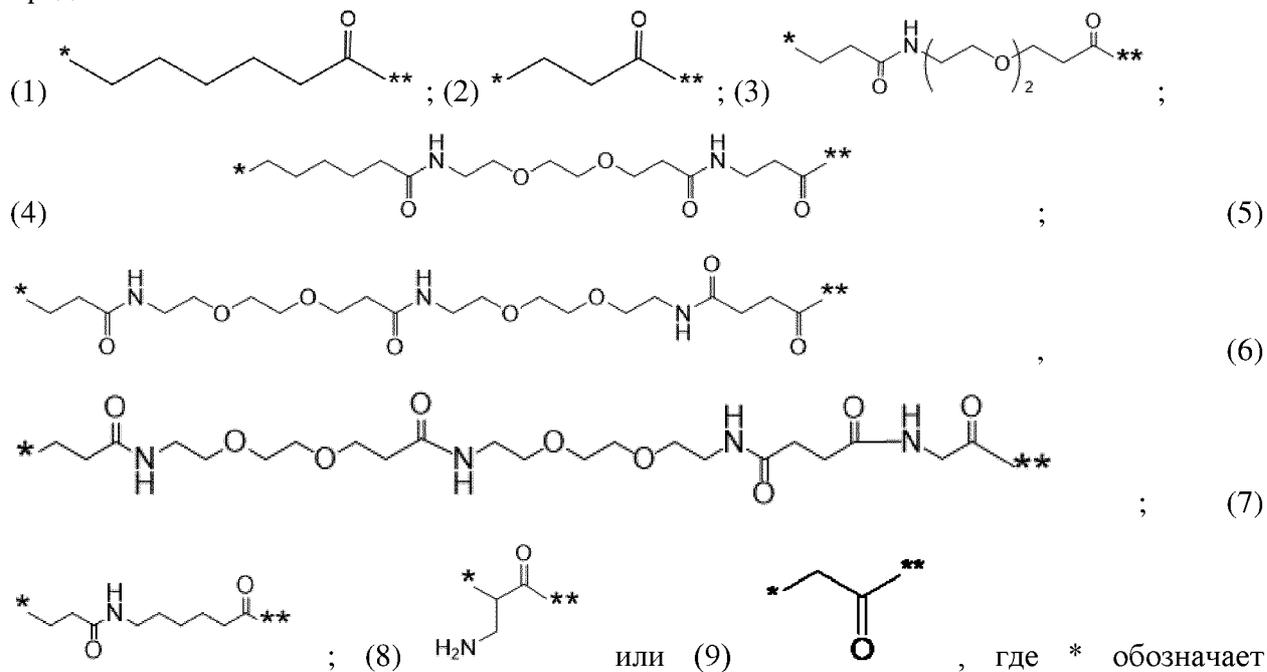
[00262] В некоторых вариантах осуществления R_{17} является необязательно замещенным основным звеном, например, $-(CH_2)_xNH_2$, $-(CH_2)_xNHR^a$ и $-(CH_2)_xN(R^a)_2$, где x представляет собой целое число от 1 до 4 и каждый R^a независимо выбран из C_{1-6} алкила и C_{1-6} галогеналкила, или две группы R^a объединены с азотом, к которому они присоединены с образованием группы азетидинила, пирролидинила или пиперидинила.

[00263] В некоторых вариантах осуществления R_{17} является замещенным основным звеном, 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 C_{1-6} алкила и C_{1-6} галогеналкила, или две группы R^a объединены с азотом, к которому они присоединены с образованием группы азетидинила, пирролидинила или пиперидинила.

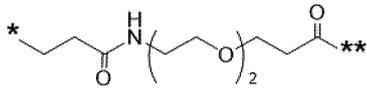
[00264] В некоторых вариантах осуществления R_{17} представляет собой $-C_{2-5}$ алкилен- $C(=O)-$, где алкилен необязательно замещен основным звеном, например, $-(CH_2)_xNH_2$, $-(CH_2)_xNHR^a$ и $-(CH_2)_xN(R^a)_2$, где x и R^a являются такими, как определено в данном документе.

[00265] В некоторых вариантах осуществления R_{17} представляет собой $-C_{2-5}$ алкилен- $C(=O)-$, где алкилен замещен основным звеном, например, $-(CH_2)_xNH_2$, $-(CH_2)_xNHR^a$ и $-(CH_2)_xN(R^a)_2$, где x и R^a являются такими, как определено в данном документе.

[00266] В некоторых вариантах осуществления M^P , если присутствует, представляет собой:

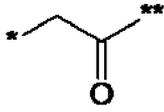


[00267] В некоторых вариантах осуществления M^P , если присутствует, представляет собой:



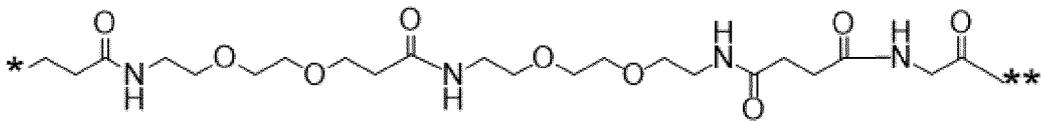
, где * обозначает присоединение к $L^{P'}$ или L^P и ** обозначает присоединение к L^M .

[00268] В некоторых вариантах осуществления M^P , если присутствует, представляет собой:



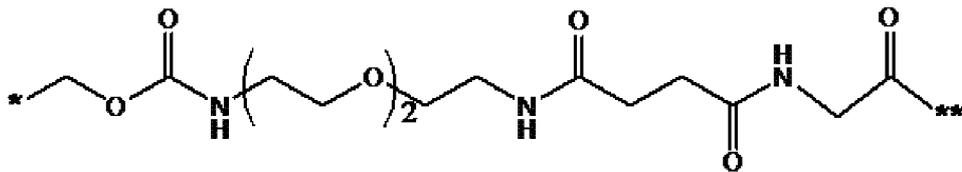
, где * обозначает присоединение к $L^{P'}$ или L^P и ** обозначает присоединение к L^M .

[00269] В некоторых вариантах осуществления M^P , если присутствует, представляет собой:



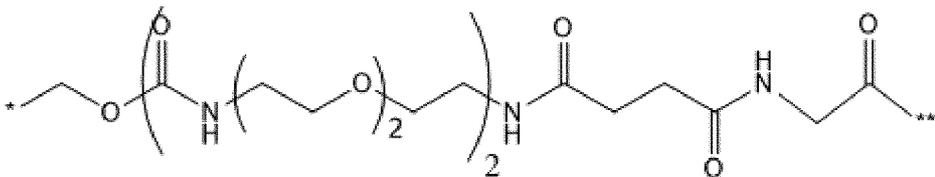
, где * обозначает присоединение к $L^{P'}$ или L^P и ** обозначает присоединение к L^M или M^A .

[00270] В некоторых вариантах осуществления M^P , если присутствует, представляет собой:



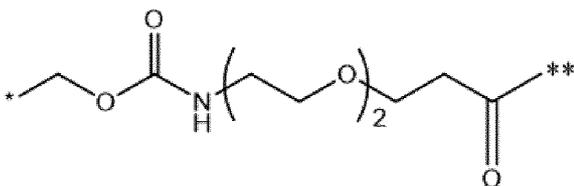
, где * обозначает присоединение к $L^{P'}$ или L^P и ** обозначает присоединение к L^M или M^A .

[00271] В некоторых вариантах осуществления M^P , если присутствует, представляет собой:



, где * обозначает присоединение к $L^{P'}$ или L^P и ** обозначает присоединение к L^M или M^A .

[00272] В некоторых вариантах осуществления M^P , если присутствует, представляет собой:



, где * обозначает присоединение к $L^{P'}$ или L^P и ** обозначает присоединение к L^M или M^A .

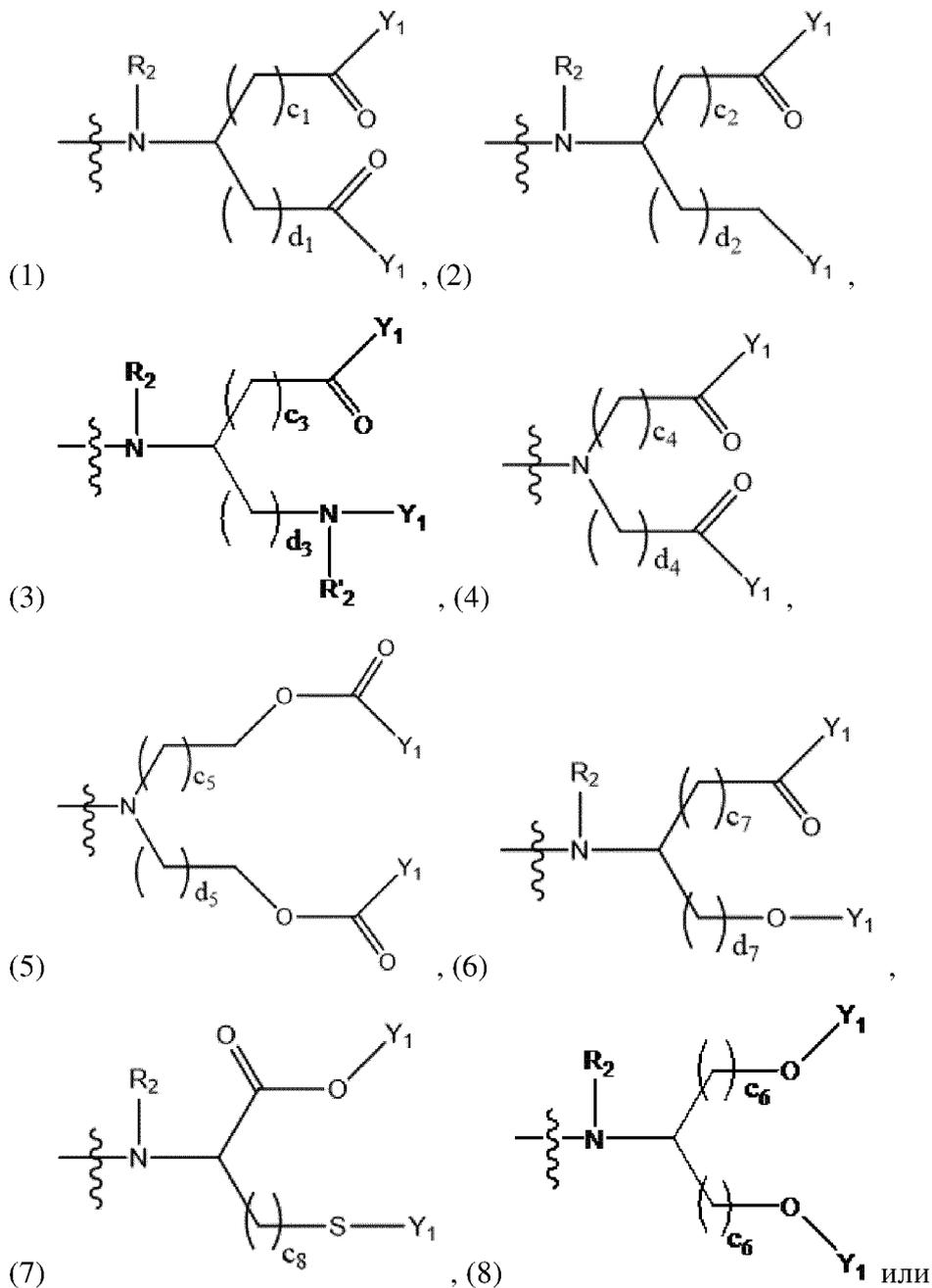
L^M

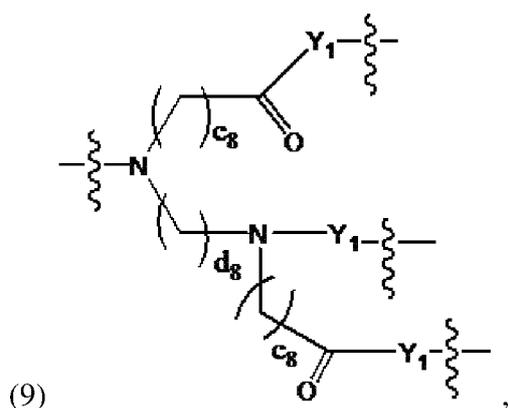
[00273] В некоторых вариантах осуществления L^M представляет собой связь или многоцепочечный линкер (например, трехвалентный, или четырехвалентный, или содержащий 3 или 4 цепи), где каждая цепь может быть одинаковой или отличной.

[00274] В некоторых вариантах осуществления L^M представляет собой связь или многоцепочечный линкер (например, четырехвалентный, или содержащий 4 цепи; или трехвалентный, содержащий 3 цепи), где каждая цепь может быть одинаковой или отличной.

[00275] Известно, что термин «цепь», используемый в данном документе, относится к части L^M , которая (1) присоединена к M^P , если присутствует, или присоединена к L^P или L^P , если M^P отсутствует, или (2) присоединена к L^3 , если присутствует, или присоединена к M^A , если L^3 отсутствует;

[00276] В некоторых вариантах осуществления a_2 равняется 2 и L^M представляет собой





где:

 обозначает присоединение к M^P , если присутствует, или присоединение к L^P или $L^{P'}$, если M^P отсутствует;

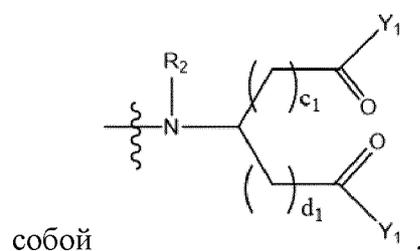
Y_1 обозначает присоединение к L^3 , если присутствует, или присоединение к M^A , если L^3 отсутствует;

каждый R_2 и R'_2 независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_{1-6} алкил, необязательно замещенный C_{2-6} алкенил, необязательно замещенный C_{2-6} алкинил, необязательно замещенный разветвленный C_{3-19} алкил, необязательно замещенный C_{3-8} циклоалкил, необязательно замещенный C_{6-10} арил, необязательно замещенный гетероарил, необязательно замещенный C_{1-6} гетероалкил, C_{1-6} алкокси, арилокси, C_{1-6} гетероалкокси, C_{2-6} алканоил, необязательно замещенный арилкарбонил, C_{2-6} алкоксикарбонил, C_{2-6} алканоилокси, арилкарбонилокси, необязательно замещенный C_{2-6} алканоил, необязательно замещенный C_{2-6} алканоилокси, необязательно замещенный C_{2-6} алканоилокси, $COOH$ или $COO-C_{1-6}$ алкил;

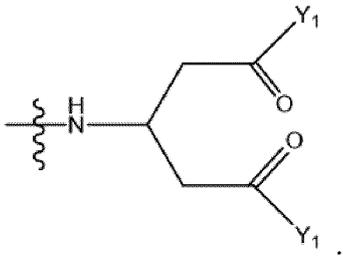
каждый из $c_1, c_2, c_3, c_4, c_5, c_7$ и c_8 представляет собой целое число, независимо находящееся в диапазоне от 0 до 10; и

каждый из d_1, d_2, d_3, d_4, d_5 и d_7 представляет собой целое число, независимо находящееся в диапазоне от 0 до 10.

[00277] В некоторых вариантах осуществления a_2 равняется 2 и L^M представляет



[00278] В некоторых вариантах осуществления a_2 равняется 2 и L^M представляет



собой

[00279] В некоторых вариантах осуществления каждый $c_1, c_2, c_3, c_4, c_5, c_7$ и c_8 независимо равняется 0 или 1.

[00280] В некоторых вариантах осуществления каждый $c_1, c_2, c_3, c_4, c_5, c_7$ и c_8 независимо равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

[00281] В некоторых вариантах осуществления каждый $c_1, c_2, c_3, c_4, c_5, c_7$ и c_8 независимо равняется 0, 1 или 2.

[00282] В некоторых вариантах осуществления каждый $c_1, c_2, c_3, c_4, c_5, c_7$ и c_8 независимо равняется 0. В некоторых вариантах осуществления каждый $c_1, c_2, c_3, c_4, c_5, c_7$ и c_8 независимо равняется 1. В некоторых вариантах осуществления каждый $c_1, c_2, c_3, c_4, c_5, c_7$ и c_8 независимо равняется 2.

[00283] В некоторых вариантах осуществления каждый d_1, d_2, d_3, d_4, d_5 и d_7 независимо равняется 0 или 1.

[00284] В некоторых вариантах осуществления каждый d_1, d_2, d_3, d_4, d_5 и d_7 независимо равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

[00285] В некоторых вариантах осуществления каждый d_1, d_2, d_3, d_4, d_5 и d_7 независимо равняется 1, 2, 3 или 4.

[00286] В некоторых вариантах осуществления каждый d_1, d_2, d_3, d_4, d_5 и d_7 независимо равняется 1. В некоторых вариантах осуществления каждый d_1, d_2, d_3, d_4, d_5 и d_7 независимо равняется 2. В некоторых вариантах осуществления каждый d_1, d_2, d_3, d_4, d_5 и d_7 независимо равняется 3. В некоторых вариантах осуществления каждый d_1, d_2, d_3, d_4, d_5 и d_7 независимо равняется 4.

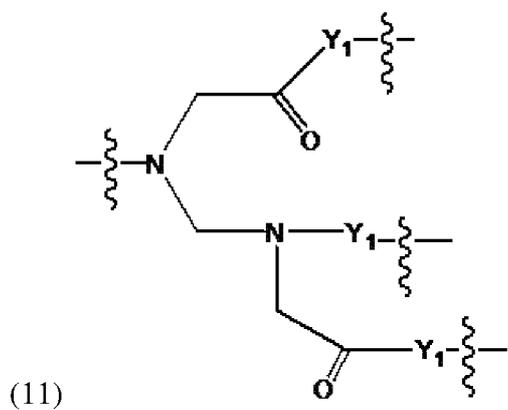
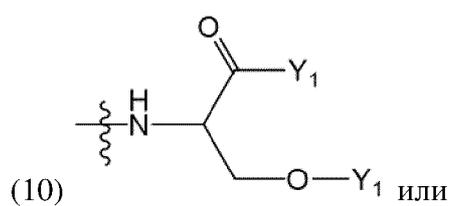
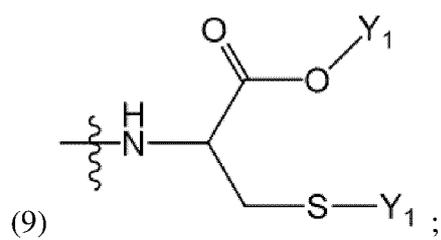
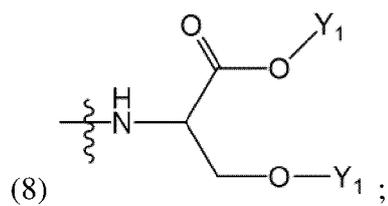
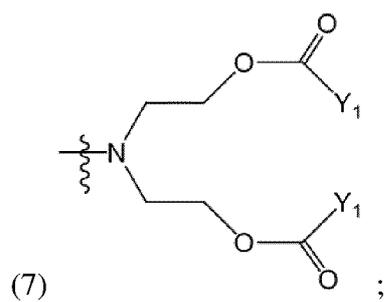
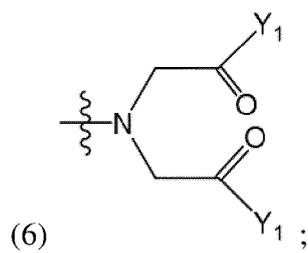
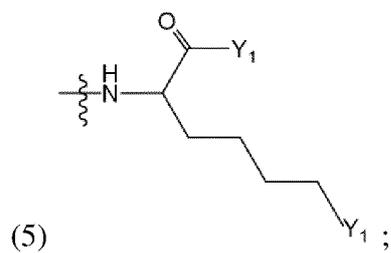
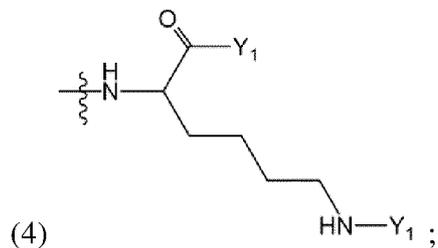
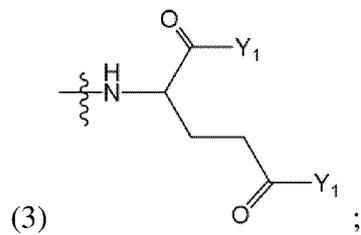
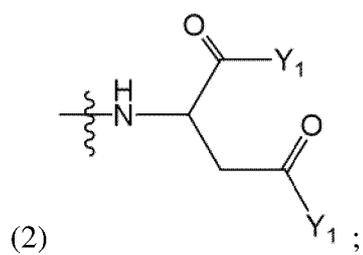
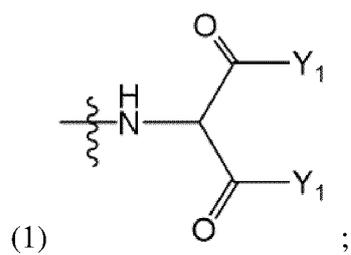
[00287] В некоторых вариантах осуществления каждый R_2 и R'_2 независимо представляет собой водород, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, C_{3-8} циклоалкил, $COOH$ или $COO-C_{1-6}$ алкил;

[00288] В некоторых вариантах осуществления каждый R_2 и R'_2 независимо представляет собой водород или C_{1-6} алкил.

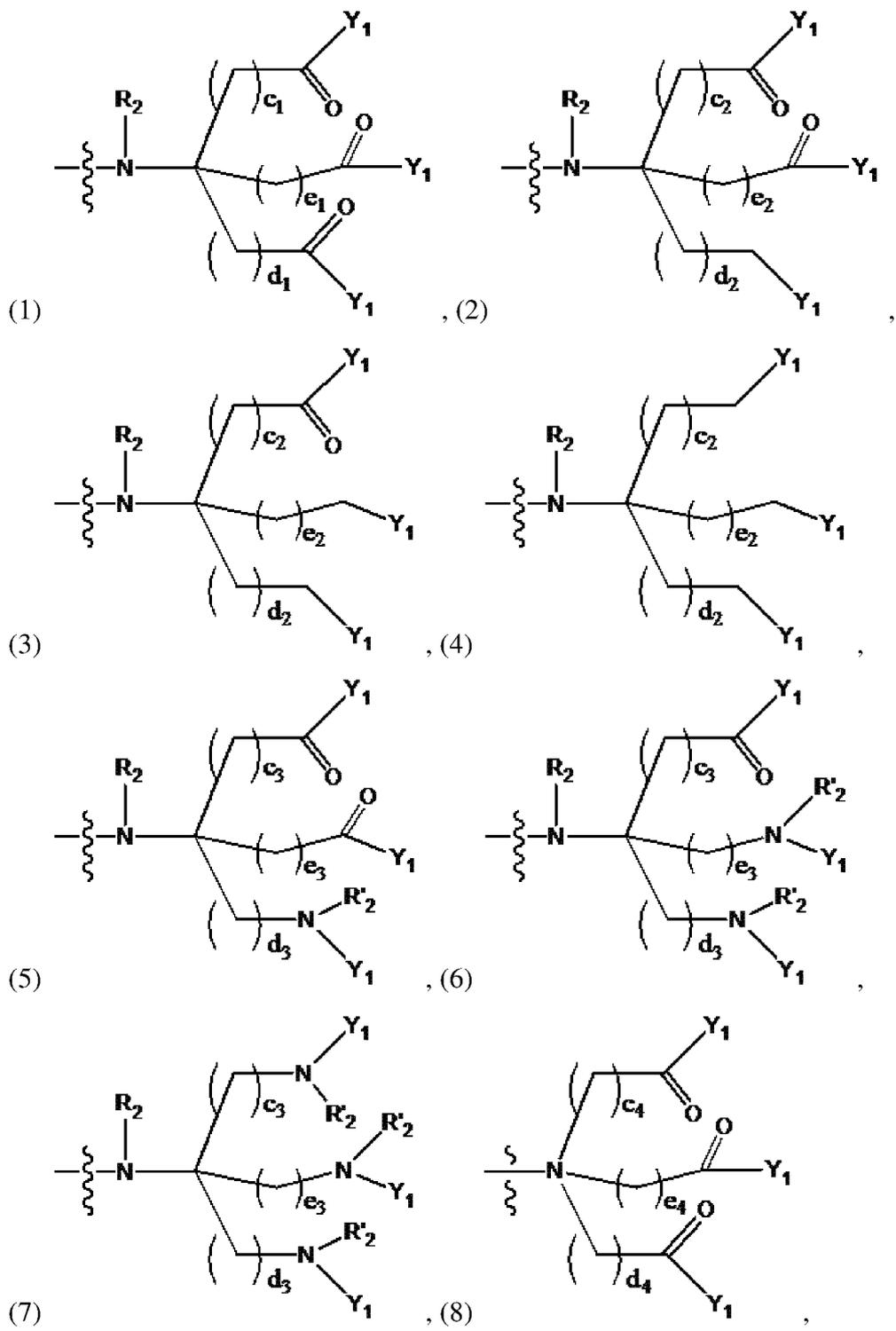
[00289] В некоторых вариантах осуществления каждый R_2 и R'_2 независимо представляет собой водород.

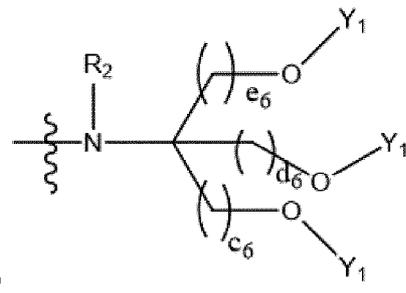
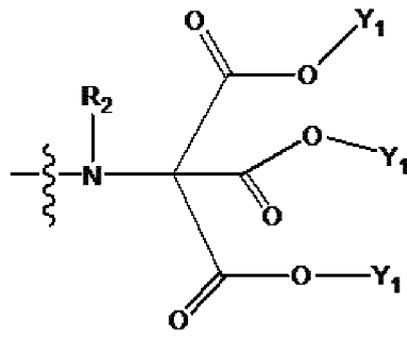
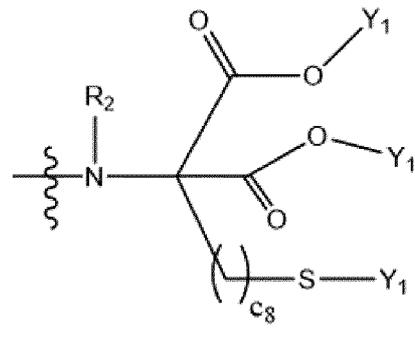
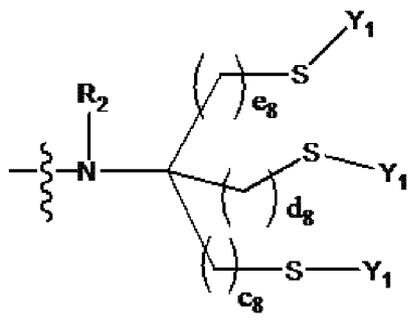
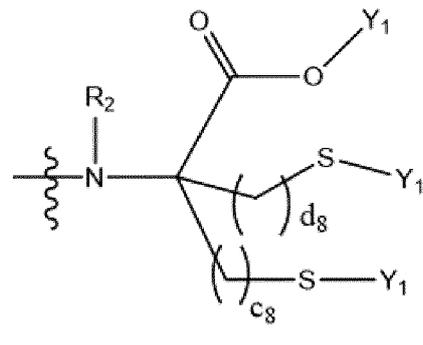
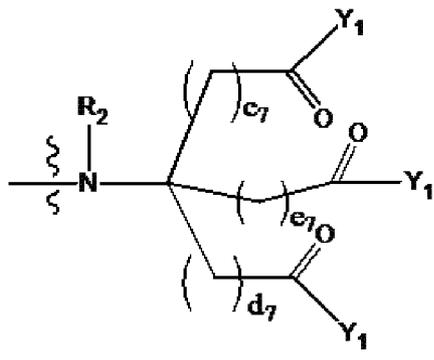
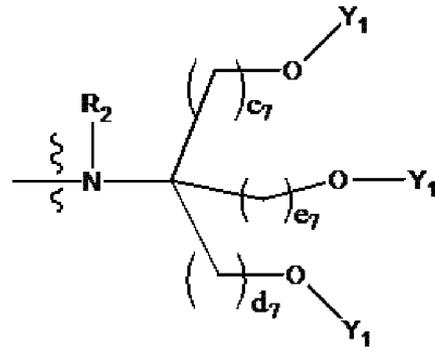
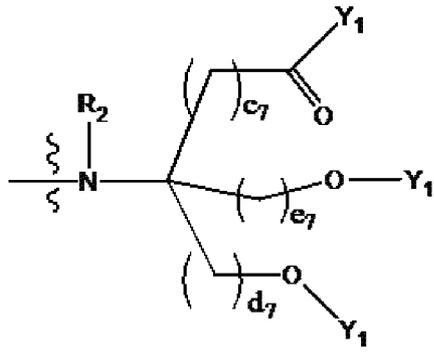
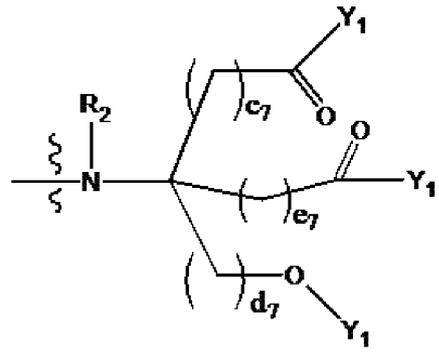
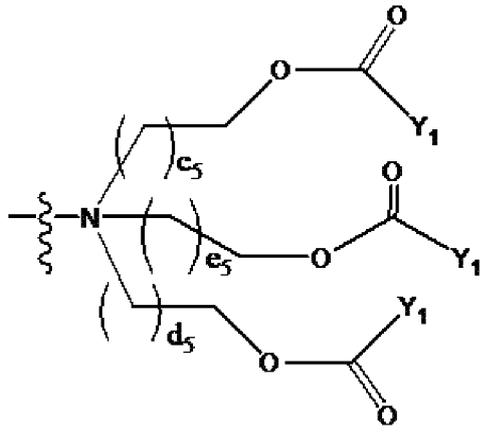
[00290] В некоторых вариантах осуществления каждый R_2 и R'_2 независимо представляет собой C_{1-6} алкил.

[00291] В некоторых вариантах осуществления L^M представляет собой:



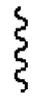
[00292] В некоторых вариантах осуществления a_2 равняется 3 и L^M представляет собой





или (18)

где:

 обозначает присоединение к M^P , если присутствует, или присоединение к L^P или L^P , если M^P отсутствует;

Y_1 обозначает присоединение к L^3 , если присутствует, или присоединение к M^A , если L^3 отсутствует;

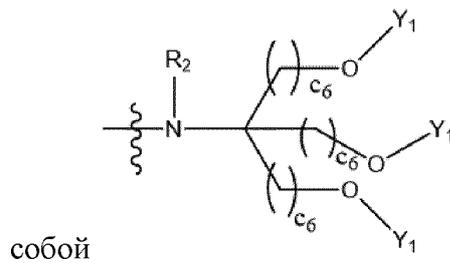
каждый R_2 и R'_2 независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_{1-6} алкил, необязательно замещенный C_{2-6} алкенил, необязательно замещенный C_{2-6} алкинил, необязательно замещенный разветвленный C_{3-19} алкил, необязательно замещенный C_{3-8} циклоалкил, необязательно замещенный C_{6-10} арил, необязательно замещенный гетероарил, необязательно замещенный C_{1-6} гетероалкил, C_{1-6} алкокси, арилокси, C_{1-6} гетероалкокси, C_{2-6} алканоил, необязательно замещенный арилкарбонил, C_{2-6} алкоксикарбонил, C_{2-6} алканоилокси, арилкарбонилокси, необязательно замещенный C_{2-6} алканоил, необязательно замещенный C_{2-6} алканоилокси, необязательно замещенный C_{2-6} алканоилокси, $COOH$ или $COO-C_{1-6}$ алкил;

каждый из $c_1, c_2, c_3, c_4, c_5, c_6, c_7$ и c_8 представляет собой целое число, независимо находящееся в диапазоне от 0 до 10;

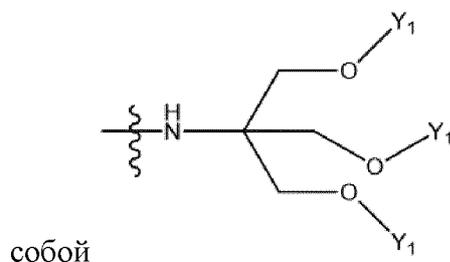
каждый из $d_1, d_2, d_3, d_4, d_5, d_6, d_7$ и d_8 представляет собой целое число, независимо находящееся в диапазоне от 0 до 10; и

каждый из $e_1, e_2, e_3, e_4, e_5, e_6, e_7$ и e_8 представляет собой целое число, независимо находящееся в диапазоне от 0 до 10.

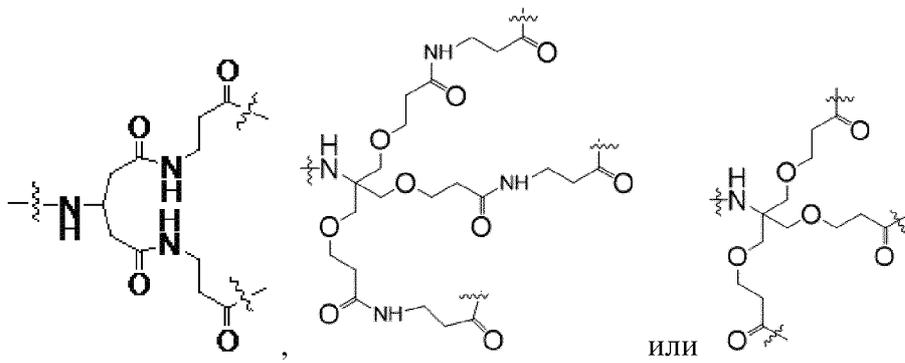
[00293] В некоторых вариантах осуществления a_2 равняется 3 и L^M представляет



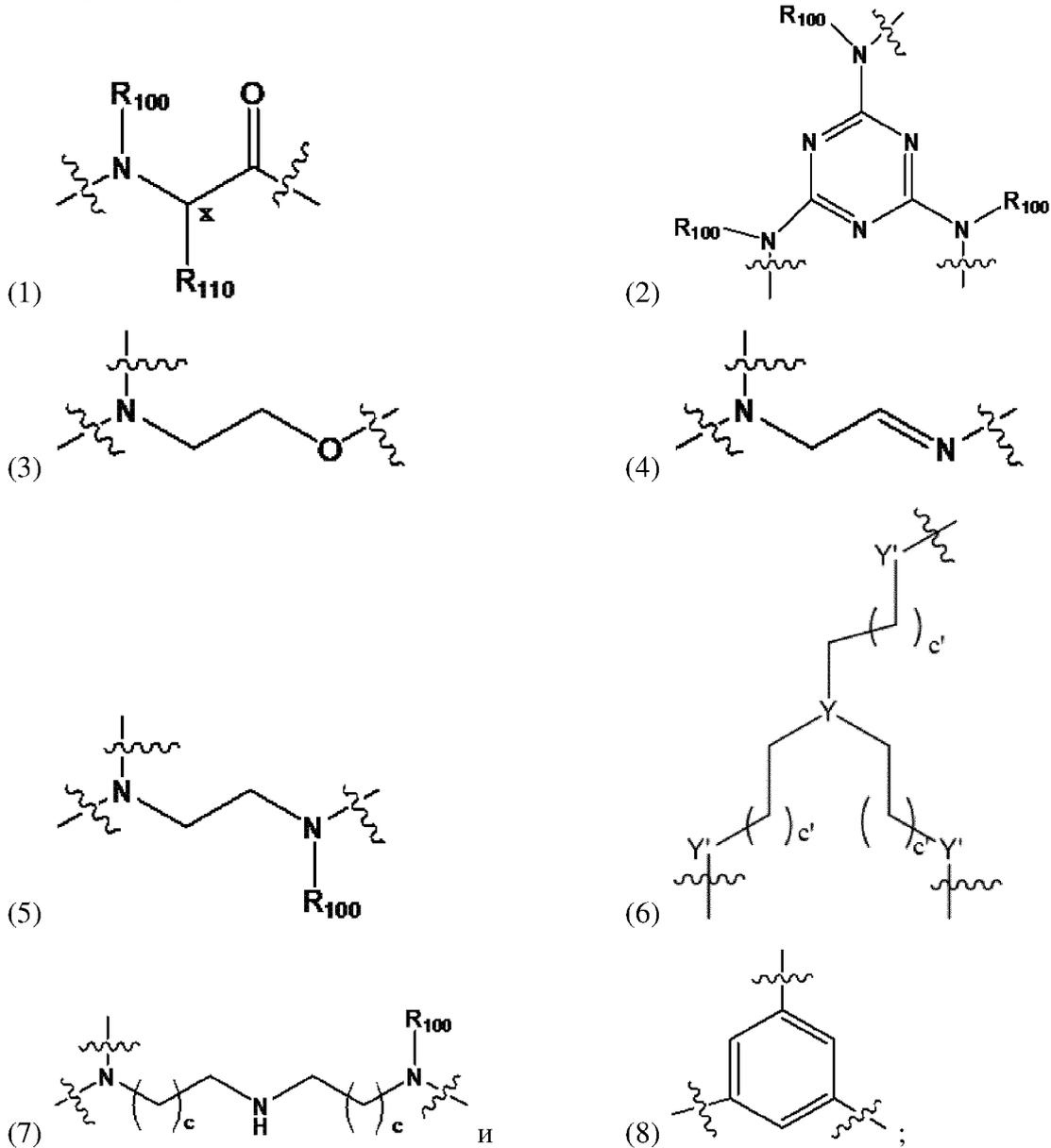
[00294] В некоторых вариантах осуществления a_2 равняется 3 и L^M представляет



[00295] В некоторых вариантах осуществления $-L^M-(L^3)_{a2}-$ представляет собой



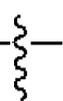
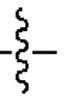
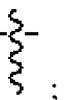
[00296] В некоторых вариантах осуществления a_2 равняется 2 и L^M выбран из



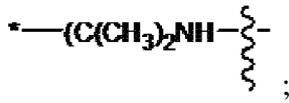
где

обозначает сайты присоединения в пределах конъюгата по настоящему изобретению или его промежуточных соединений;

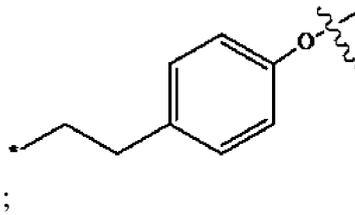
R_{110} представляет собой:

- (1)  ;
- (2) $\ast\text{---CH}_2\text{---CH}_2\text{---COO---}$  ;
- (3) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_4\text{---NHC(=N-NH)CH}_3$  ;
- (4) $\ast\text{---CH}_2\text{O---}$  ;
- (5) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_3\text{---NHC(=NH)NH---}$  ;
- (6) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_{3,4}\text{---NHC(=NO)CH}_3$  ;
- (7) $\ast\text{---CHOCH}_3$  ;
- (8) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_3\text{NH---}$  ;
- (9) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_{3,4}\text{---NHCONH---}$  ;
- (10) $\ast\text{---CH}_2\text{CONH---}$  ;
- (11) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_3\text{---NHC(=N-NH)CH}_3$  ;
- (12) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{NH---}$  ;
- (13) $\ast\text{---CH}_2\text{COO---}$  ;
- (14) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_2\text{CH(O)CH}_2\text{NH}_2$  ;
- (15) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_2\text{CONH---}$  ;
- (16) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_3\text{---NHCH=N-NH---}$  ;
- (17) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_3\text{---NHCH=N-O---}$  ;
- (18) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_4\text{---NHC(=NH)NH---}$  ;
- (19) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_{1,4}\text{NH---}$  ;
- (20) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_{1,4}\text{S---}$  ;
- (21) $\ast\text{---C(CH}_3\text{)}_2\text{S---}$  ;

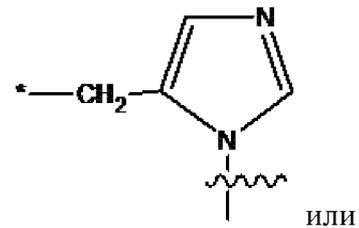
(22)



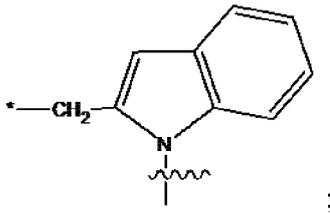
(23)



(24)



(26)



где * обозначает присоединение к углероду, помеченному x, и  обозначает один из трех сайтов присоединения;

R_{100} независимо выбран из водорода и $-C_{1-3}$ -алкила;

Y представляет собой N или CH;

в каждом случае Y' независимо выбран из NH, O или S; и

в каждом случае s' независимо представляет собой целое число от 1 до 10.

[00297] В некоторых вариантах осуществления R_{100} независимо выбран из водорода и CH_3 .

[00298] В некоторых вариантах осуществления R_{100} независимо представляет собой водород.

[00299] В некоторых вариантах осуществления R_{100} независимо представляет собой CH_3 .

[00300] В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой N.

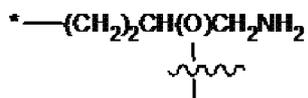
[00301] В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой CH.

[00302] В некоторых вариантах осуществления R_{100} представляет собой H или CH_3 .

[00303] В некоторых вариантах осуществления R_{100} представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления R_{100} представляет собой CH_3 .

[00304] В некоторых вариантах осуществления каждый s' независимо представляет собой целое число от 1 до 3.

[00305] В некоторых вариантах осуществления R_{110} не представляет собой

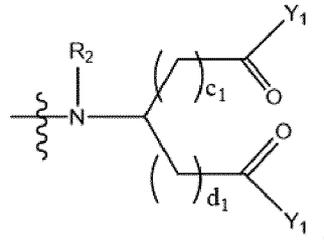


[00306] В некоторых вариантах осуществления, где звено AA содержит два сайта

присоединения (т. е. концевое звено, представляющее собой лекарственное средство), один из сайтов присоединения, показанных выше, может быть замещен, например, H, OH или незамещенной C₁₋₃-алкильной группой.

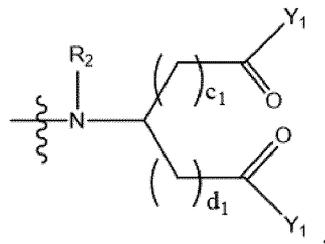
[00307] В некоторых вариантах осуществления, если L^M представляет собой многоцепочечный линкер и еще не присоединен ко вставочному звену M^P, W^M представляет собой конец L^M и в каждом случае W^M независимо представляет собой водород, защитную группу, уходящую группу или функциональную группу, которая обладает способностью присоединять L^M к M^P посредством образования ковалентной связи. В некоторых вариантах осуществления W^M представляет собой защитную аминогруппу. В некоторых вариантах осуществления W^M представляет собой ВОС.

[00308] В некоторых вариантах осуществления W^M представляет собой защитную



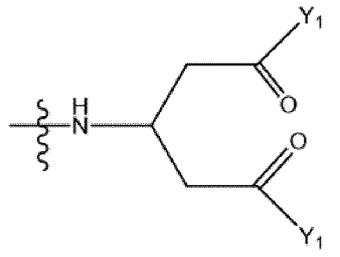
аминогруппу и L^M представляет собой

[00309] В некоторых вариантах осуществления W^M представляет собой ВОС и L^M



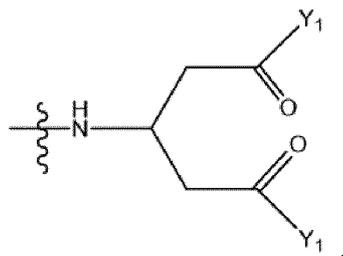
представляет собой

[00310] В некоторых вариантах осуществления W^M представляет собой защитную



аминогруппу и L^M представляет собой

[00311] В некоторых вариантах осуществления W^M представляет собой ВОС и L^M



представляет собой

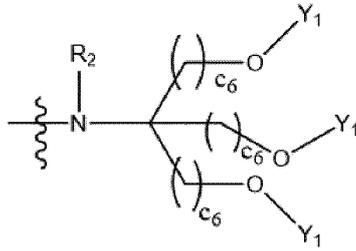
[00312] В некоторых вариантах осуществления W^M содержит аминогруппу, при этом w представляет собой целое число от 1 до 6.

[00313] В некоторых вариантах осуществления W^M содержит -C(O)-(CH₂)_w-NH₂,

при этом w представляет собой целое число от 1 до 6.

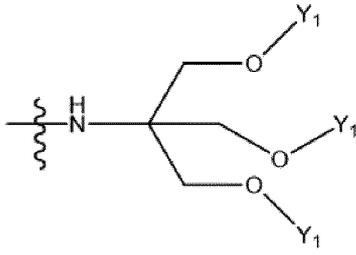
[00314] В некоторых вариантах осуществления W^M представляет собой $-C(O)-CH_2-NH_2$.

[00315] В некоторых вариантах осуществления W^M представляет собой $-C(O)-CH_2-$



NH_2 и L^M представляет собой

[00316] В некоторых вариантах осуществления W^M представляет собой $-C(O)-CH_2-$



NH_2 и L^M представляет собой

[00317] В некоторых вариантах осуществления W^M представляет собой водород.

L^3

[00318] В некоторых вариантах осуществления каждый L^3 , если присутствует, представляет собой карбонилсодержащий фрагмент.

[00319] В некоторых вариантах осуществления каждый L^3 , если присутствует, независимо представляет собой $*-C_{1-12}алкил-C(O)-**$ или $*-NH-C_{1-12}алкил-C(O)-**$, где:

* обозначает присоединение к другому L^3 , если присутствует, или к L^M ; и

** обозначает присоединение к другому L^3 , если присутствует, или к M^A .

[00320] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один L^3 представляет собой $*-C_{1-12}алкил-C(O)-**$, где:

* обозначает присоединение к другому L^3 , если присутствует, или к L^M ; и

** обозначает присоединение к другому L^3 , если присутствует, или к M^A .

[00321] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один L^3 представляет собой $*-CH_2CH_2-C(O)-**$, где:

* обозначает присоединение к другому L^3 , если присутствует, или к L^M ; и

** обозначает присоединение к другому L^3 , если присутствует, или к M^A .

[00322] В некоторых вариантах осуществления $(L^3)_{a3}$ представляет собой $*-CH_2CH_2-C(O)-**$, где:

* обозначает присоединение к L^M ; и

** обозначает присоединение к M^A .

[00323] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один L^3 представляет собой $*-NH-C_{1-12}алкил-C(O)-**$, где:

* обозначает присоединение к другому L^3 , если присутствует, или к L^M ; и

модифицированные таким образом, чтобы они содержали азидную группу или алкиновую группу). В некоторых вариантах осуществления азидная группа или алкиновая группа подлежит присоединению с применением клик-химии.

[00331] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит от 2 до 12 звеньев AA.

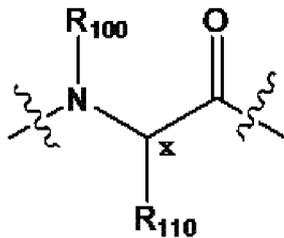
[00332] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит от 2 до 10 звеньев AA.

[00333] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит от 2 до 6 звеньев AA.

[00334] В еще одних некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит 2, 3, 4, 5 или 6 звеньев AA.

[00335] В еще одних некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит 2 звена AA. В еще одних некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит 3 звена AA. В еще одних некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит 4 звена AA. В еще одних некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит 5 звеньев AA. В еще одних некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит 6 звеньев AA.

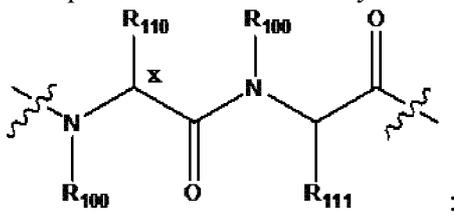
[00336] В некоторых вариантах осуществления звено AA содержит три сайта присоединения (например, для присоединения к L^M , гидрофильной группе или другому звену AA, а также к звену $-L^D-D$). В некоторых вариантах осуществления звено AA имеет формулу, приведенную ниже:



, где  обозначает сайты присоединения в пределах конъюгата по настоящему изобретению или его промежуточных соединений; и R_{100} и R_{110} являются такими, как определено в данном документе.

[00337] В некоторых вариантах осуществления звено AA содержит два сайта присоединения (т. е. концевых звена) и один из сайтов присоединения, показанных выше, может быть замещен, например, H, OH или незамещенной C_{1-3} -алкильной группой.

[00338] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит по меньшей мере два звена AA следующей формулы:

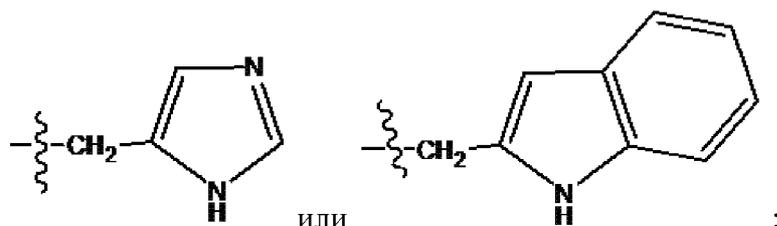
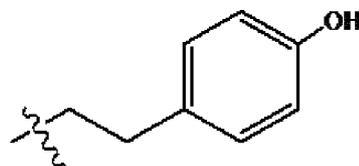


где:

каждый R_{111} независимо представляет собой H, p-гидроксибензил, метил,

изопропил, изобутил, втор-бутил, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{COOH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCH}_3$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCHO}$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCOCH}_3$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCHO}$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NH}_2$, 2-

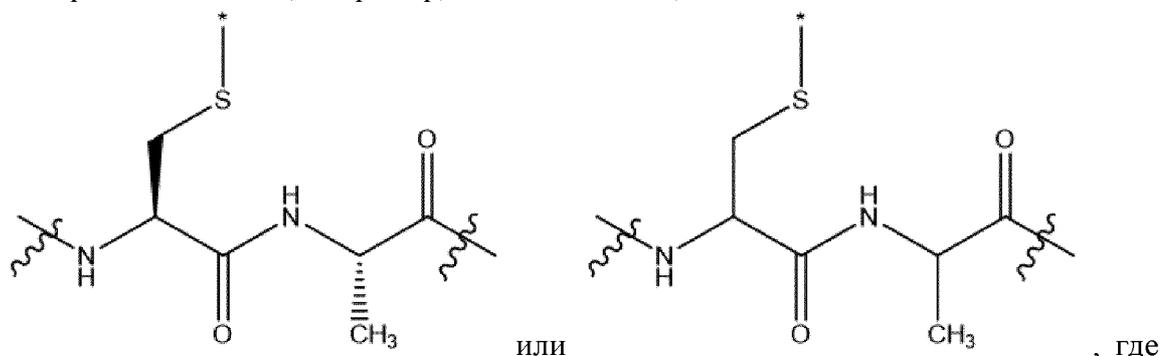
пиридилметил-, 3-пиридилметил-, 4-пиридилметил,



обозначает сайты присоединения в пределах конъюгата или его промежуточных соединений и

R_{100} и R_{110} являются такими, как определено в данном документе.

[00339] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит по меньшей мере два звена AA, например, цистеин-аланин, как показано ниже:



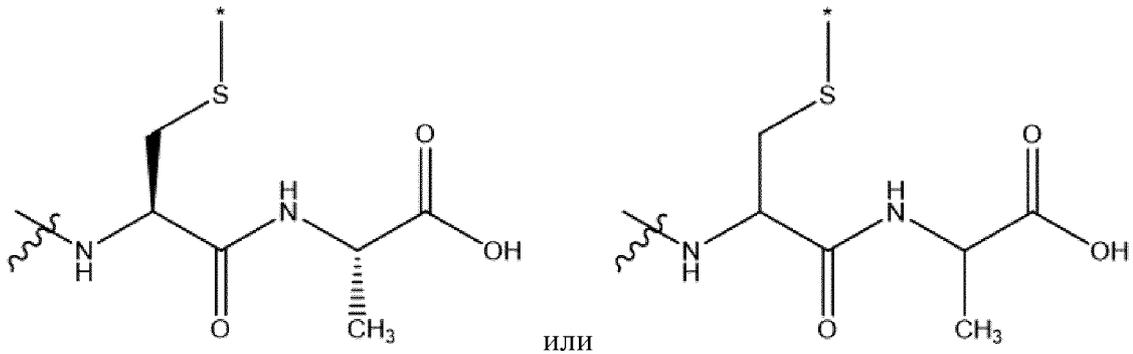
и * обозначают сайты присоединения в пределах конъюгата или его промежуточных соединений. В некоторых вариантах осуществления * обозначает сайт присоединения

звена $-\text{L}^{\text{D}}-\text{D}$ или гидрофильной группы. В некоторых вариантах осуществления рядом с карбонильной группой обозначает сайт присоединения звена $-\text{L}^{\text{D}}-\text{D}$ или гидрофильной

группы. В некоторых вариантах осуществления рядом с аминогруппой обозначает сайт присоединения звена $-\text{L}^{\text{D}}-\text{D}$ или гидрофильной группы. В некоторых вариантах

осуществления один или два из  и * обозначают сайт(сайты) присоединения одного или более звеньев -L^D-D или одной или более гидрофильных групп.

[00340] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит по меньшей мере два звена АА, которые обеспечивают два сайта присоединения, например, цистеин-аланин, как показано ниже:



где  и * обозначают сайты присоединения в пределах конъюгата или его промежуточных соединений. В некоторых вариантах осуществления * обозначает сайт присоединения звена -L^D-D или гидрофильной группы. В некоторых вариантах

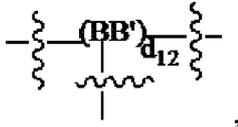
осуществления  обозначает сайт присоединения звена -L^D-D или гидрофильной группы.

[00341] В некоторых вариантах осуществления одно или более звеньев АА (например, аминокислота, аминспирт, альдегид или полиамин) пептидного фрагмента могут быть замещены необязательно замещенным C₁₋₂₀гетероалкиленом (например, необязательно замещенным C₁₋₁₂гетероалкиленом), необязательно замещенным C₃₋₈гетероциклом, необязательно замещенным C₆₋₁₄ариленом или необязательно замещенным C₃₋₈карбоциклом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный гетероалкилен, гетероцикл, арилен или карбоцикл могут содержать одну или более функциональных групп для присоединения в пределах конъюгата или его промежуточных соединений. В некоторых вариантах осуществления подходящие заместители включают без ограничения (=O), -R^{1C}, -R^{1B}, -OR^{1B}, -SR^{1B}, -N(R^{1B})₂, -N(R^{1B})₃, =NR^{1B}, C(R^{1C})₃, CN, OCN, SCN, N=C=O, NCS, NO, NO₂, =N₂, N₃, NR^{1B}C(=O)R^{1B}, -C(=O)R^{1B}, -C(=O)N(R^{1B})₂, SO₃⁻, SO₃H, S(=O)₂R^{1B}, -OS(=O)₂OR^{1B}, -S(=O)₂NR^{1B}, -S(=O)R^{1B}, -OP(=O)(OR^{1B})₂, -P(=O)(OR^{1B})₂, PO₃⁻, PO₃H₂, AsO₂H₂, C(=O)R^{1B}, C(=O)R^{1C}, C(=S)R^{1B}, CO₂R^{1B}, CO₂⁻, C(=S)OR^{1B}, C(=O)SR^{1B}, C(=S)SR^{1B}, C(=O)N(R^{1B})₂, C(=S)N(R^{1B})₂ и C(=NR^{1B})N(R^{1B})₂, где каждый R^{1C} независимо представляет собой галоген (например, -F, -Cl, -Br или -I) и каждый R^{1B} независимо представляет собой -H, C₁₋₂₀алкил, C₆₋₂₀арил, C₃₋₁₄гетероцикл, защитную группу или фрагмент пролекарства.

[00342] В некоторых вариантах осуществления один или более заместителей для

гетероалкилена, гетероцикла, арилена или карбоцикла выбраны из ($=O$), R^{1C} , R^{1B} , OR^{1B} , SR^{1B} и $N(R^{1B})_2$.

[00343] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент может представлять собой фрагмент с прямой цепью или разветвленный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент может представлять собой фрагмент с прямой цепью или разветвленный фрагмент формулы:



где:

каждый BB' независимо представляет собой аминокислоту, необязательно замещенный C_{1-20} гетероалкилен (например, необязательно замещенный C_{1-12} гетероалкилен), необязательно замещенный C_{3-8} гетероцикл, необязательно замещенный C_{6-14} арилен или необязательно замещенный C_3 - C_8 карбоцикл;

d_{12} представляет собой целое число от 1 до 10; и



обозначает ковалентные сайты присоединения в пределах конъюгата или его промежуточного соединения.

[00344] В некоторых вариантах осуществления d_{12} представляет собой целое число от 2 до 10.

[00345] В некоторых вариантах осуществления d_{12} представляет собой целое число от 2 до 6.

[00346] В некоторых вариантах осуществления d_{12} представляет собой целое число, выбранное из 4, 5 или 6.

[00347] В некоторых вариантах осуществления d_{12} представляет собой целое число, выбранное из 5 или 6.

[00348] В некоторых вариантах осуществления d_{12} равняется 4. В некоторых вариантах осуществления d_{12} равняется 5. В некоторых вариантах осуществления d_{12} равняется 6.

[00349] В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный гетероалкилен, гетероцикл, арилен или карбоцикл содержат функциональные группы для присоединения между субъединицами BB' и/или для присоединения в пределах конъюгата или его промежуточных соединений, раскрытых в данном документе.

[00350] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит не более 2 необязательно замещенных C_{1-20} гетероалкиленов, необязательно замещенных C_{3-18} гетероциклов, необязательно замещенных C_{6-14} ариленов или необязательно замещенных C_{3-8} карбоциклов.

[00351] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит 2 необязательно замещенных C_{1-20} гетероалкилена, необязательно замещенных C_3 -

$_{18}$ гетероцикла, необязательно замещенных C_{6-14} арилена или необязательно замещенных C_{3-8} карбоцикла.

[00352] В других вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит не более 1 необязательно замещенного C_{1-20} гетероалкилена, необязательно замещенного C_{3-18} гетероцикла, необязательно замещенного C_{6-14} арилена или необязательно замещенного C_{3-8} карбоцикла.

[00353] В других вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит 1 необязательно замещенный C_{1-20} гетероалкилен, необязательно замещенный C_{3-18} гетероцикл, необязательно замещенный C_{6-14} арилен или необязательно замещенный C_{3-8} карбоцикл.

[00354] В других вариантах осуществления необязательно замещенный гетероалкилен, гетероцикл, арилен или карбоцикло должны содержать функциональные группы для присоединения между субъединицами ВВ' и/или для присоединения в пределах конъюгата или его промежуточных соединений, раскрытых в данном документе.

[00355] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна ВВ' представляет собой аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления аминокислота может представлять собой альфа-, бета- или гамма-аминокислоту, которая может быть природной или не природной. Аминокислота может представлять собой D- или L-изомер.

[00356] В некоторых вариантах осуществления присоединение в пределах пептидного фрагмента или к другим компонентам конъюгата, его промежуточному соединению или каркасу может осуществляться, например, посредством амина, карбокси или других функциональных групп. В некоторых вариантах осуществления присоединение в пределах пептидного фрагмента или к другим компонентам конъюгата может осуществляться, например, посредством амина, карбокси или других функциональных групп. В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислота пептидного фрагмента может независимо представлять собой D- или L-изомер тиолсодержащей аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислота пептидного фрагмента может независимо представлять собой D-изомер тиолсодержащей аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислота пептидного фрагмента может независимо представлять собой L-изомер тиолсодержащей аминокислоты. Тиолсодержащая аминокислота может представлять собой, например, цистеин, гомоцистеин или пеницилламин.

[00357] В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислота, которая содержит пептидный фрагмент, может независимо представлять собой L- или D-изомер следующих аминокислот: аланина (включающего β -аланин), аргинина, аспарагиновой кислоты, аспарагина, цистеина, гистидина, глицина, глутаминовой кислоты, глутамина, фенилаланина, лизина, лейцина, метионина, серина, тирозина, треонина, триптофана, пролина, орнитина, пеницилламина, аминоалкиновой кислоты, аминоалкандиоевой кислоты, гетероциклокарбоновой кислоты, цитруллина, статина, диаминоалкановой кислоты, их стереоизомеров (например, изоаспарагиновой кислоты и изоглутаминовой

кислоты) или их производных.

[00358] В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислота, которая содержит пептидный фрагмент, независимо представляет собой цистеин, гомоцистеин, пеницилламин, орнитин, лизин, серин, треонин, глицин, глутамин, аланин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, селеноцистеин, пролин, глицин, изолейцин, лейцин, метионин, валин, аланин или их стереоизомеры (например, изоаспарагиновую кислоту и изоглутаминовую кислоту).

[00359] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит монопептид, дипептид, трипептид, тетрапептид или пентапептид.

[00360] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит по меньшей мере приблизительно пять аминокислот (например, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот).

[00361] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит не более приблизительно десяти аминокислот.

[00362] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит пентапептид.

[00363] В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислота, которая содержит пептидный фрагмент, независимо представляет собой глицин, серин, глутаминовую кислоту, лизин, аспарагиновую кислоту и цистеин.

[00364] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит по меньшей мере четыре глицина и по меньшей мере один серин, например, (глицин)₄ и серин, где серин находится в любом положении вдоль пептидной цепи, как, например, в (серин)-(глицин)₄; (глицин)-(серин)-(глицин)₃; (глицин)₂-(серин)-(глицин)₂; (глицин)₃-(серин)-(глицин) или (глицин)₄-(серин).

[00365] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (глицин)₄-(серин) или (серин)-(глицин)₄. В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (глицин)₄-(серин). В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (серин)-(глицин)₄.

[00366] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит по меньшей мере четыре глицина и по меньшей мере одну глутаминовую кислоту, например, (глицин)₄ и глутаминовую кислоту, где глутаминовая кислота находится в любом положении вдоль пептидной цепи, как, например, в (глутаминовая кислота)-(глицин)₄; (глицин)-(глутаминовая кислота)-(глицин)₃; (глицин)₂-(глутаминовая кислота)-(глицин)₂; (глицин)₃-(глутаминовая кислота)-(глицин) или (глицин)₄-(глутаминовая кислота).

[00367] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (глутаминовая кислота)-(глицин)₄ или (глицин)₄-(глутаминовая кислота).

[00368] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (β-аланин)-(глицин)₄-(серин), где серин находится в любом положении вдоль пептидной цепи, как, например, в (β-аланин)-(серин)-(глицин)₄; (β-аланин)-(глицин)-(серин)-(глицин)₃; (β-аланин)-(глицин)₂-(серин)-(глицин)₂; (β-аланин)-(глицин)₃-(серин)-(глицин)

или (β-аланин)-(глицин)₄-(серин).

[00369] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (глицин)₄-(серин)-(глутаминовая кислота), где серин находится в любом положении вдоль пептидной цепи, как, например, в (серин)-(глицин)₄-(глутаминовая кислота); (глицин)-(серин)-(глицин)₃-(глутаминовая кислота); (глицин)₂-(серин)-(глицин)₂-(глутаминовая кислота); (глицин)₃-(серин)-(глицин)-(глутаминовая кислота) или (глицин)₄-(серин)-(глутаминовая кислота). В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (β-аланин)-(глицин)₄-(серин)-(глутаминовая кислота), где серин находится в любом положении вдоль пептидной цепи, как, например, в (β-аланин)-(серин)-(глицин)₄-(глутаминовая кислота); (β-аланин)-(глицин)-(серин)-(глицин)₃-(глутаминовая кислота); (β-аланин)-(глицин)₂-(серин)-(глицин)₂-(глутаминовая кислота); (β-аланин)-(глицин)₃-(серин)-(глицин)-(глутаминовая кислота) или (β-аланин)-(глицин)₄-(серин)-(глутаминовая кислота).

[00370] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (глицин)₁₋₄-(серин), где:

пептидный фрагмент присоединен к L³, если присутствует, или к L^M, если L³ отсутствует, посредством одного из глицинов;

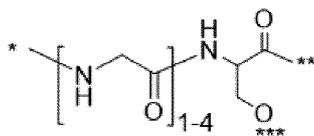
пептидный фрагмент присоединен к T¹, если присутствует, посредством серина; и пептидный фрагмент присоединен к L^D, если присутствует, посредством серина.

[00371] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (глицин)₁₋₄-(серин), где:

пептидный фрагмент присоединен к L³, если присутствует, или к L^M, если L³ отсутствует, посредством серина;

пептидный фрагмент присоединен к T¹, если присутствует, посредством глицина; и пептидный фрагмент присоединен к L^D, если присутствует, посредством серина.

[00372] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит



где:

* обозначает присоединение к L³, если присутствует, или к L^M, если L³ отсутствует;

** обозначает присоединение к T¹, если присутствует, или -ОН, если T¹ отсутствует; и

*** обозначает присоединение к L^D, если присутствует, или -Н, если L^D отсутствует.

[00373] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (глицин)-(серин),

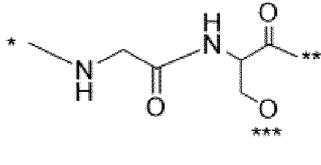
где:

пептидный фрагмент присоединен к L³, если присутствует, или к L^M, если L³

отсутствует, посредством глицина;

пептидный фрагмент присоединен к T^1 , если присутствует, посредством серина; и
пептидный фрагмент присоединен к L^D , если присутствует, посредством серина.

[00374] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит



где:

* обозначает присоединение к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует;

** обозначает присоединение к T^1 , если присутствует, или -ОН, если T^1 отсутствует; и

*** обозначает присоединение к L^D , если присутствует, или -Н, если L^D отсутствует.

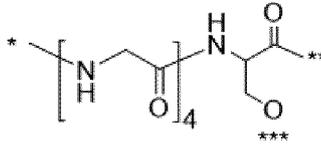
[00375] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (глицин)₄-(серин), где:

пептидный фрагмент присоединен к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует, посредством одного из глицинов;

пептидный фрагмент присоединен к T^1 , если присутствует, посредством серина; и

пептидный фрагмент присоединен к L^D , если присутствует, посредством серина.

[00376] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит



где:

* обозначает присоединение к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует;

** обозначает присоединение к T^1 , если присутствует, или -ОН, если T^1 отсутствует; и

*** обозначает присоединение к L^D , если присутствует, или -Н, если L^D отсутствует.

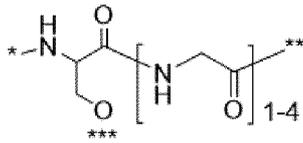
[00377] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (серин)-(глицин)₄, где:

пептидный фрагмент присоединен к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует, посредством серина;

пептидный фрагмент присоединен к T^1 , если присутствует, посредством одного из глицинов; и

пептидный фрагмент присоединен к L^D , если присутствует, посредством серина.

[00378] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит



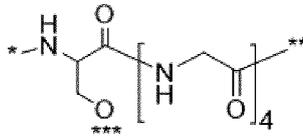
где:

* обозначает присоединение к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует;

** обозначает присоединение к T^1 , если присутствует, или -ОН, если T^1 отсутствует; и

*** обозначает присоединение к L^D , если присутствует, или -Н, если L^D отсутствует.

[00379] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит



где:

* обозначает присоединение к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует;

** обозначает присоединение к T^1 , если присутствует, или -ОН, если T^1 отсутствует; и

*** обозначает присоединение к L^D , если присутствует, или -Н, если L^D отсутствует.

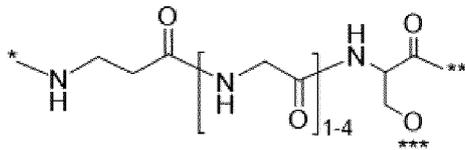
[00380] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (β -аланин)-(глицин)₁₋₄-(серин), где:

пептидный фрагмент присоединен к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует, посредством β -аланина;

пептидный фрагмент присоединен к T^1 , если присутствует, посредством серина; и

пептидный фрагмент присоединен к L^D , если присутствует, посредством серина.

[00381] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит



где:

* обозначает присоединение к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует;

** обозначает присоединение к T^1 , если присутствует, или -ОН, если T^1 отсутствует; и

*** обозначает присоединение к L^D , если присутствует, или -Н, если L^D отсутствует.

[00382] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (β -аланин)-(глицин)₄-(серин),

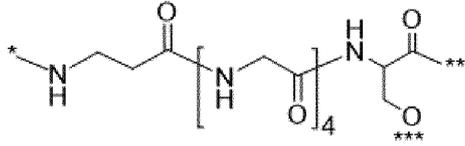
где:

пептидный фрагмент присоединен к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует, посредством β -аланина;

пептидный фрагмент присоединен к T^1 , если присутствует, посредством серина; и

пептидный фрагмент присоединен к L^D , если присутствует, посредством серина.

[00383] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит



где:

* обозначает присоединение к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует;

** обозначает присоединение к T^1 , если присутствует, или -ОН, если T^1 отсутствует; и

*** обозначает присоединение к L^D , если присутствует, или -Н, если L^D отсутствует.

[00384] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (глицин)₁₋₄-(глутаминовая кислота),

где:

пептидный фрагмент присоединен к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует, посредством одного из глицинов;

пептидный фрагмент присоединен к T^1 , если присутствует, посредством глутаминовой кислоты; и

пептидный фрагмент присоединен к L^D , если присутствует, посредством глутаминовой кислоты.

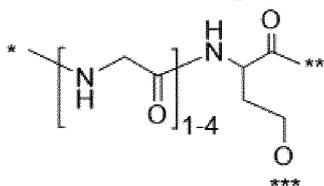
[00385] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (глицин)₁₋₄-(глутаминовая кислота), где:

пептидный фрагмент присоединен к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует, посредством глутаминовой кислоты;

пептидный фрагмент присоединен к T^1 , если присутствует, посредством глицина; и

пептидный фрагмент присоединен к L^D , если присутствует, посредством глутаминовой кислоты.

[00386] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит



где:

* обозначает присоединение к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует;

** обозначает присоединение к T^1 , если присутствует, или -ОН, если T^1 отсутствует; и

*** обозначает присоединение к L^D , если присутствует, или -Н, если L^D отсутствует.

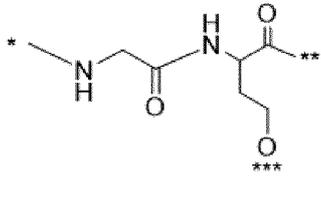
[00387] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (глицин)-(глутаминовая кислота), где:

пептидный фрагмент присоединен к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует, посредством глицина;

пептидный фрагмент присоединен к T^1 , если присутствует, посредством глутаминовой кислоты; и

пептидный фрагмент присоединен к L^D , если присутствует, посредством глутаминовой кислоты.

[00388] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит



где:

* обозначает присоединение к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует;

** обозначает присоединение к T^1 , если присутствует, или -ОН, если T^1 отсутствует; и

*** обозначает присоединение к L^D , если присутствует, или -Н, если L^D отсутствует.

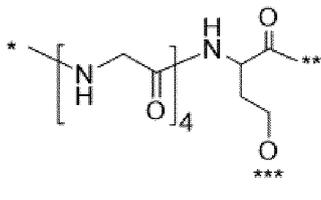
[00389] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (глицин)₄-(глутаминовая кислота), где:

пептидный фрагмент присоединен к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует, посредством одного из глицинов;

пептидный фрагмент присоединен к T^1 , если присутствует, посредством глутаминовой кислоты; и

пептидный фрагмент присоединен к L^D , если присутствует, посредством глутаминовой кислоты.

[00390] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит



где:

* обозначает присоединение к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует;

** обозначает присоединение к T^1 , если присутствует, или -ОН, если T^1

отсутствует; и

*** обозначает присоединение к L^D , если присутствует, или -H, если L^D отсутствует.

[00391] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (глутаминовая кислота)-(глицин)₄,

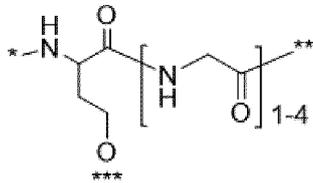
где:

пептидный фрагмент присоединен к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует, посредством глутаминовой кислоты;

пептидный фрагмент присоединен к T^1 , если присутствует, посредством одного из глицинов; и

пептидный фрагмент присоединен к L^D , если присутствует, посредством глутаминовой кислоты.

[00392] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит



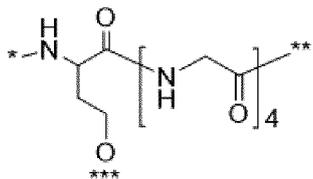
где:

* обозначает присоединение к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует;

** обозначает присоединение к T^1 , если присутствует, или -OH, если T^1 отсутствует; и

*** обозначает присоединение к L^D , если присутствует, или -H, если L^D отсутствует.

[00393] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит



где:

* обозначает присоединение к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует;

** обозначает присоединение к T^1 , если присутствует, или -OH, если T^1 отсутствует; и

*** обозначает присоединение к L^D , если присутствует, или -H, если L^D отсутствует.

[00394] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (β-аланин)-(глицин)₁₋₄-(глутаминовая кислота),

где:

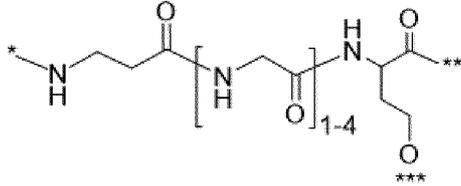
пептидный фрагмент присоединен к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3

отсутствует, посредством β -аланина;

пептидный фрагмент присоединен к T^1 , если присутствует, посредством глутаминовой кислоты; и

пептидный фрагмент присоединен к L^D , если присутствует, посредством глутаминовой кислоты.

[00395] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит



где:

* обозначает присоединение к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует;

** обозначает присоединение к T^1 , если присутствует, или $-OH$, если T^1 отсутствует; и

*** обозначает присоединение к L^D , если присутствует, или $-H$, если L^D отсутствует.

[00396] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит (β -аланин)-(глицин)₄-(глутаминовая кислота),

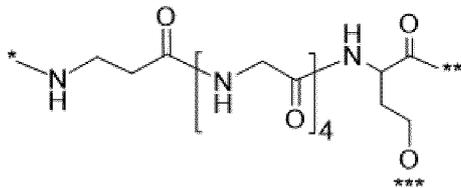
где:

пептидный фрагмент присоединен к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует, посредством β -аланина;

пептидный фрагмент присоединен к T^1 , если присутствует, посредством глутаминовой кислоты; и

пептидный фрагмент присоединен к L^D , если присутствует, посредством глутаминовой кислоты.

[00397] В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент содержит



где:

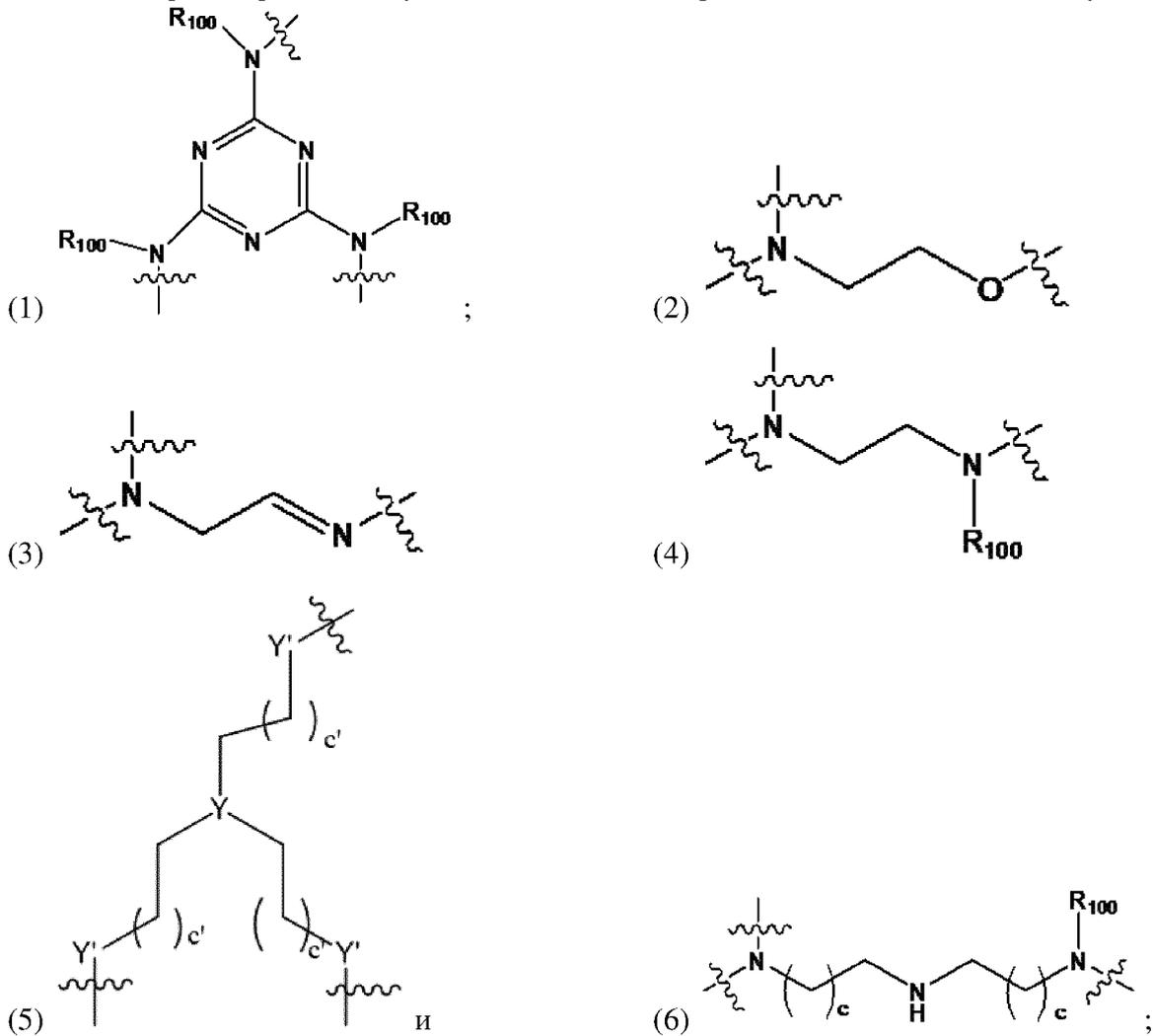
* обозначает присоединение к L^3 , если присутствует, или к L^M , если L^3 отсутствует;

** обозначает присоединение к T^1 , если присутствует, или $-OH$, если T^1 отсутствует; и

*** обозначает присоединение к L^D , если присутствует, или $-H$, если L^D отсутствует.

[00398] В некоторых вариантах осуществления, если по меньшей мере одна из гидрофильных групп (или T^1) представляет собой многоатомный спирт или его

производное (например, многоатомный аминоспирт), глюкозиламин, диглюкозиламин или триглюкозиламин, M^A не должен содержать пептидный фрагмент, например, M^A , содержащий многоцепочечные линкеры, перечисленные в данном документе в отношении L^M . В некоторых вариантах осуществления M^A содержит одно или более из следующего:

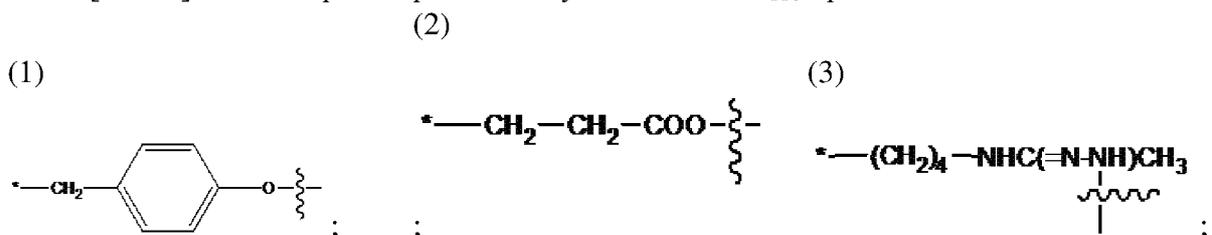


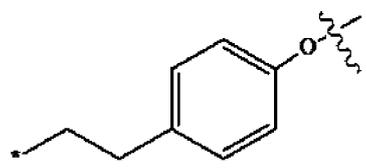
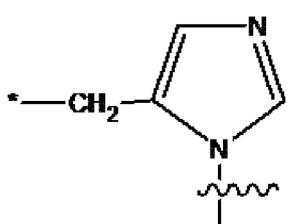
где:



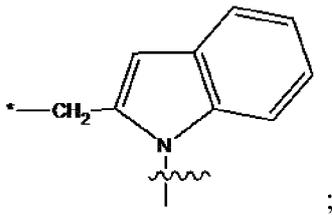
обозначает сайты присоединения в пределах конъюгата по настоящему изобретению или его промежуточных соединений; и R_{100} и R_{110} являются такими, как определено в данном документе.

[00399] В некоторых вариантах осуществления R_{110} представляет собой:



- (4) $\ast\text{---CH}_2\text{O---}$;
- (5) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_3\text{---NHC(=NH)NH---}$;
- (6) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_{3,4}\text{---NHC(=NO)CH}_3$;
- (7) $\ast\text{---CH}_2\text{OCH}_3$;
- (8) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_3\text{NH---}$;
- (9) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_{3,4}\text{---NHCONH---}$;
- (10) $\ast\text{---CH}_2\text{CONH---}$;
- (11) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_3\text{---NHC(=N-NH)CH}_3$;
- (12) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{NH---}$;
- (13) $\ast\text{---CH}_2\text{COO---}$;
- (14) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_2\text{CH(O)CH}_2\text{NH}_2$;
- (15) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_2\text{CONH---}$;
- (16) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_3\text{---NHCH=N-NH---}$;
- (17) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_3\text{---NHCH=N-O---}$;
- (18) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_4\text{---NHC(=NH)NH---}$;
- (19) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_{1,4}\text{NH---}$;
- (20) $\ast\text{---(CH}_2\text{)}_{1,4}\text{S---}$;
- (21) $\ast\text{---(C(CH}_3\text{)}_2\text{)---S---}$;
- (22) $\ast\text{---(C(CH}_3\text{)}_2\text{)---NH---}$;
- (23)  ;
- (24)  ИЛИ

(26)



где * обозначает присоединение к углероду, помеченному x, и  обозначает один из трех сайтов присоединения.

[00400] В некоторых вариантах осуществления R_{100} независимо выбран из водорода и CH_3 .

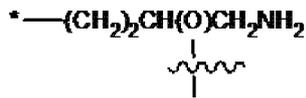
[00401] В некоторых вариантах осуществления R_{100} независимо представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R_{100} независимо представляет собой CH_3 .

[00402] В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой N. В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой CH .

[00403] В некоторых вариантах осуществления R_{100} представляет собой H или CH_3 . В некоторых вариантах осуществления R_{100} представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления R_{100} представляет собой CH_3 .

[00404] В некоторых вариантах осуществления каждый s' независимо представляет собой целое число от 1 до 3.

[00405] В некоторых вариантах осуществления R_{110} не представляет собой



[00406] L^D и W^D в некоторых вариантах осуществления в каждом случае L^D независимо представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, присоединяющий D к M^A , и содержит по меньшей мере одну расщепляемую связь таким образом, чтобы при разрушении связи D высвобождалось в активной форме для обеспечения его предполагаемого терапевтического эффекта.

[00407] В некоторых вариантах осуществления L^D представляет собой компонент звена, обеспечивающего возможность высвобождения. В других вариантах осуществления L^D представляет собой звено, обеспечивающее возможность высвобождения.

[00408] В некоторых вариантах осуществления L^D содержит одну расщепляемую связь.

[00409] В некоторых вариантах осуществления L^D содержит несколько сайтов расщепления или расщепляемых связей.

[00410] В некоторых вариантах осуществления функциональные группы для образования расщепляемой связи могут включать, например, сульфгидрильные группы

для образования дисульфидных связей, альдегидные, кетоновые или гидразиновые группы для образования гидразоновых связей, гидроксиламиногруппы для образования оксимных связей, карбоксильные или аминогруппы для образования пептидных связей, карбоксильные или гидроксильные группы для образования сложноэфирных связей и сахара для образования гликозидных связей. В некоторых вариантах осуществления L^D содержит дисульфидную связь, которая может расщепляться посредством дисульфидного обмена, кислотнеустойчивую связь, которая может расщепляться при кислотном pH, и/или связи, которые могут расщепляться гидролазами (например, пептидазами, эстеразами и глюкуронидазами). В некоторых вариантах осуществления L^D содержит карбаматную связь (т. е. $-O-C(O)-NR-$, где R представляет собой H, или алкил, или т. п.).

[00411] В некоторых вариантах осуществления структура и последовательность расщепляемой связи в L^D могут быть такими, чтобы расщепление связи осуществлялось под воздействием ферментов, присутствующих в сайте-мишени. В других вариантах осуществления расщепляемая связь может расщепляться посредством других механизмов.

[00412] В некоторых вариантах осуществления структура и последовательность расщепляемых связей в L^D могут быть такими, чтобы расщепление связей осуществлялось под воздействием ферментов, присутствующих в сайте-мишени. В других вариантах осуществления расщепляемые связи могут расщепляться посредством других механизмов.

[00413] В некоторых вариантах осуществления расщепляемая(расщепляемые) связь(связи) могут ферментативно расщепляться с помощью одного или более ферментов, включающих опухоль-ассоциированную протеазу, для высвобождения звена, представляющего собой лекарственное средство или D, где конъюгат по настоящему изобретению или его промежуточное соединение или каркас протонируются *in vivo* при высвобождении с получением звена, представляющего собой лекарственное средство или D.

[00414] В некоторых вариантах осуществления L^D может содержать одну или более аминокислот. В некоторых вариантах осуществления, например, каждая аминокислота в L^D может быть природной или неприродной и/или представлять собой D- или L-изомер при условии наличия расщепляемой связи. В некоторых вариантах осуществления L^D содержит альфа-, бета- или гамма-аминокислоту, которая может быть природной или неприродной. В некоторых вариантах осуществления L^D содержит от 1 до 12 (например, от 1 до 6, или от 1 до 4, или от 1 до 3, или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12) аминокислот в непрерывной последовательности.

[00415] В некоторых вариантах осуществления L^D может содержать только природные аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления L^D может содержать только неприродные аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления L^D может содержать природную аминокислоту, связанную с неприродной аминокислотой. В некоторых вариантах осуществления L^D может содержать природную аминокислоту, связанную с D-изомером природной аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления L^D содержит дипептид, такой как -Val-Cit-, -Phe-Lys- или -Val-Ala-.

[00416] В некоторых вариантах осуществления L^D содержит звено, представляющее собой монопептид, дипептид, трипептид, тетрапептид, пентапептид, гексапептид, гептапептид, октапептид, нонапептид, декапептид, ундекапептид или додекапептид.

[00417] В некоторых вариантах осуществления L^D содержит пептид (например, содержащий от 1 до 12 аминокислот), конъюгированный непосредственно со звеном, представляющим собой лекарственное средство. В некоторых таких вариантах осуществления пептид представляет собой одну аминокислоту или дипептид. В некоторых таких вариантах осуществления пептид представляет собой одну аминокислоту. В некоторых таких вариантах осуществления пептид представляет собой дипептид.

[00418] В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислота в L^D независимо выбрана из аланина, β -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, аминокановой кислоты, аминокиново́й кислоты, аминокандиоевой кислоты, аминокбензойной кислоты, аминокетероциклоалкановой кислоты, гетероциклокарбоновой кислоты, цитруллина, статина, диаминокановой кислоты и их производных.

[00419] В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислота независимо выбрана из аланина, β -аланина, аргинина, аспарагиновой кислоты, аспарагина, гистидина, глицина, глутаминовой кислоты, глутамина, фенилаланина, лизина, лейцина, серина, тирозина, треонина, изолейцина, пролина, триптофана, валина, цистеина, метионина, цитруллина и селеноцистеина.

[00420] В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислота независимо выбрана из группы, состоящей из аланина, β -аланина, аргинина, аспарагиновой кислоты, аспарагина, гистидина, глицина, глутаминовой кислоты, глутамина, фенилаланина, лизина, лейцина, серина, тирозина, треонина, изолейцина, пролина, триптофана, валина, цитруллина и их производных.

[00421] В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислота выбрана из протеиногенной или непротеиногенной аминокислот.

[00422] В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислота в L^D может быть независимо выбрана из L- или D-изомеров следующих аминокислот: аланина, β -аланина, аргинина, аспарагиновой кислоты, аспарагина, цистеина, гистидина, глицина, глутаминовой кислоты, глутамина, фенилаланина, лизина, лейцина, метионина, серина, тирозина, треонина, триптофана, пролина, орнитина, пеницилламина, аминокиново́й кислоты, аминокандиоевой кислоты, гетероциклокарбоновой кислоты, цитруллина, статина, диаминокановой кислоты, валина, цитруллина и их производных.

[00423] В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислота в L^D независимо представляет собой цистеин, гомоцистеин, пеницилламин, орнитин, лизин,

серин, треонин, глицин, глутамин, аланин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, селеноцистеин, пролин, глицин, изолейцин, лейцин, метионин, валин, цитруллин или аланин.

[00424] В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислота в L^D независимо выбрана из L-изомеров следующих аминокислот: аланина, β -аланина, аргинина, аспарагиновой кислоты, аспарагина, гистидина, глицина, глутаминовой кислоты, глутамина, фенилаланина, лизина, лейцина, серина, тирозина, треонина, изолейцина, триптофана, цитруллина и валина.

[00425] В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислота в L^D независимо выбрана из D-изомеров следующих аминокислот: аланина, β -аланина, аргинина, аспарагиновой кислоты, аспарагина, гистидина, глицина, глутаминовой кислоты, глутамина, фенилаланина, лизина, лейцина, серина, тирозина, треонина, изолейцина, триптофана, цитруллина и валина.

[00426] В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислота в L^D независимо представляет собой L- или D-изомеры следующих аминокислот: аланина, β -аланина, аргинина, аспарагиновой кислоты, аспарагина, гистидина, глицина, глутаминовой кислоты, глутамина, фенилаланина, лизина, лейцина, серина, тирозина, треонина, изолейцина, триптофана, цитруллина или валина.

[00427] В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислота в L^D представляет собой аланин, β -аланин, глутаминовую кислоту, изоглутаминовую кислоту, изоаспарагиновую кислоту, валин, цитруллин или аспарагиновую кислоту.

[00428] В некоторых вариантах осуществления L^D содержит β -аланин. В некоторых вариантах осуществления L^D содержит (β -аланин)-(аланин). В некоторых вариантах осуществления L^D содержит (β -аланин)-(глутаминовая кислота). В некоторых вариантах осуществления L^D содержит (β -аланин)-(изоглутаминовая кислота). В некоторых вариантах осуществления L^D содержит (β -аланин)-(аспарагиновая кислота). В некоторых вариантах осуществления L^D содержит (β -аланин)-(изоаспарагиновая кислота). В некоторых вариантах осуществления L^D содержит (β -аланин)-(валин). В некоторых вариантах осуществления L^D содержит (β -аланин)-(валин)-(аланин). В некоторых вариантах осуществления L^D содержит (β -аланин)-(аланин)-(аланин). В некоторых вариантах осуществления L^D содержит (β -аланин)-(валин)-(цитруллин).

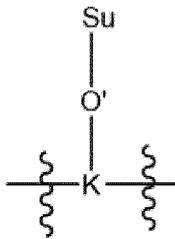
[00429] В некоторых вариантах осуществления L^D содержит карбаматную связь в дополнение к одной или более аминокислотам.

[00430] В некоторых вариантах осуществления L^D может быть разработан и его селективность может быть оптимизирована в отношении ферментативного расщепления с помощью определенного фермента. В некоторых вариантах осуществления определенный фермент представляет собой опухоль-ассоциированную протеазу.

[00431] В некоторых вариантах осуществления L^D содержит связь, расщепление которой катализируется катепсином В, С и D или протеазой, представляющей собой плазмин.

[00432] В некоторых вариантах осуществления L^D содержит сайт расщепления сахара. В некоторых вариантах осуществления L^D содержит сахарный фрагмент (Su), связанный посредством кислородной гликозидной связи с самоотщепляющейся группой. В некоторых вариантах осуществления «самоотщепляющаяся группа» может представлять собой трифункциональный химический фрагмент, который обладает способностью ковалентно связывать вместе три находящихся на расстоянии химических фрагмента (т. е. сахарный фрагмент (посредством гликозидной связи), звено, представляющее собой лекарственное средство (непосредственно или опосредованно), и M^A (непосредственно или опосредованно). В некоторых вариантах осуществления гликозидная связь может быть расщеплена в сайте-мишени с целью инициирования последовательности реакций саморасщепления, которая приводит к высвобождению лекарственного средства.

[00433] В некоторых вариантах осуществления L^D содержит сахарный фрагмент (Su), связанный посредством гликозидной связи ($-O'$) с саморасщепляющейся группой (K) формулы:



, где саморасщепляющаяся группа (K) образует ковалентную связь со звеном, представляющим собой лекарственное средство (непосредственно или опосредованно), а также образует ковалентную связь с M^A (непосредственно или опосредованно). В некоторых вариантах осуществления примеры саморасщепляющихся групп описаны в WO 2015/057699, содержание которой включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[00434] В некоторых вариантах осуществления L^D , если не присоединен или до присоединения к лекарственному средству, содержит функциональную группу W^D . В некоторых вариантах осуществления каждый W^D независимо может представлять собой функциональную группу согласно перечисленным в отношении W^P . В некоторых вариантах осуществления каждый W^D независимо представляет собой

(1)



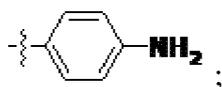
(2)



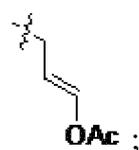
(3)



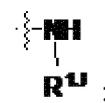
(4)



(5)



(6)



(7)

(8)

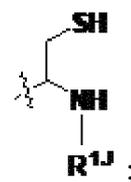
(9)



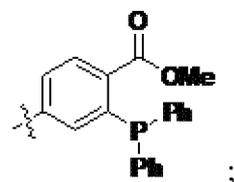
(10)



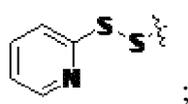
(11)



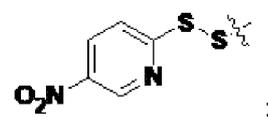
(12)



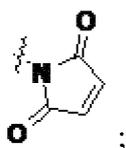
(13)



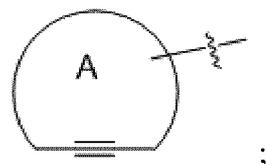
(14)



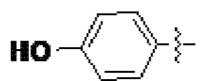
(15)



(16)



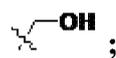
(17)



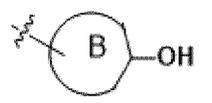
(18)



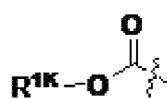
(19)



(20)



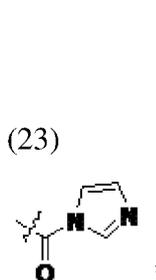
(21)



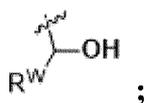
(22)



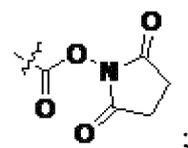
(23)



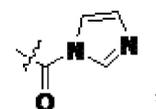
(24)



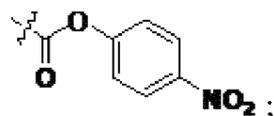
(25)



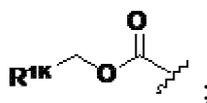
(26)



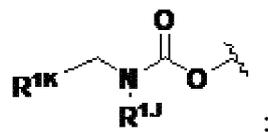
(27)



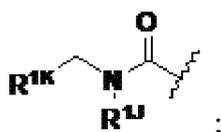
(28)



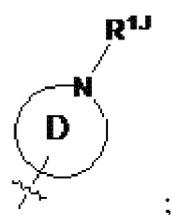
(29)



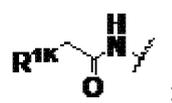
(30)



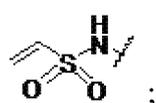
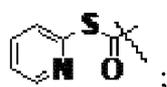
(31)



(32)



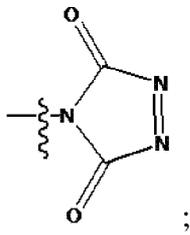
(33)



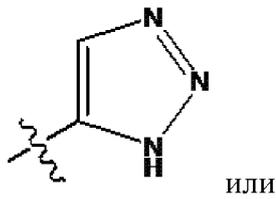
-COOH;

(33)

(34)

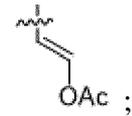
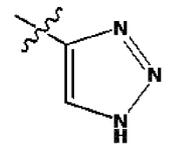


(35)

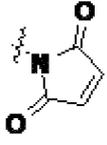


или

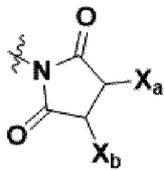
(36)



где R^{1A} представляет собой защитную группу для атома серы, каждое из колец А и В независимо представляет собой циклоалкил или гетероциклоалкил; R^W представляет собой алифатический, гетероалифатический, карбоциклический или гетероциклоалкильный фрагмент; кольцо D представляет собой гетероциклоалкил; R^{1J} представляет собой водород, алифатический, гетероалифатический, карбоциклический или гетероциклоалкильный фрагмент; и R^{1K} представляет собой уходящую группу (например, галогенид или $RC(O)O-$, где R представляет собой водород, алифатический, гетероалифатический, карбоциклический или гетероциклоалкильный фрагмент).

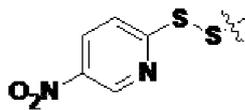
[00435] В некоторых вариантах осуществления W^D представляет собой .

[00436] В некоторых вариантах осуществления W^D представляет собой



, где один из X_a и X_b представляет собой H, и другой представляет собой фрагмент, блокирующий малеимидо.

[00437] В некоторых вариантах осуществления W^D представляет собой



Терапевтические средства, звено, представляющее собой лекарственное средство, или D

[00438] В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой малую молекулу, имеющую молекулярную массу \leq приблизительно 5 кДа. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой малую молекулу, имеющую молекулярную массу \leq приблизительно 4 кДа. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой малую молекулу, имеющую молекулярную массу \leq приблизительно 3 кДа. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой малую молекулу, имеющую

молекулярную массу \leq приблизительно 1,5 кДа. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой малую молекулу, имеющую молекулярную массу \leq приблизительно 1 кДа.

[00439] В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство характеризуется IC_{50} , составляющей приблизительно менее чем 1 нМ. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство характеризуется IC_{50} , составляющей менее чем 1 нМ.

[00440] В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство характеризуется IC_{50} , составляющей приблизительно более чем 1 нМ, например, терапевтическое средство характеризуется IC_{50} , составляющей приблизительно от 1 нМ до 50 нМ.

[00441] В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство характеризуется IC_{50} , составляющей приблизительно более чем 1 нМ. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство характеризуется IC_{50} , составляющей приблизительно от 1 нМ до 50 нМ.

[00442] В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство характеризуется IC_{50} , составляющей более чем 1 нМ, например, терапевтическое средство характеризуется IC_{50} , составляющей от 1 нМ до 50 нМ.

[00443] В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство характеризуется IC_{50} , составляющей более чем 1 нМ. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство характеризуется IC_{50} , составляющей от 1 нМ до 50 нМ.

[00444] В некоторых вариантах осуществления некоторые терапевтические средства, характеризующиеся IC_{50} , составляющей более чем приблизительно 1 нМ (например, «менее сильнодействующие лекарственные средства») являются не подходящими для конъюгации с антителом с применением принятых в данной области техники методик конъюгации. Без ограничения какой-либо конкретной теорией, полагают, что такие терапевтические средства обладают активностью, которая является недостаточной для применения в составе нацеливающихся конъюгатов антитело-лекарственное средство с помощью традиционных методик, так как достаточное количество копий лекарственного средства (т. е. более 8) не может быть конъюгировано с применением принятых в данной области техники методик, не приводя в результате к снижению фармакокинетических и физико-химических свойств конъюгата. Однако достаточно высокая нагрузка данными менее сильнодействующими лекарственными средствами может быть достигнута с помощью стратегий конъюгации, описанных в данном документе, что тем самым приведет к высокой нагрузке терапевтическим средством при одновременном сохранении требуемых фармакокинетических и физико-химических свойств. Таким образом, настоящее изобретение также относится к конъюгату антитело-лекарственное средство, который содержит антитело, каркас и по меньшей мере восемь фрагментов, представляющих собой терапевтическое средство, где

терапевтическое средство характеризуется IC_{50} , составляющей более чем приблизительно 1 нМ.

[00445] Низкомолекулярные терапевтические средства, применяемые в настоящем изобретении (например, антипролиферативные (цитотоксические и цитостатические) средства, обладающие способностью быть присоединенными к нацеливаемому фрагменту посредством линкера(линкеров) по настоящему изобретению) включают цитотоксические соединения (например, широкого спектра), ингибиторы ангиогенеза, ингибиторы развития клеточного цикла, ингибиторы пути PI3K/m-TOR/AKT, ингибиторы сигнального пути MAPK, ингибиторы киназы, ингибиторы шаперонов белков, ингибиторы HDAC, ингибиторы PARP, ингибиторы никотинамидфосфорибозилтрансферазы (NAMPT), тубулизины, иммуномодулирующие соединения, ингибиторы сигнального пути Wnt/Hedgehog и ингибиторы РНК-полимеразы.

[00446] Цитотоксины широкого спектра включают без ограничения лекарственные средства, связывающие, интеркалирующие или алкилирующие ДНК, средства, стабилизирующие и дестабилизирующие микротрубочки, соединения платины, ингибиторы топоизомеразы I и ингибиторы синтеза белка.

[00447] Иллюстративные лекарственные средства, связывающие, интеркалирующие или алкилирующие ДНК, включают CC-1065 и его аналоги, антрациклины (доксорубин, эпирубин, идарубин, даунорубин, неморубин и его производные, PNU-159682), соединения биснафталимида, такие как элинафид (LU79553) и его аналоги, алкилирующие агенты, такие как калихеамицины, дактиномицины, митомицины, пирролобензодиазепины и т. п. Иллюстративные аналоги CC-1065 включают дуокармицин SA, дуокармицин A, дуокармицин C1, дуокармицин C2, дуокармицин B1, дуокармицин B2, дуокармицин D, DU-86, KW-2189, адозелезин, бизелезин, карзелезин, секо-адозелезин и родственные аналоги и формы пролекарств, примеры которых описаны в патентах США №№ 5475092; 5595499; 5846545; 6534660; 6586618; 6756397; и 7049316. Доксорубин и его аналоги включают таковые, описанные в патенте США № 6630579. Калихеамицины включают, например, эндиины, например, эсперамицин и таковые, описанные в патентах США №№ 5714586 и 5739116. Дуокармицины включают таковые, описанные в патентах США №№ 5070092; 5101038; 5187186; 6548530; 6660742 и 7553816 B2; и Li et al., Tet Letts., 50:2932-2935 (2009).

[00448] Пирролобензодиазепины (PBD) и их аналоги включают таковые, описанные в Denny, Exp. Opin. Ther. Patents., 10(4):459-474 (2000) и Antonow и Thurston, Chem Rev., 2815-2864 (2010).

[00449] Иллюстративные средства стабилизирующие и дестабилизирующие микротрубочки, включают соединения таксана, такие как паклитаксел, доцетаксел, тезетаксел и карбазитаксел; майтанзиноиды, ауристатины и их аналоги, производные алкалоида барвинка, эпотилоны и криптофицины.

[00450] Иллюстративные майтанзиноиды или аналоги майтанзиноидов включают майтанзинол и аналоги майтанзинола, майтанзин или DM-1 и DM-4 являются таковыми,

как описано в патентах США №№ 5208020; 5416064; 6333410; 6441163; 6716821; RE39151 и 7276497. В некоторых вариантах осуществления цитотоксическое средство представляет собой *майтанзиноид*, другую группу противотубулиновых средств (ImmunoGen, Inc.; см. также Chari et al., 1992, Cancer Res. 52:127-131), мйтанзиноиды или аналоги *майтанзиноидов*. Примеры подходящих мйтанзиноидов включают мйтанзинол и аналоги мйтанзинола. Подходящие мйтанзиноиды раскрыты в патентах США №№ 4424219; 4256746; 4294757; 4307016; 4313946; 4315929; 4331598; 4361650; 4362663; 4364866; 4450254; 4322348; 4371533; 6333410; 5475092; 5585499; и 5846545.

[00451] Иллюстративные ауристатины включают ауристин Е (также известный как производное доластатина-10), ауристин ЕВ (АЕВ), ауристин ЕFP (АЕFP), монометилауристин Е (ММАЕ), монометилауристин F (ММАF), ауристин F, фенилендиамин ауристина F (AFP), гидроксилпропиламид ауристина F (AF-HPA), гидроксилпропиламид монометилауристина F (ММАF-HPA) и доластатин. Подходящие ауристатины также описаны в публикациях заявок на патент США №№ 2003/0083263, 2011/0020343 и 2011/0070248; публикациях заявок согласно РСТ №№ WO 09/117531, WO 2005/081711, WO 04/010957; WO 02/088172; и WO 01/24763, и патентах США №№ 7498298; 6884869; 6323315; 6239104; 6124431; 6034065 5780588; 5767237; 5665860; 5663149; 5635483; 5599902; 5554725; 5530097; 5521284; 5504191; 5410024; 5138036; 5076973; 4986988; 4978744; 4879278; 4816444; и 4486414, описание которых включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[00452] Иллюстративные алкалоиды барвинка включают винкристин, винбластин, виндезин и навелбин (винорелбин). Подходящие алкалоиды барвинка, которые могут применяться согласно настоящему изобретению, также раскрыты в публикациях заявок на патент США №№ 2002/0103136 и 2010/0305149, и в патенте США № 7303749 В1, описание которых включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[00453] Иллюстративные соединения эпотилона включают эпотилон А, В, С, D, Е и F и их производные. Подходящие соединения эпотилона и их производные описаны, например, в патентах США №№ 6956036; 6989450; 6121029; 6117659; 6096757; 6043372; 5969145 и 5886026; и WO 97/19086; WO 98/08849; WO 98/22461; WO 98/25929; WO 98/38192; WO 99/01124; WO 99/02514; WO 99/03848; WO 99/07692; WO 99/27890; и WO 99/28324; раскрытие которых включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[00454] Иллюстративные соединения криптофицина описаны в патентах США №№ 6680311 и 6747021.

[00455] Иллюстративные соединения платины включают цисплатин (PLATINOL®), карбоплатин (PARAPLATIN®), оксалиплатин (ЕЛОККАТИНЕ®), ипроплатин, ормаплатин и тетраплатин.

[00456] Могут быть выбраны дополнительные другие классы соединений или соединения с такими или другими цитотоксическими механизмами действия ,

включающие, *например*, митомицин С, митомицин А, даунорубицин, доксорубицин, морфолино-доксорубицин, цианоморфолино-доксорубицин, аминоптерин, блеомицин, 1-(хлорметил)-2,3-дигидро-1Н-бензо[е]индол-5-ол, полиамид пирролобензодиазепина (PBD) и их димеры. Другие подходящие цитотоксические средства включают, *например*, пурамицины, топотекан, ризоксин, эхиномицин, комбретастин, нетропсин, эстрамустин, криптофицины, цемадотин, дискодермолид, элеутеробин и митоксантрон.

[00457] Иллюстративные ингибиторы топоизомеразы I включают камптотецин, производные камптотецина, аналоги камптотецина и не встречающиеся в природе камптотецины, такие как, *например*, СРТ-11 (иринотекан), SN-38, GI-147211С, топотекан, 9-аминокамптотецин, 7-гидроксиметилкамптотецин, 7-аминометилкамптотецин, 10-гидроксикамптотецин, (20S)-камптотецин, рубитекан, гиматекан, каренитецин, силатекан, луртотекан, экзатекан, дифломотекан, белотекан, луртотекан и S39625. Другие соединения камптотецина, которые могут применяться согласно настоящему изобретению, включают таковые, описанные, *например*, в J. Med. Chem., 29:2358-2363 (1986); J. Med. Chem., 23:554 (1980); J. Med. Chem., 30:1774 (1987).

[00458] Ингибиторы ангиогенеза включают, но без ограничения, ингибиторы MetAP2, ингибиторы VEGF, ингибиторы PlGF, ингибиторы VEGFR, ингибиторы PDGFR, ингибиторы MetAP2. Иллюстративные ингибиторы VEGFR и PDGFR включают сорафениб (Nexavar), сунитиниб (Sutent) и ваталаниб. Иллюстративные ингибиторы MetAP2 включают аналоги фумагиллола, означающие любое соединение, которое включает сердцевинную структуру фумагиллина, включающее фумагилламин, который подавляет способность MetAP-2 удалять NH₂-концевые метионины из белков, как описано в Rodeschini et al., J. Org. Chem., 69, 357-373, 2004 и Liu, et al., Science 282, 1324-1327, 1998. Неограничивающие примеры «аналогов фумагиллола» раскрыты в J. Org. Chem., 69, 357, 2004; J. Org. Chem., 70, 6870, 2005; заявке на европейский патент 0354787; J. Med. Chem., 49, 5645, 2006; Bioorg. Med. Chem., 11, 5051, 2003; Bioorg. Med. Chem., 14, 91, 2004; Tet. Lett. 40, 4797, 1999; WO 99/61432; патентах США №№ 6603812; 5789405; 5767293; 6566541; и 6207704.

[00459] Иллюстративные ингибиторы прохождения по клеточному циклу включают ингибиторы CDK, такие как, *например*, BMS-387032 и PD0332991; ингибиторы Rho-киназы, такие как, *например*, GSK429286; ингибиторы киназы контрольной точки, такие как, *например*, AZD7762; ингибиторы Аврора-киназы, такие как, *например*, AZD1152, MLN8054 и MLN8237; ингибиторы PLK, такие как, *например*, BI 2536, BI6727 (Volasertib), GSK461364, ON-01910 (Estrymon); и ингибиторы KSP, такие как, *например*, SB 743921, SB 715992 (испинесиб), MK-0731, AZD8477, AZ3146 и ARRY-520.

[00460] Иллюстративные ингибиторы сигнального пути PI3K/m-TOR/AKT включают ингибиторы фосфоинозитид-3-киназы (PI3K), ингибиторы GSK-3, ингибиторы ATM, ингибиторы DNA-PK и ингибиторы PDK-1.

[00461] Иллюстративные ингибиторы киназы PI3 раскрыты в патенте США № 6608053 и включают BEZ235, BGT226, BKM120, CAL101, CAL263, деметоксивиридин,

GDC-0941, GSK615, IC87114, LY294002, паломид 529, перифозин, PI-103, PF-04691502, PX-866, SAR245408, SAR245409, SF1126, вортманнин, XL147 и XL765.

[00462] Иллюстративные ингибиторы АКТ включают без ограничения АТ7867.

[00463] Иллюстративные ингибиторы сигнального пути MAPK включают ингибиторы MEK, Ras, JNK, B-Raf и p38 MAPK.

[00464] Иллюстративные ингибиторы MEK раскрыты в патенте США № 7517994 и включают GDC-0973, GSK1120212, MSC1936369B, AS703026, RO5126766 и RO4987655, PD0325901, AZD6244, AZD 8330 и GDC-0973.

[00465] Иллюстративные ингибиторы B-raf включают CDC-0879, PLX-4032 и SB590885.

[00466] Иллюстративные ингибиторы B p38 MAPK включают BIRB 796, LY2228820 и SB 202190.

[00467] Рецепторные тирозинкиназы (RTK) представляют собой рецепторы клеточной поверхности, которые часто являются ассоциированными с сигнальными путями, стимулирующими неконтролируемую пролиферацию раковых клеток и неоангиогенез. Было идентифицировано много RTK, которые сверхэкспрессируются или содержат мутации, ведущие к конститутивной активации рецептора, включающие без ограничения VEGFR, EGFR, FGFR, PDGFR, EphR и рецепторы семейства рецепторов RET. Иллюстративные конкретные мишени RTK включают ErbB2, FLT-3, c-Kit и c-Met.

[00468] Иллюстративные ингибиторы рецептора ErbB2 (семейство EGFR) включают без ограничения AEE788 (NVP-AEE 788), BIBW2992, (афатиниб), лапатиниб, эрлотиниб (Tarceva) и гефитиниб (Iressa).

[00469] Иллюстративные ингибиторы RTK, нацеливающиеся на более чем один сигнальный путь (многоцелевые ингибиторы киназы) включают AP24534 (понатиниб), который нацеливается на рецепторы FGFR, FLT-3, VEGFR-PDGFR и Bcr-Abl; ABT-869 (линифаниб), который нацеливается на рецепторы FLT-3 и VEGFR-PDGFR; AZD2171, который нацеливается на рецепторы VEGFR-PDGFR, Flt-1 и VEGF; CHR-258 (довитиниб), который нацеливается на рецепторы VEGFR-PDGFR, FGFR, Flt-3 и c-Kit; сунитиниб (Sutent), который нацеливается на VEGFR, PDGFR, KIT, FLT-3 и CSF-IR; сорафениб (Nexavar) и ваталаниб, которые нацеливаются на VEGFR, PDGFR, а также внутриклеточные серин-/треонинкиназы в составе пути Raf/Mek/Erk.

[00470] Иллюстративные ингибиторы шаперонов белка включают ингибиторы HSP90. Иллюстративные ингибиторы HSP90 включают производные 17AAG, ВПВ021, ВПВ028, SNX-5422, NVP-AUY-922 и KW-2478.

[00471] Иллюстративные ингибиторы HDAC включают белинонат (PXD101), CUDC-101, дроксинонат, ИТФ2357 (гивинонат, гавинонат), JNJ-26481585, LAQ824 (NVP-LAQ824, дацинонат), LBH-589 (панобинонат), MC1568, MGCD0103 (моцетинонат), MS-275 (энтинонат), PCI-24781, пироксамид (NSC 696085), SB939, трихостатин А и воринонат (SAHA).

[00472] Иллюстративные ингибиторы PARP включают инипариб (BSI 201),

олапариб (AZD-2281), АВТ-888 (велипариб), AG014699, СЕР 9722, МК 4827, KU-0059436 (AZD2281), LT-673, 3-аминобензамид, А-966492 и AZD2461.

[00473] Иллюстративные ингибиторы NAMPT включают FK866 (APO866) и CHS828, GPP78, GMX1778 (CHS828), STF-118804, STF-31, СВ 300919, СВ 30865, GNE-617, IS001, TP201565, Nampt-IN-1, P7C3, MPC-9528, СВ30865, MPI0479883, и (E)-N-(5-((4-(((2-(1H-индол-3-ил)этил)(изопропил)амино)метил)фенил)амино)пентил)-3-(пиридин-3-ил)акриламид.

[00474] Иллюстративные ингибиторы сигнального пути Wnt/Hedgehog включают висмодегиб (RG3616/GDC-0449), циклопамин (11-дезоксожервин) (ингибиторы пути Hedgehog) и XAV-939 (ингибитор пути Wnt).

[00475] Иллюстративные ингибиторы РНК-полимеразы включают аматоксины. Иллюстративные аматоксины включают α -аманитины, β -аманитины, γ -аманитины, ϵ -аманитины, амануллин, амануллиновую кислоту, аманинамид, аманин и проамануллин.

[00476] Иллюстративные ингибиторы синтеза белка включают соединения трихотецена.

[00477] В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой ингибитор топоизомеразы (такой как, например, не встречающееся в природе соединение камптотецина), алкалоид барвинка, ингибитор киназы (например, ингибитор киназы PI3 (GDC-0941 и PI-103)), ингибитор MEK, ингибитор KSP, ингибитор РНК-полимеразы, ингибитор синтеза белка, ингибитор PARP, ингибитор NAMPT, тубулизины, иммуномодулирующие соединения, доцетаксел, паклитаксел, доксорубицин, дуокармицин, ауристин, доластатин, калихеамицины, топотекан, SN38, камптотецин, экзатекан, неморубицин и его производные, PNU-159682, CC1065, элинафид, трихотецен, пирролобензодиазепины, майтанзиноиды, лекарственные средства, связывающие ДНК, или соединение платины, а также их аналоги. В конкретных вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное SN-38, камптотецин, топотекан, экзатекан, калихеамицин, неморубицин, PNU-159682, антрациклин, майтанзиноид, таксан, трихотецен, CC1065, элинафид, виндезин, винбластин, PI-103, AZD 8330, доластатин, ауристин Е, ауристин F, соединение дуокармицина, испинесиб, пирролобензодиазепин, ARRY-520 и их стереоизомеры, изостеры и аналоги.

[00478] В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное (а) соединения ауристинина; (b) соединения калихеамицина; (c) соединения дуокармицина; (d) SN38, (e) пирролобензодиазепина; (f) соединения, полученного из барвинка; (g) соединения тубулизина; (h) не встречающегося в природе соединения камптотецина; (i) соединения майтанзиноида; (j) лекарственного средства, связывающего ДНК; (k) ингибитора киназы; (l) ингибитора MEK; (m) ингибитора KSP; (n) ингибитора топоизомеразы; (o) лекарственного средства, алкилирующего ДНК; (p) РНК-полимеразы; (q) ингибитора PARP; (r) ингибитора NAMPT; (s) ингибитора топоизомеразы; (t) ингибитора синтеза белка; (u) лекарственного средства, связывающего ДНК; (v) лекарственного средства, интеркалирующего ДНК; или (w)

иммуномодулирующего соединения.

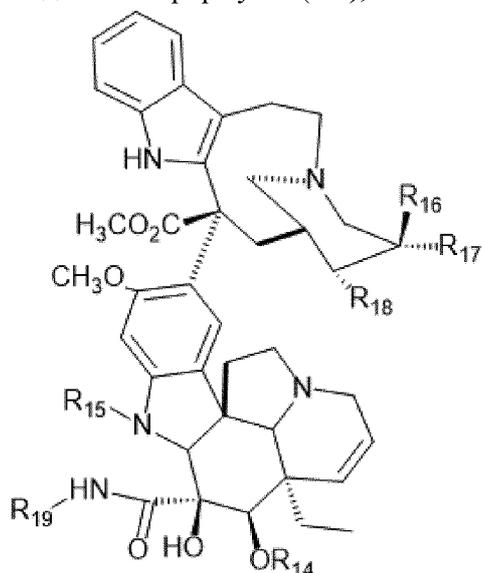
[00479] В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное соединения ауристатина. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное соединения калихеамицина. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное соединения дуокармицин. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное SN38. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное пирролобензодиазепина. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное соединения, полученного из барвинка. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное соединения тубулизина. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное не встречающегося в природе соединения камптотецина. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное соединения майтанзиноида. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное лекарственного средства, связывающего ДНК. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное ингибитора киназы. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное ингибитора MEK. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное ингибитора KSP. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное ингибитора топоизомеразы. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное лекарственного средства, алкилирующего ДНК. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное РНК-полимеразы. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное ингибитора PARP. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное ингибитора NAMPT. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное ингибитора топоизомеразы. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное ингибитора синтеза белка. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное лекарственного средства, связывающего ДНК. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное лекарственного средства, интеркалирующего ДНК. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой производное иммуномодулирующего соединения.

[00480] В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство, применяемое согласно настоящему изобретению, представляет собой комбинацию двух или более лекарственных средств, таких как, например, ингибиторы киназы PI3 и ингибиторы MEK; цитотоксические соединения широкого спектра и соединения платины;

ингибиторы PARP, ингибиторы NAMPT и соединения платины; цитотоксические соединения широкого спектра и ингибиторы PARP.

[00481] В еще одних некоторых вариантах осуществления лекарственное средство применяемое согласно настоящему изобретению, представляет собой ауристин F-гидроксипропиламид-L-аланин.

[00482] В некоторых вариантах осуществления алкалоид барвинка представляет собой соединение формулы (V1),



(V1),

где:

R_{14} представляет собой водород, $-C(O)-C_{1-3}$ алкил или замещенный $-C(O)-$ хлор C_{1-3} алкил;

R_{15} представляет собой водород, $-CH_3$ или $-CHO$;

если R_{17} и R_{18} берут независимо, R_{18} представляет собой водород, и либо R_{16} , либо R_{17} представляет собой этил, и другой представляет собой гидроксил;

если R_{17} и R_{18} берут вместе с атомом углерода, к которому они присоединены с образованием оксиранового кольца, R_{16} представляет собой этил;

R_{19} представляет собой $-H$, OH , аминогруппу, C_{1-8} алкиламино или $-[C(R_{20}R_{21})]_a-R_{22}$;

каждый из R_{20} и R_{21} независимо представляет собой водород, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, гидроксильированный C_{6-10} арил, полигидроксильированный C_{6-10} арил, 5-12-членный гетероцикл, C_{3-8} циклоалкил, гидроксильированный C_{3-8} циклоалкил, полигидроксильированный C_{3-8} циклоалкил или боковую цепь природной или неприродной аминокислоты;

R_{22} представляет собой $-OH$, $-NH_2$, $-COOH$, $-R_{82}-C(O)(CH_2)_c-C(H)(R_{23})-N(H)(R_{23})$, $-R_{82}-C(O)(CH_2)_d-(OCH_2-CH_2)_f-N(H)(R_{23})$ или $-R_{82}-(C(O)-CH(X^2)-NH)_d-R_{77}$;

каждый R_{23} независимо представляет собой водород, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, C_{3-8} циклоалкил, $-COOH$ или $-COO-C_{1-6}$ алкил;

X^2 представляет собой боковую цепь природной или неприродной аминокислоты;

R_{77} представляет собой водород или X^2 и NR_{77} образуют азотсодержащий

гетероциклический фрагмент;

R_{82} представляет собой -NR₂₃ или кислород;

a представляет собой целое число от 1 до 6;

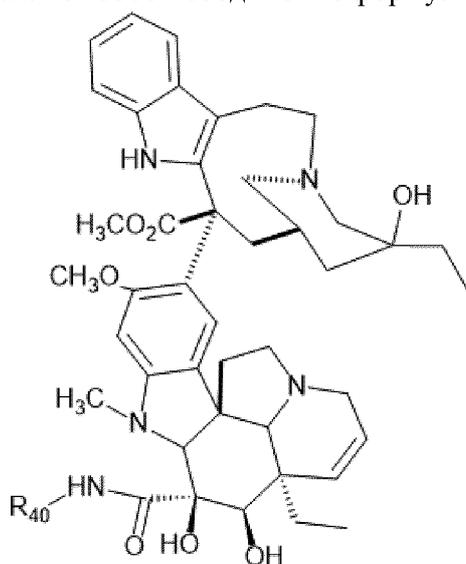
c представляет собой целое число от 0 до 3;

d представляет собой целое число от 1 до 3 и

f представляет собой целое число от 1 до 12.

[00483] Дополнительные примеры алкалоидов барвинка описаны в US8524214B2 и US 2002/0103136.

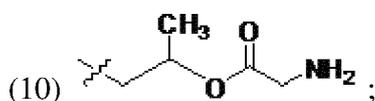
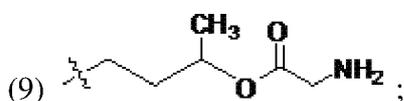
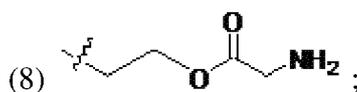
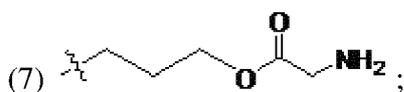
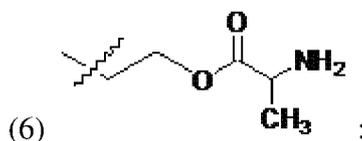
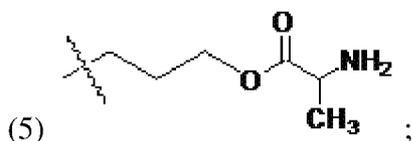
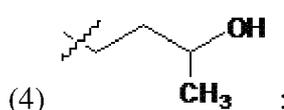
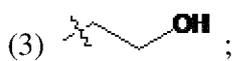
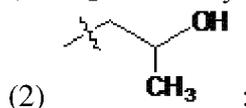
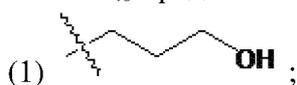
[00484] В некоторых вариантах осуществления алкалоид барвинка формулы (V1) представляет собой соединение формулы (VI1):

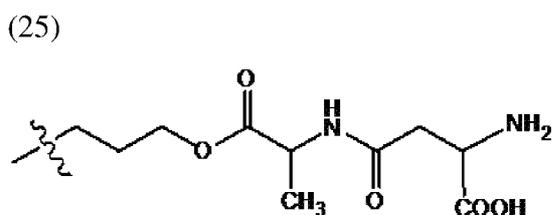
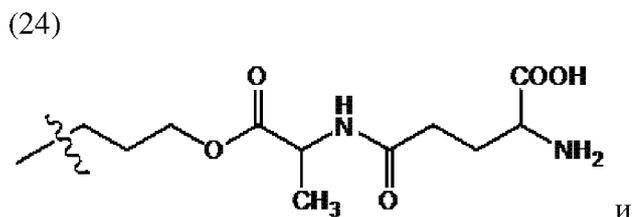
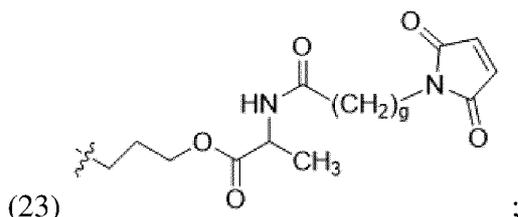
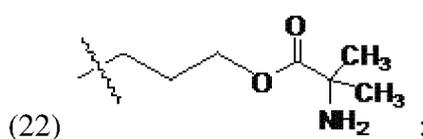
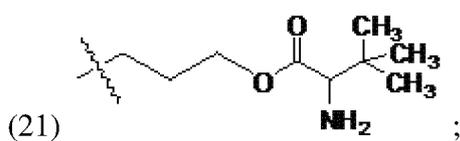
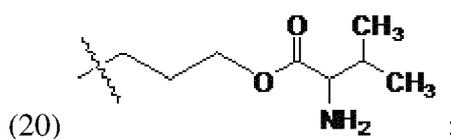
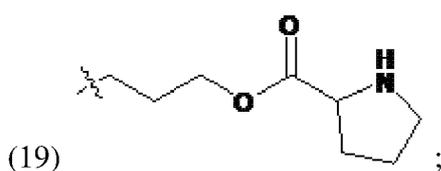
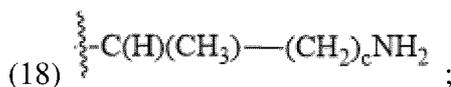
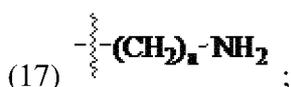
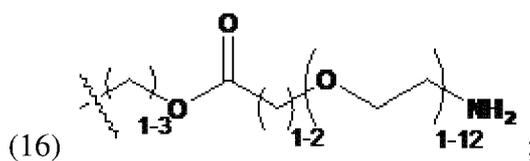
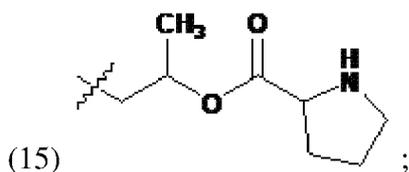
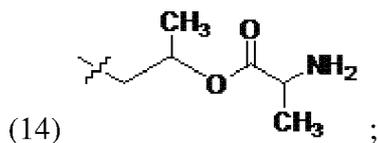
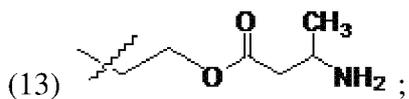
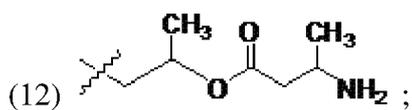
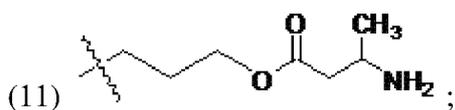


(VI1),

где:

R_{40} представляет собой водород, -OH, -NH₂ или любую из следующих структур:





;

где:

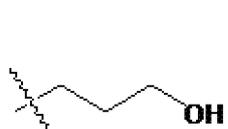
а представляет собой целое число от 1 до 6;

g представляет собой целое число от 2 до 6; и

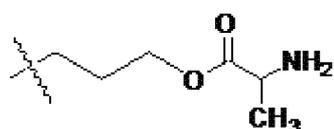
с представляет собой целое число от 0 до 3.

[00485] В некоторых вариантах осуществления в формуле (VII) R₄₀ представляет

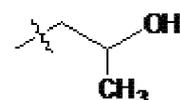
собой



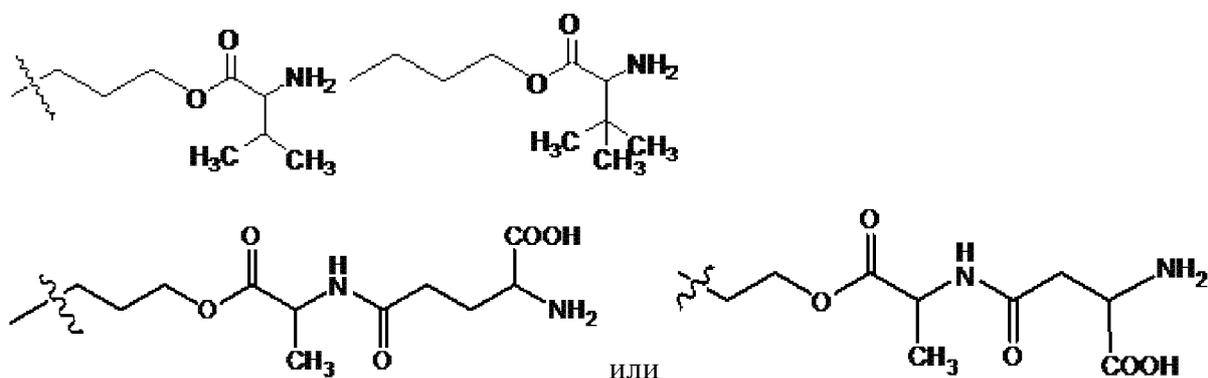
,



,



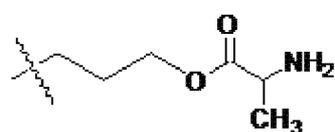
,



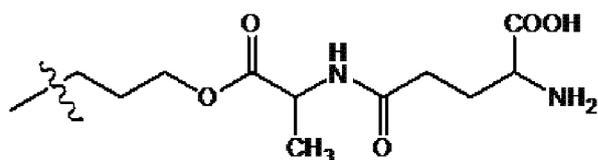
[00486] В некоторых вариантах осуществления R_{40} представляет собой



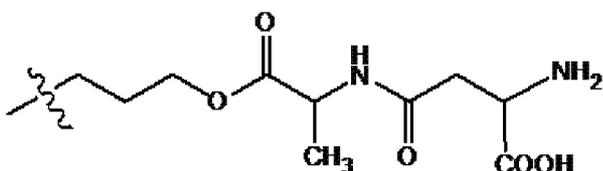
[00487] В некоторых вариантах осуществления R_{40} представляет собой



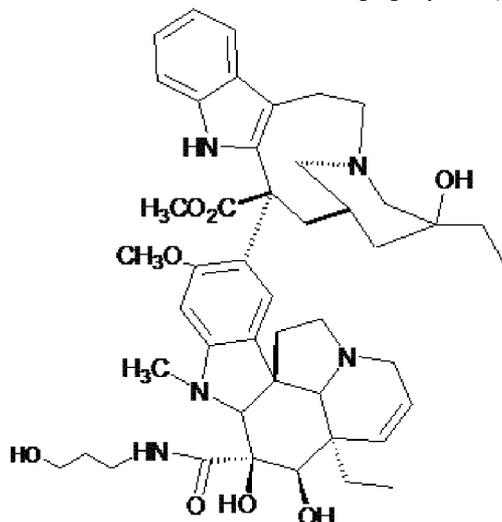
[00488] В некоторых вариантах осуществления R_{40} представляет собой



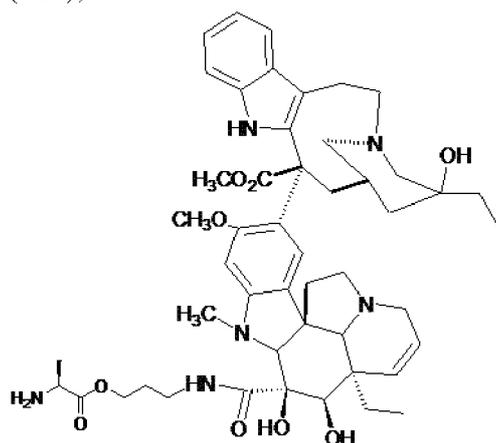
[00489] В некоторых вариантах осуществления R_{40} представляет собой



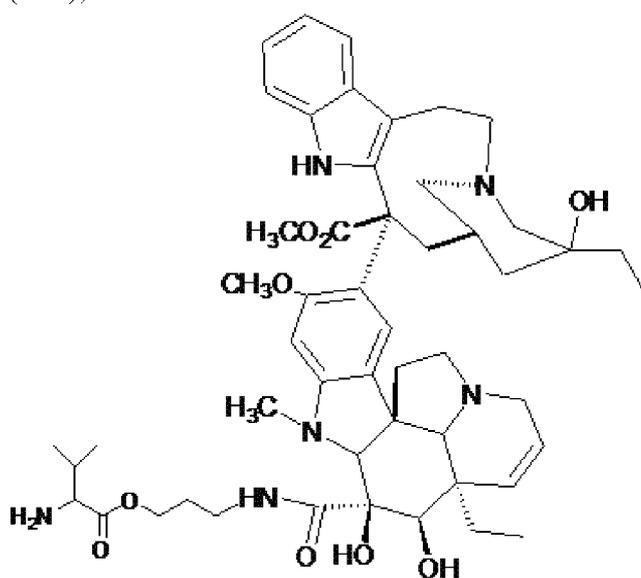
[00490] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (VI1) представляет собой соединение формулы (VIa), (VIb), (VIc), (VIд), (VIe) или (VIf):



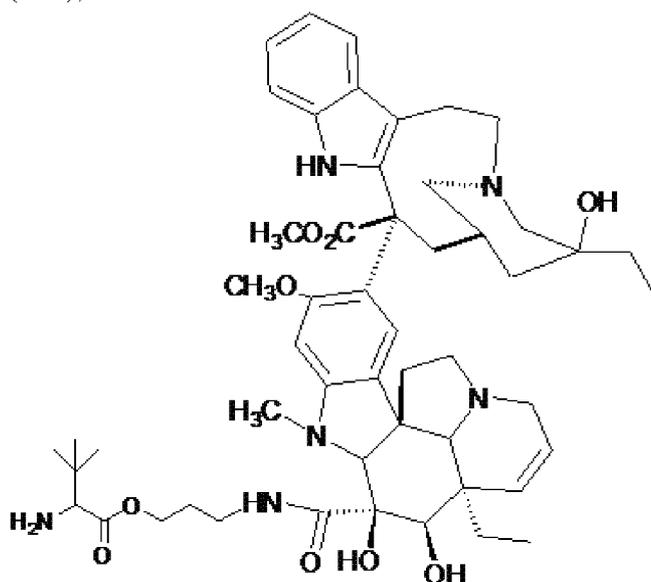
(VIa),



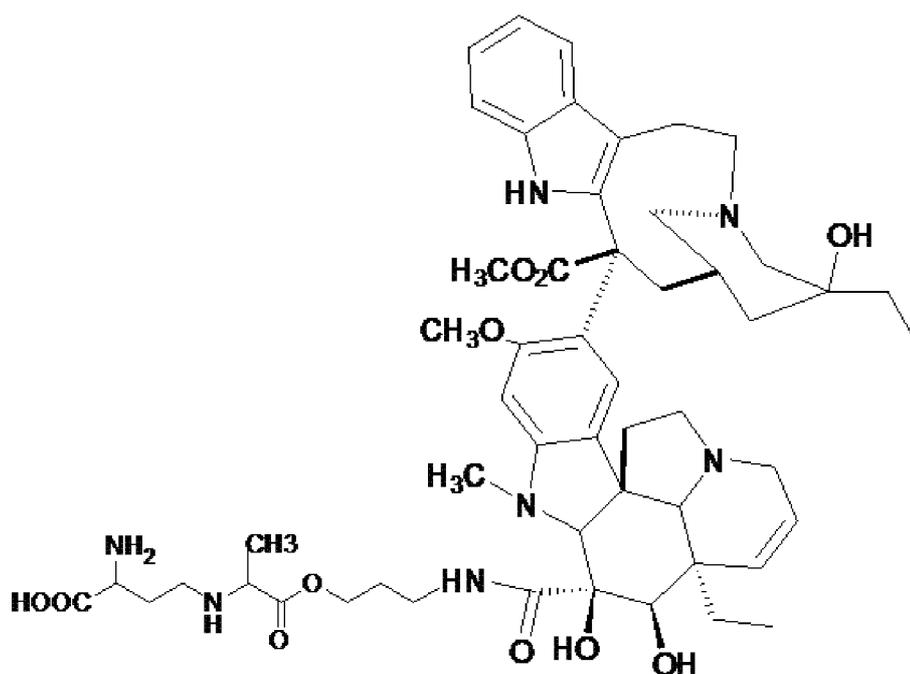
(VIb),



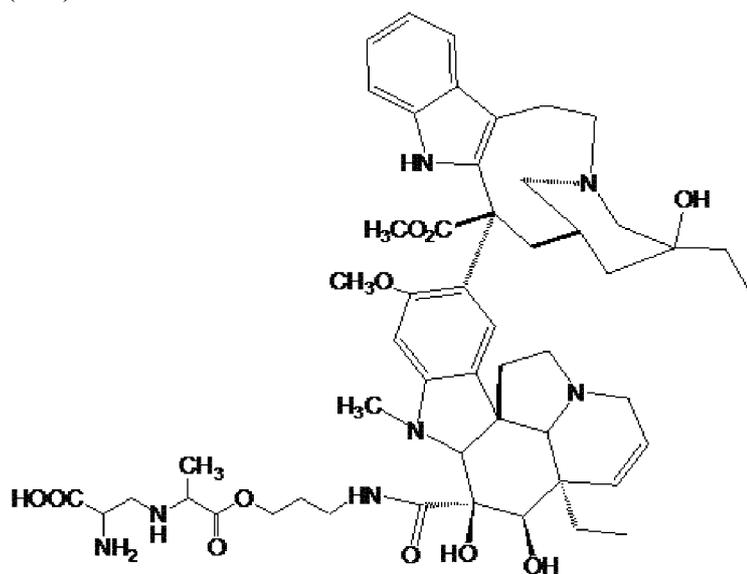
(VIc),



(VIId);

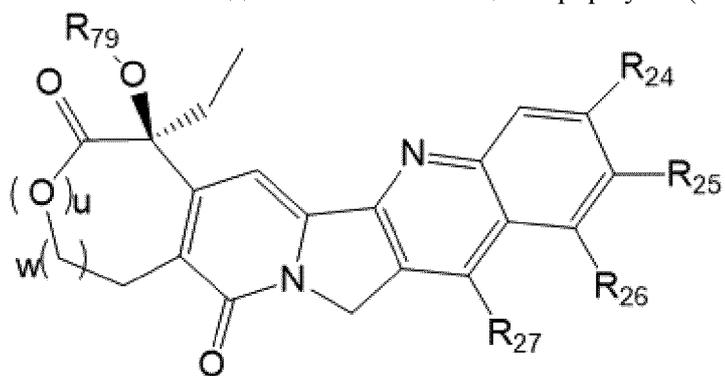


(VIe) или



(VI).

[00491] В некоторых вариантах осуществления ингибитор топоизомеразы представляет собой соединение камптотецина формулы (VIII):



(VIII)

где:

R_{24} представляет собой -H, -Cl, -F, -OH или алкил; или R_{24} и R_{25} могут быть взяты вместе с образованием необязательно замещенного пяти- или шестичленного кольца;

R_{25} представляет собой -H, -F, -OH, -CH₃, -CH=N-O-t-бутил, -CH₂CH₂Si(CH₃)₃, -Si((CH₃)₂)-t-бутил или -O-C(O)- R_{29} ;

R_{29} представляет собой -NH₂, - R_{28} -C₁₋₆алкил- R_{22} , 5-12-членный гетероциклоалкил, R_{28} -C₅₋₁₂гетероциклоалкил-C₁₋₆алкил- R_{22} или - R_{28} -C₁₋₆алкил-C₆₋₁₂арил-C₁₋₆алкил- R_{22} ; или R_{29} представляет собой R_{47} , как определено в данном документе;

R_{26} представляет собой -H, -CH₂-N(CH₃)₂, NH₂ или NO₂;

R_{27} представляет собой -H, этил, N-метилпиперидин, циклоалкил, -CH₂OH, -CH₂CH₂NHCH(CH₃)₂ или -N-4-метилциклогексиламин;

R_{79} представляет собой -H или -C(O)- R_{28} -[C(R_{20} R_{21})]_a- R_{22} ;

каждый из R_{20} и R_{21} независимо представляет собой -H, C₁₋₆алкил, C₆₋₁₀арил, гидроксильированный C₆₋₁₀арил, полигидроксильированный C₆₋₁₀арил, 5-12-членный гетероцикл, C₃₋₈циклоалкил, гидроксильированный C₃₋₈циклоалкил, полигидроксильированный C₃₋₈циклоалкил или боковую цепь природной или неприродной аминокислоты;

R_{22} представляет собой -OH, -NH₂, -COOH, - R_{82} -C(O)(CH₂)_c-C(H)(R_{23})-N(H)(R_{23}), - R_{82} -C(O)(CH₂)_d-(OCH₂-CH₂)_f-N(H)(R_{23}) или - R_{82} -(C(O)-CH(X²)-NH)_d- R_{77} ;

каждый R_{23} независимо представляет собой -H, C₁₋₆алкил, C₆₋₁₀арил, C₃₋₈циклоалкил, -COOH или -COO-C₁₋₆алкил;

X² представляет собой боковую цепь природной или неприродной аминокислоты;

R_{77} представляет собой -H, или X² и NR₇₇ образуют азотсодержащее циклическое соединение;

R_{82} представляет собой -NR₂₃ или кислород;

или R_{26} и R_{27} , взятые вместе с двумя атомами углерода, к которым они присоединены, и третьим атомом углерода, соединяющим два атома углерода, образуют необязательно замещенное шестичленное кольцо;

R_{28} отсутствует, представляет собой NR₂₃ или кислород;

a представляет собой целое число от 1 до 6;

c представляет собой целое число от 0 до 3;

d представляет собой целое число от 1 до 3

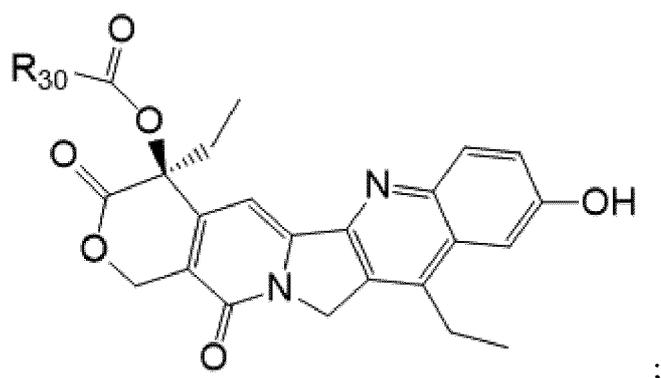
f представляет собой целое число от 1 до 12;

и представляет собой целое число 0 или 1; и

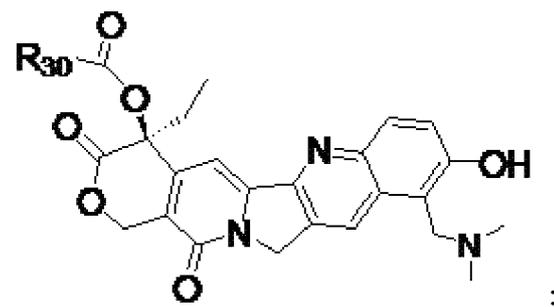
w представляет собой целое число 0 или 1;

при условии, что соединение формулы (VIII) должно содержать по меньшей мере один из R_{29} и R_{79} .

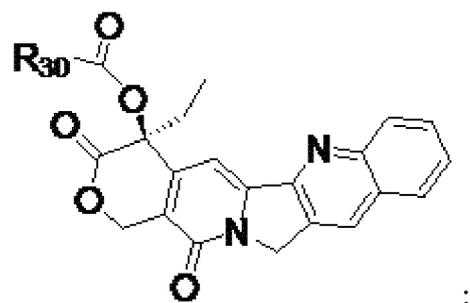
[00492] В некоторых вариантах осуществления соединение камптотецина формулы (VIII) представляет собой соединение формулы (VIII1), (VIIIa) или (VIIIb), или формулы (XXV) или (XXVa):



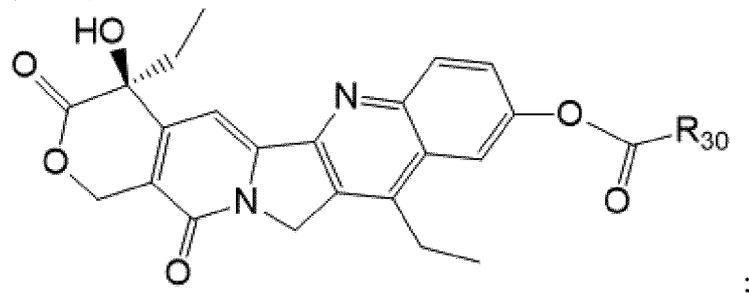
(VIII)



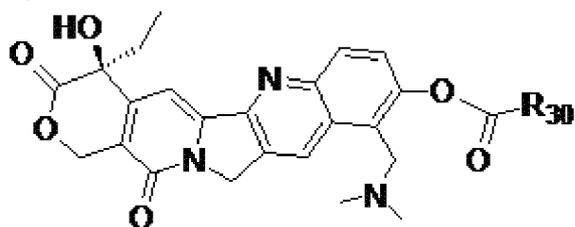
(VIIIa)



(VIIIb)



(XXV)



или

(XXVa),

где:

R_{30} представляет собой $-NH_2$, $-R_{28}-[C(R_{20}R_{21})]_a-R_{22}$, $-R_{28}-C_{1-6}$ алкил- R_{22} , 5-12-членный гетероциклоалкил, $R_{28}-C_{5-12}$ гетероциклоалкил- C_{1-6} алкил- R_{22} или $-R_{28}-C_{1-6}$ алкил- C_{6-12} арил- C_{1-6} алкил- R_{22} ;

R_{28} отсутствует, представляет собой NR_{23} или кислород;

каждый из R_{20} и R_{21} независимо представляет собой водород, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, гидроксильированный C_{6-10} арил, полигидроксильированный C_{6-10} арил, 5-12-членный гетероцикл, C_{3-8} циклоалкил, гидроксильированный C_{3-8} циклоалкил, полигидроксильированный C_{3-8} циклоалкил или боковую цепь природной или неприродной аминокислоты;

R_{22} представляет собой $-OH$, $-NH_2$, $-COOH$, $-R_{82}-C(O)(CH_2)_c-C(H)(R_{23})-N(H)(R_{23})$, $-R_{82}-C(O)(CH_2)_d-(OCH_2-CH_2)_f-N(H)(R_{23})$ или $-R_{82}-(C(O)-CH(X^2)-NR_{23})_d-R_{77}$;

каждый R_{23} независимо представляет собой $-H$, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, C_{3-8} циклоалкил, $-COOH$ или $-COO-C_{1-6}$ алкил;

X^2 представляет собой боковую цепь природной или неприродной аминокислоты;

R_{77} представляет собой $-H$, или X^2 и NR_{77} образуют азотсодержащее циклическое соединение;

R_{82} представляет собой $-NR_{23}$ или кислород;

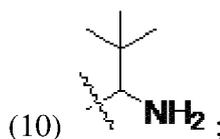
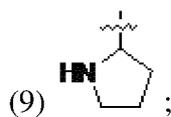
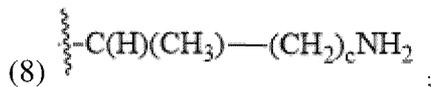
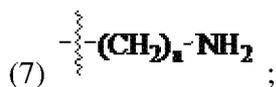
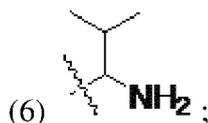
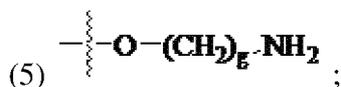
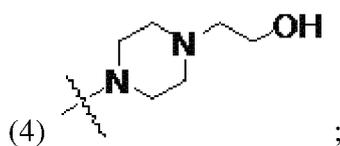
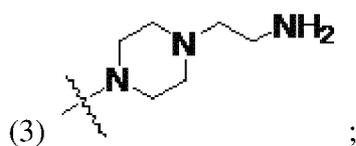
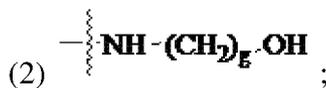
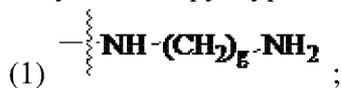
a представляет собой целое число от 1 до 6;

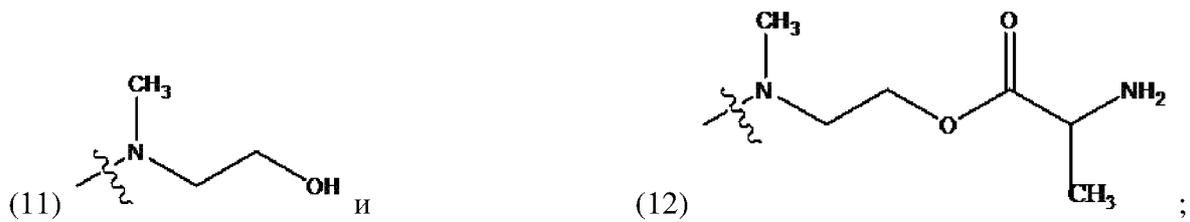
c представляет собой целое число от 0 до 3;

d представляет собой целое число от 1 до 3; и

f представляет собой целое число от 1 до 12.

[00493] В некоторых вариантах осуществления R_{30} представляет собой любую из следующих структур:





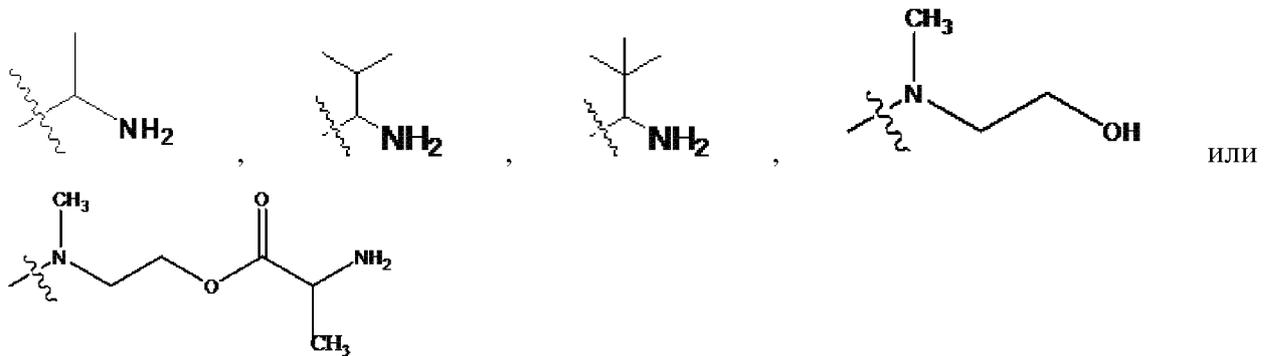
где:

a представляет собой целое число от 1 до 6;

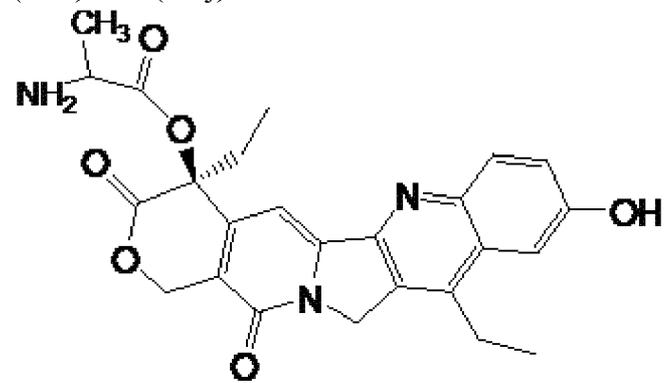
s представляет собой целое число от 0 до 3; и

g представляет собой целое число от 2 до 6.

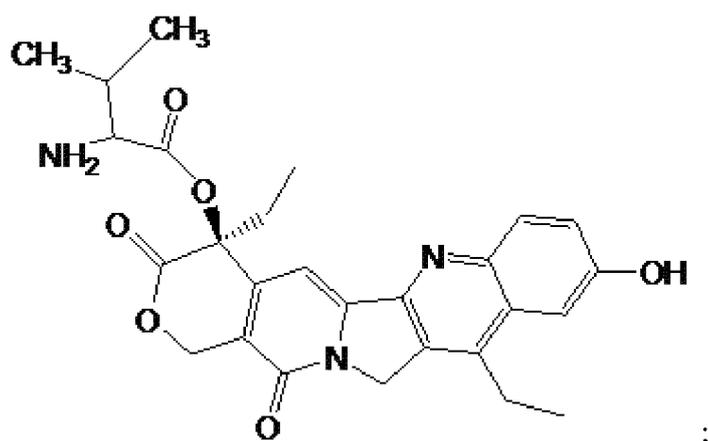
[00494] В некоторых вариантах осуществления в формуле (VII1) R₃₀ представляет собой:



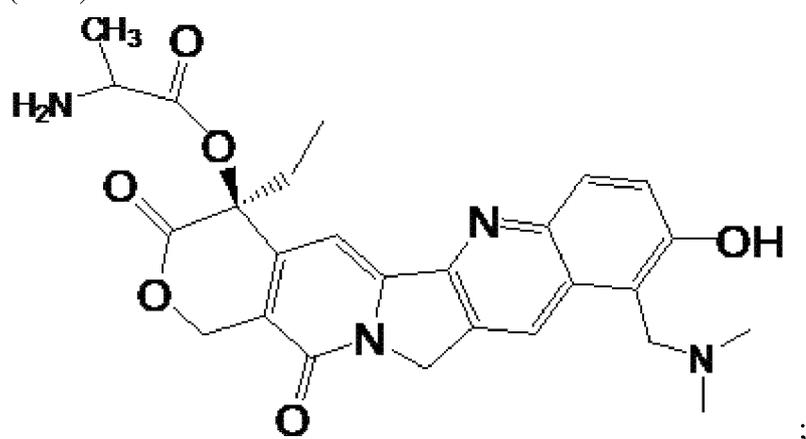
[00495] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (VII1) представляет собой соединение формулы (VIIa), (VIIb), (VIIc), (VIId), (VIIe), (VIIf), (VIIg), (VIIh), (VIIi) или (VIIj):



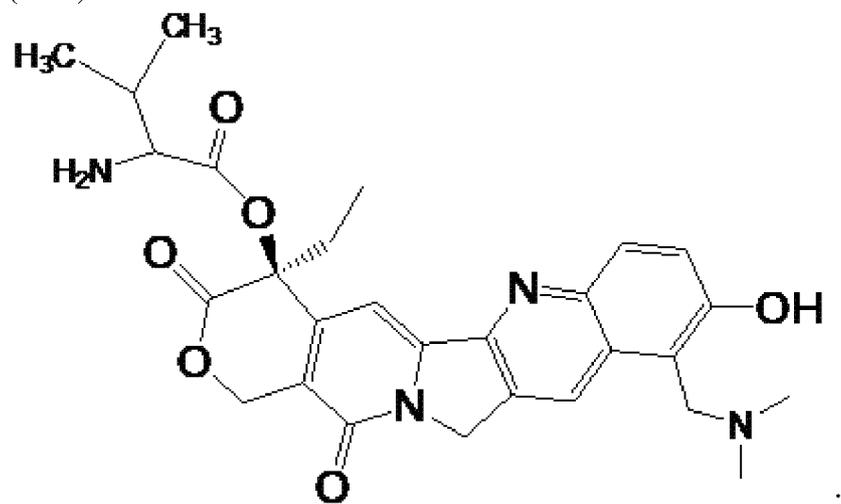
(VIIa)



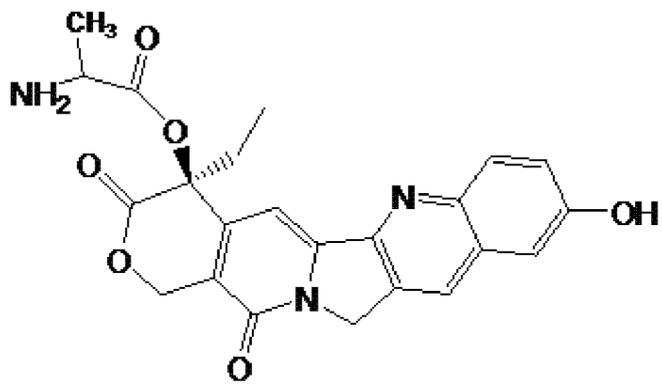
(VIIb)



(VIIc)

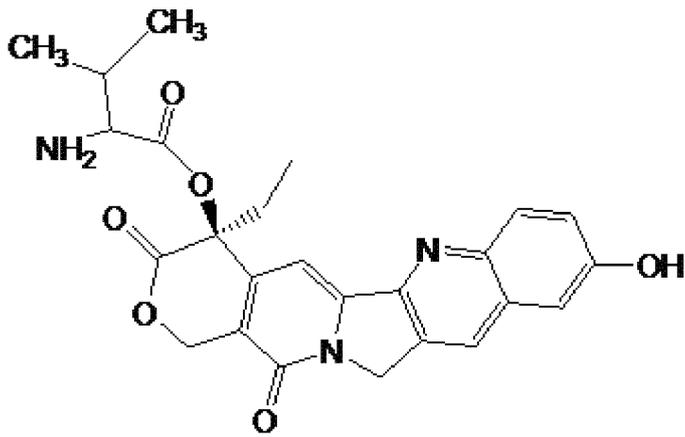


(VIIId)



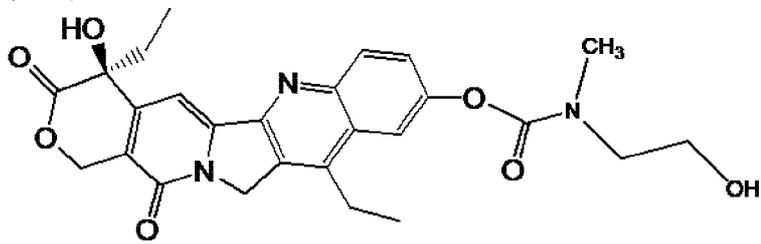
;

(VIIe),



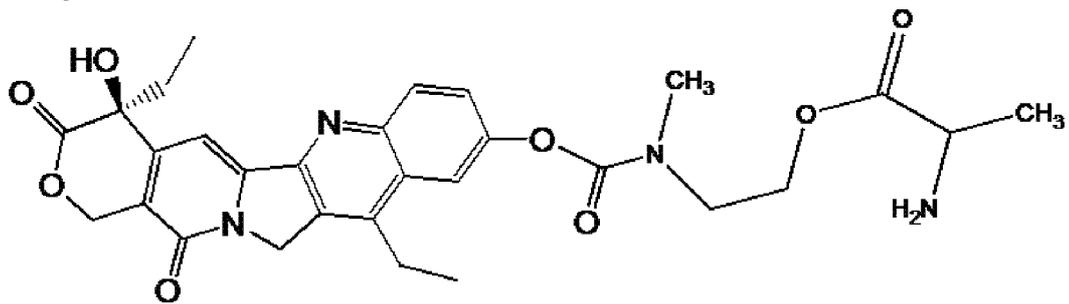
;

(VIIf),



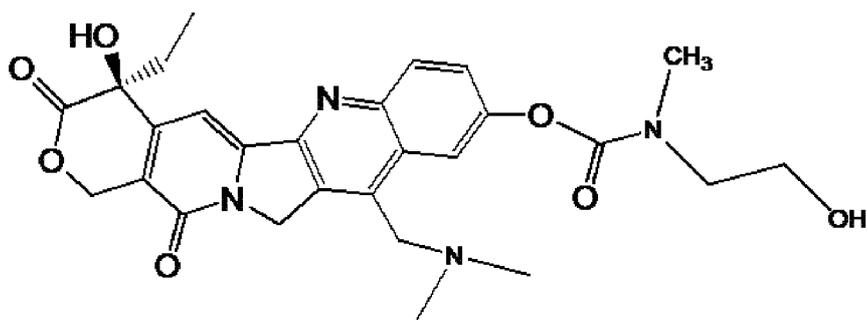
;

(VIIg),



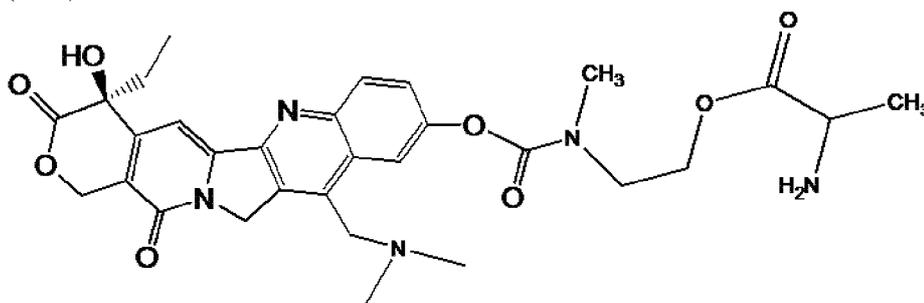
;

(VIIh)



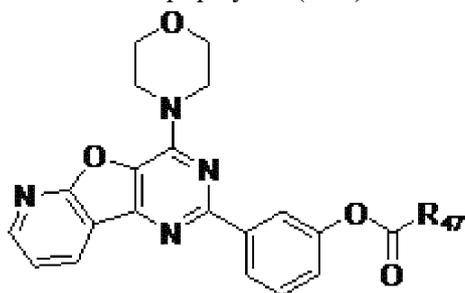
или

(VIIi)



(VIIj).

[00496] В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы PI3 представляет собой соединение формулы (IX1):



(IX1),

где

R_{47} представляет собой аминогруппу, $-R_9-[C(R_{20}R_{21})]_a-R_{10}$, $-R_9-C_5-12$ гетероциклоалкил- C_{1-6} алкил- R_{10} , 5-12-членный гетероциклоалкил или $-R_9-C_{6-10}$ арил;

каждый из R_{20} и R_{21} независимо представляет собой водород, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, гидроксильированный C_{6-10} арил, полигидроксильированный C_{6-10} арил, 5-12-членный гетероцикл, C_{3-8} циклоалкил, гидроксильированный C_{3-8} циклоалкил, полигидроксильированный C_{3-8} циклоалкил или боковую цепь природной или не природной аминокислоты;

R_{10} представляет собой $-OH$, $-NHR_{83}$, $-N-(R_{83})R_{11}$, $-COOH$, $-R_{82}-C(O)(CH_2)_c-C(H)(R_{23})-N(H)(R_{23})$, $-R_{82}-C(O)(CH_2)_d-(OCH_2-CH_2)_f-N(H)(R_{23})$, $-R_{82}-(C(O)-CH(X^2)-NH)_d-R_{77}$ или $-R_{82}-C(O)-[C(R_{20}R_{21})]_a-R_{82}-R_{83}$;

каждый R_{23} независимо представляет собой $-H$, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, C_{3-8} циклоалкил, $-COOH$ или $-COO-C_{1-6}$ алкил;

X^2 представляет собой боковую цепь природной или не природной аминокислоты;

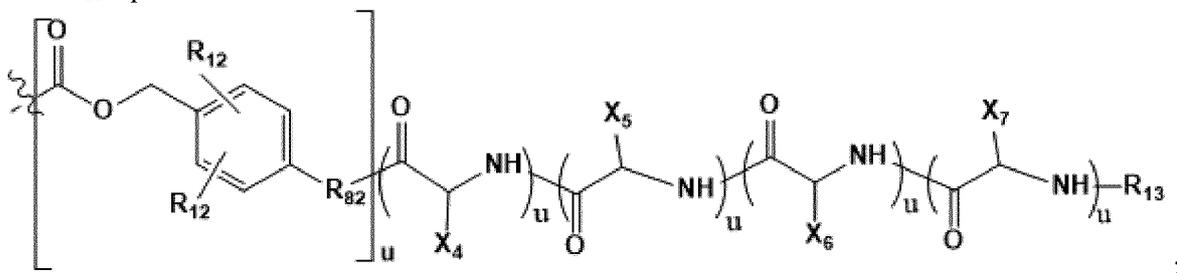
R_{77} представляет собой $-H$, или X^2 и NR_{77} образуют азотсодержащее циклическое соединение;

R_{82} представляет собой $-NR_{23}$ или кислород;

R_9 отсутствует, представляет собой $N-(R_{83})$ или кислород;

R_{83} представляет собой $-H$ или CH_3 ; и

R_{11} представляет собой:



каждый R_{12} независимо представляет собой водород, хлорид, $-CH_3$ или $-OCH_3$;

R_{13} представляет собой $-H$ или $-C(O)-(CH_2)_d-(O-CH_2-CH_2)_f-NH_2$;

R_{82} представляет собой $-NR_{23}$ или кислород;

X_4 представляет собой боковую цепь лизина, аргинина, цитруллина, аланина или глицина;

X_5 представляет собой боковую цепь фенилаланина, валина, лейцина, изолейцина или триптофана;

каждый из X_6 и X_7 независимо представляет собой боковую цепь глицина, аланина, серина, валина или пролина;

a представляет собой целое число от 1 до 6;

c представляет собой целое число от 0 до 3;

d представляет собой целое число от 1 до 3;

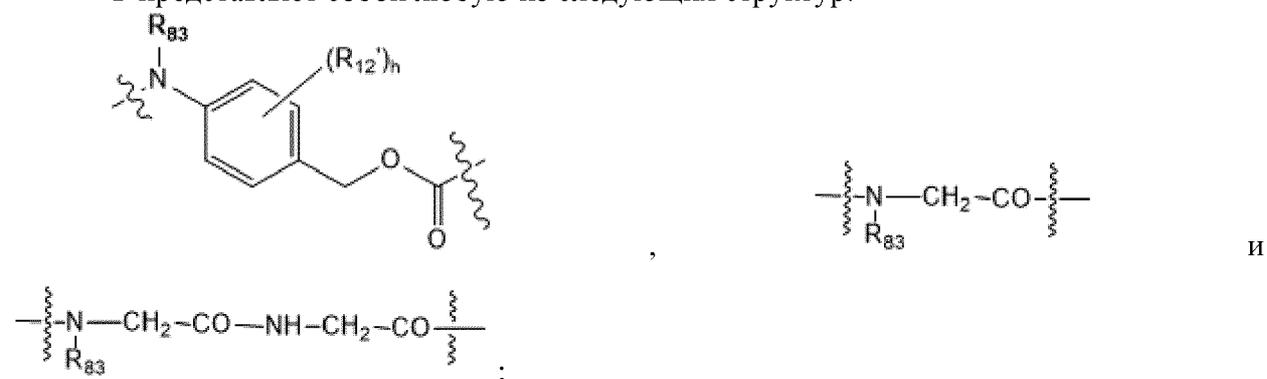
f представляет собой целое число от 1 до 12; и

каждый u независимо представляет собой целое число 0 или 1;

или R_{11} представляет собой $-Y_u-W_q-R_{88}$,

где:

Y представляет собой любую из следующих структур:



в каждой из которых конечная группа NR_{83} Y располагается проксимально по отношению к R_{88} ;

R_{83} представляет собой -H или CH_3 ;
 каждый W представляет собой звено, представляющее собой аминокислоту;
 каждый R_{12}' независимо представляет собой галоген, $-C_{1-8}$ алкил, $-O-C_{1-8}$ алкил,
 нитро или циано;

R_{88} представляет собой -H или $-C(O)-(CH_2)_{ff}-(NH-C(O))_{aa}-E-(CH_2)_{bb}-R_{85}$;

R_{85} представляет собой NH_2 или OH;

E представляет собой $-CH_2-$ или $-CH_2CH_2O-$;

u представляет собой целое число 0 или 1;

q представляет собой целое число от 0 до 12;

aa представляет собой целое число 0 или 1;

bb представляет собой целое число 0 или 2;

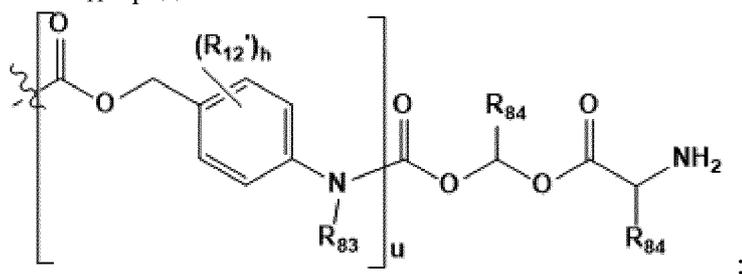
ff представляет собой целое число от 0 до 10;

h представляет собой целое число от 0 до 4;

j представляет собой целое число от 0 до 12; и

если E представляет собой $-CH_2-$, bb равняется 0 и j представляет собой целое
 число от 0 до 10; и если E представляет собой $-CH_2CH_2O-$, bb равняется 2 и j представляет
 собой целое число от 1 до 12;

или R_{11} представляет собой:



где:

R_{83} представляет собой -H или CH_3 ;

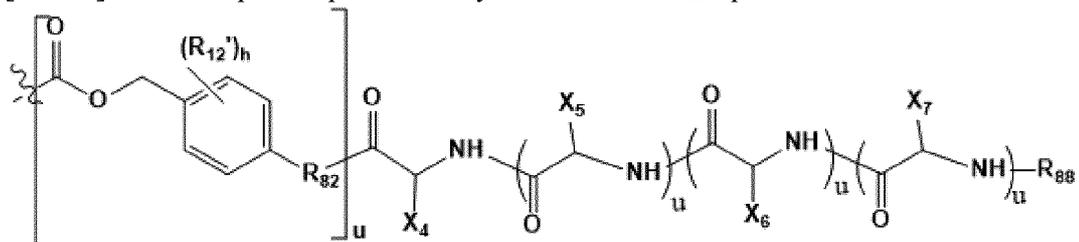
R_{84} представляет собой C_{1-6} алкил или C_{6-10} арил;

каждый R_{12}' независимо представляет собой галоген, $-C_{1-8}$ алкил, $-O-C_{1-8}$ алкил,
 нитро или циано;

h представляет собой целое число от 0 до 4; и

u представляет собой целое число 0 или 1.

[00497] В некоторых вариантах осуществления R_{11} представляет собой:



где:

каждый R_{12}' независимо представляет собой хлорид, $-CH_3$ или $-OCH_3$;

R_{88} представляет собой $-H$ или $-C(O)-(CH_2)_{ff}-(CH_2-CH_2O)_j-CH_2-CH_2-NH_2$;

R_{82} представляет собой $-NR_{23}$ или кислород;

X_4 представляет собой боковую цепь лизина, аргинина, цитруллина, аланина или глицина;

X_5 представляет собой боковую цепь фенилаланина, валина, лейцина, изолейцина или триптофана;

каждый из X_6 и X_7 независимо представляет собой боковую цепь глицина, аланина, серина, валина или пролина;

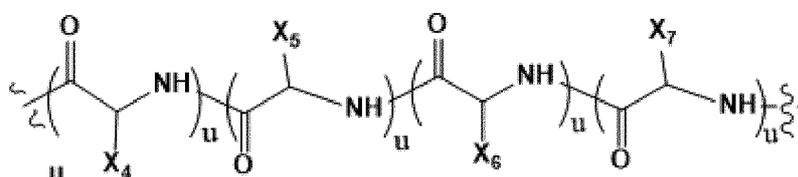
ff представляет собой целое число от 1 до 3;

j представляет собой целое число от 1 до 12;

h представляет собой целое число от 0 до 4; и

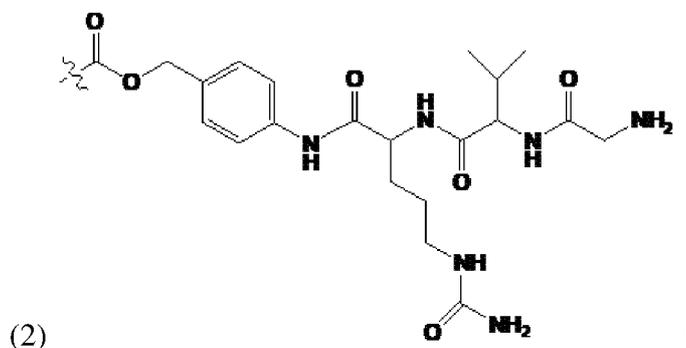
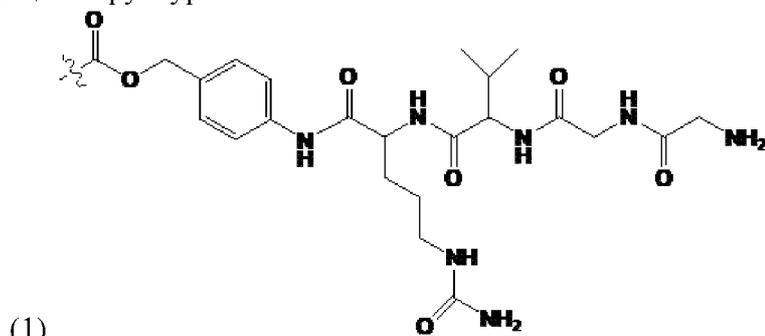
каждый u независимо представляет собой целое число 0 или 1.

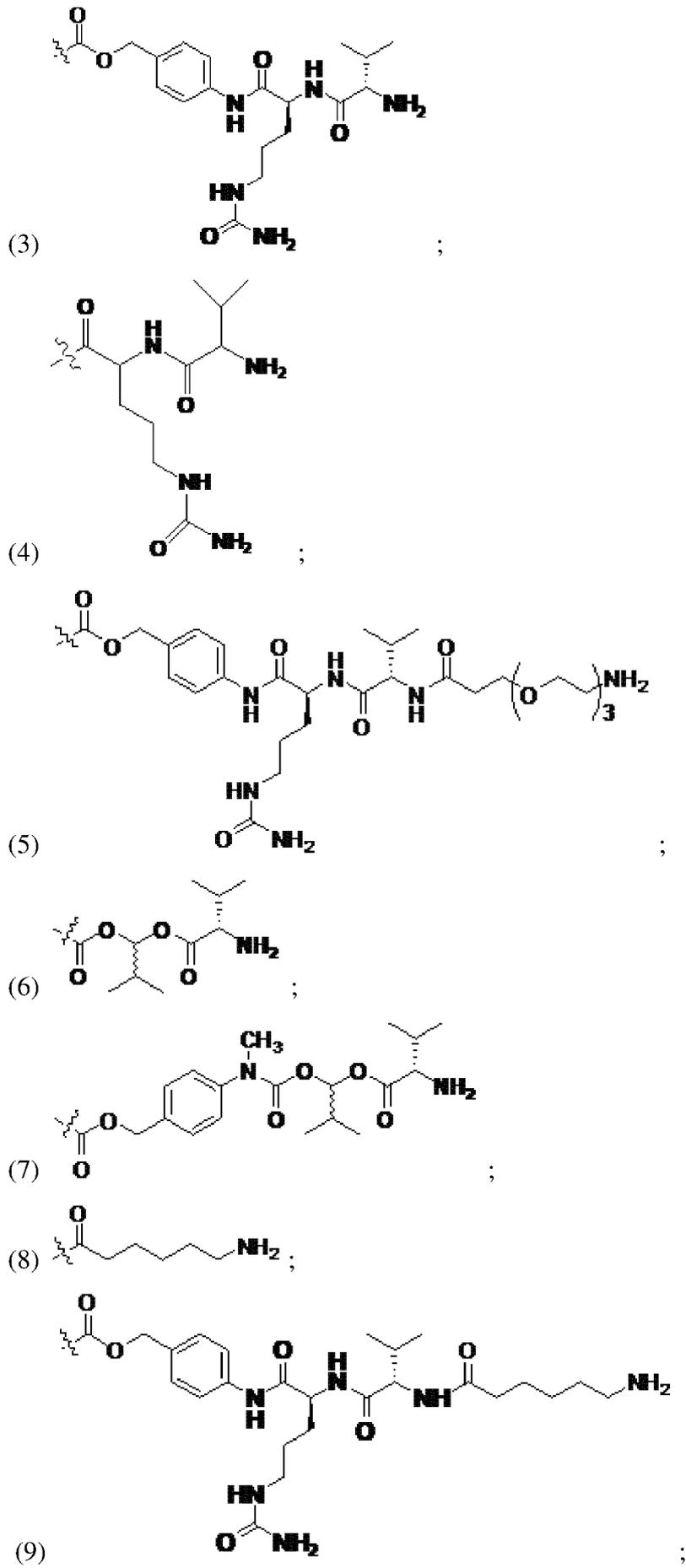
[00498] В некоторых вариантах осуществления

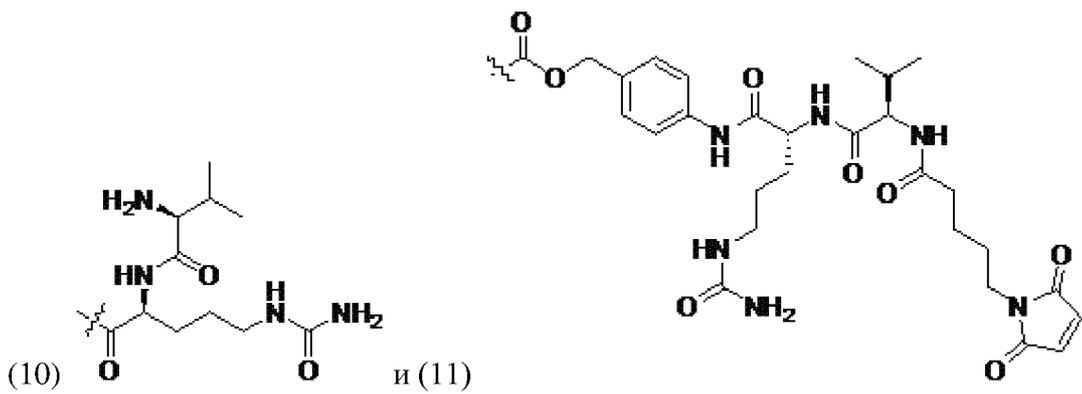


представляет собой цитруллин-валин; лизин-фенилаланин; цитруллин-фенилаланин; цитруллин-лейцин; цитруллин-валин-глицин-глицин; глицин-фенилаланин-глицин-глицин; валин; пролин; лейцин или изолейцин.

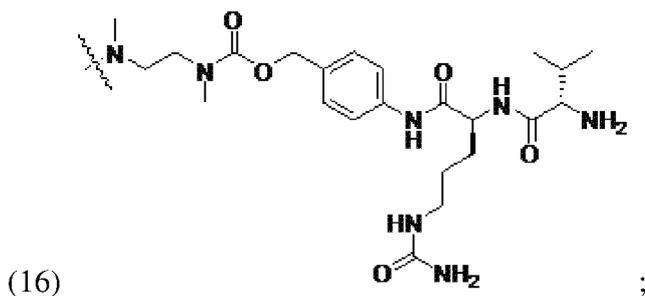
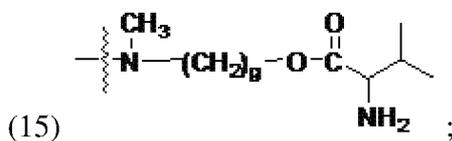
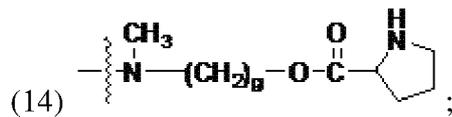
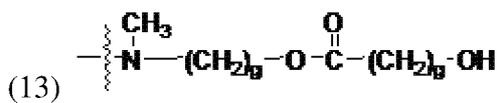
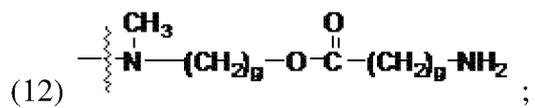
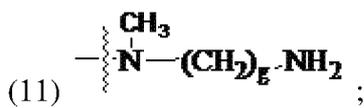
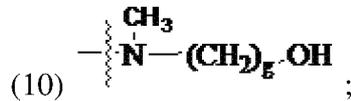
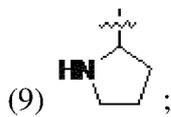
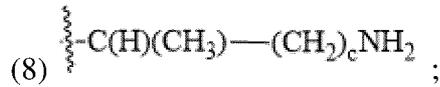
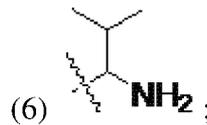
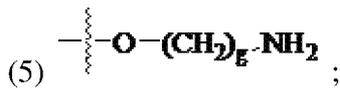
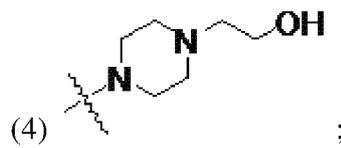
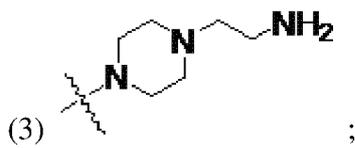
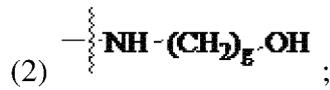
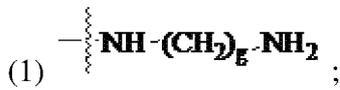
[00499] В некоторых вариантах осуществления R_{11} представляет собой любую из следующих структур:

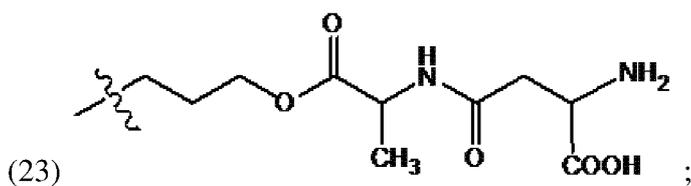
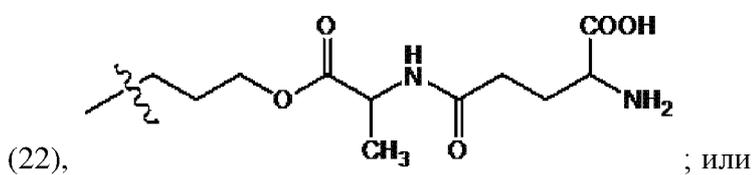
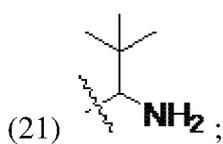
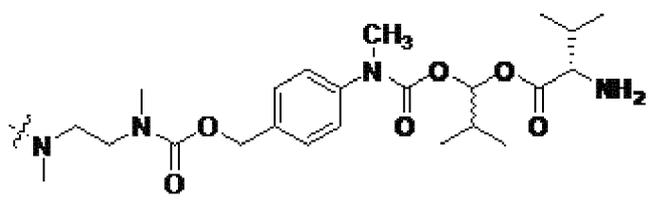
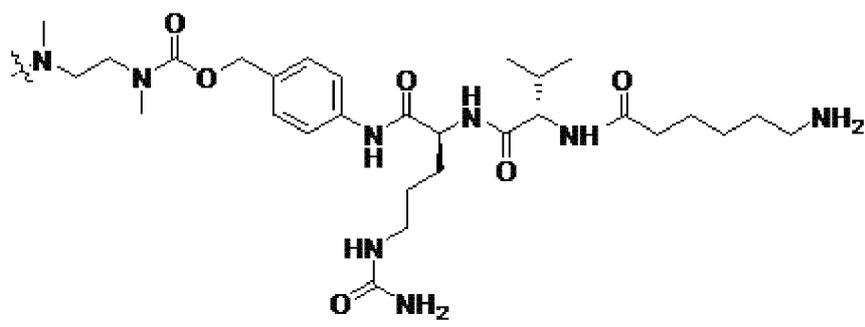
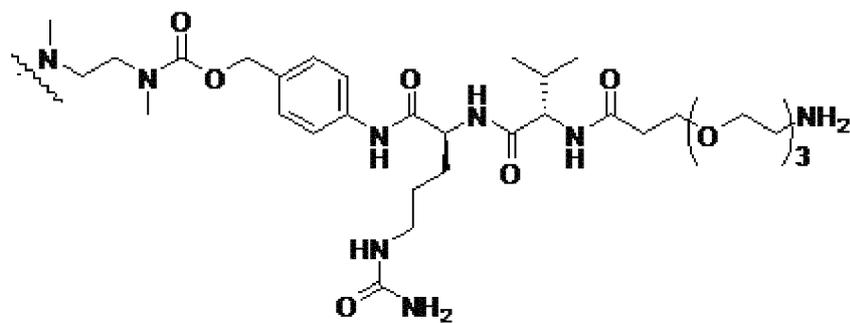
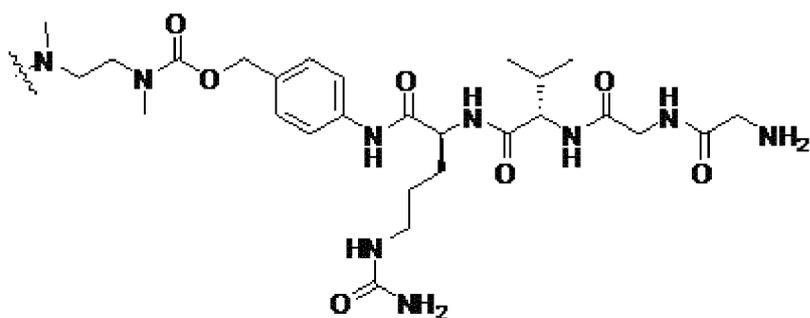






[00500] В некоторых вариантах осуществления R₄₇ представляет собой любую из следующих структур:





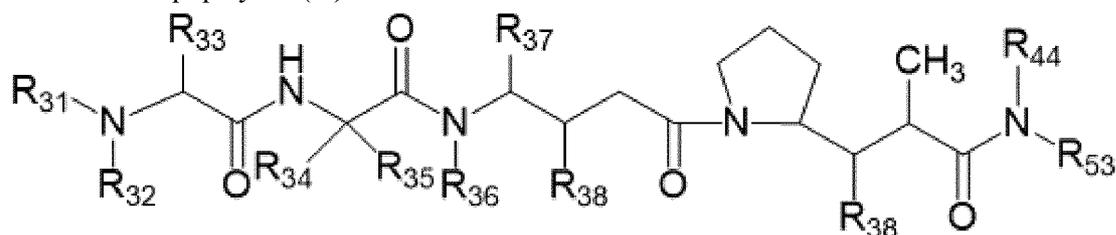
где:

а представляет собой целое число от 1 до 6;

с представляет собой целое число от 0 до 3; и

g представляет собой целое число от 2 до 6.

[00501] В некоторых вариантах осуществления ауристин представляет собой соединение формулы (X):



(X),

где:

каждый из R₃₁ и R₃₂ независимо представляет собой -H или C₁₋₈алкил и не более одного из R₃₁ и R₃₂ представляет собой -H;

R₃₃ представляет собой -H, C₁₋₈алкил, C₃₋₈карбоцикл, C₆₋₁₀арил, C₁₋₈алкил-C₆₋₁₀арил, X¹-(C₃₋₈карбоцикл), C₃₋₈гетероцикл или X¹-(C₃₋₈гетероцикл);

R₃₄ представляет собой -H, C₁₋₈алкил, C₃₋₈карбоцикл, C₆₋₁₀арил, X¹-C₆₋₁₀арил, X¹-(C₃₋₈карбоцикл), C₃₋₈гетероцикл или X¹-(C₃₋₈гетероцикл);

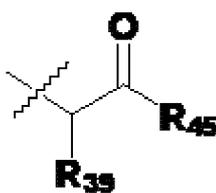
R₃₅ представляет собой -H или метил;

или R₃₄ и R₃₅ вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют карбоциклическое кольцо формулы -(CR₅₅R₄₁)_b-, где каждый из R₅₅ и R₄₁ независимо представляет собой -H или C₁₋₈алкил и b представляет собой целое число от 3 до 7;

R₃₆ представляет собой -H или C₁₋₈алкил;

R₃₇ представляет собой -H, C₁₋₈алкил, C₃₋₈карбоцикл, C₆₋₁₀арил, -X¹-C₆₋₁₀арил, -X¹-(C₃₋₈карбоцикл), C₃₋₈гетероцикл или -X¹-(C₃₋₈гетероцикл);

каждый R₃₈ независимо представляет собой -H, OH, C₁₋₈алкил, C₃₋₈карбоцикл или O-(C₁₋₈алкил);



R₅₃ представляет собой: **R39** или R₅₄;

R₃₉ представляет собой -H, C₁₋₈алкил, C₆₋₁₀арил, -X¹-C₆₋₁₀арил, C₃₋₈карбоцикл, C₃₋₈гетероцикл, -X¹-C₃₋₈гетероцикл, -C₁₋₈алкилен-NH₂ или (CH₂)₂SCH₃;

каждый X¹ независимо представляет собой C₁₋₁₀алкилен или C₃₋₁₀циклоалкилен;

R₄₄ представляет собой -H или C₁₋₈алкил;

R₄₅ представляет собой X³-R₄₂ или NH-R₁₉;

X³ представляет собой O или S;

R₁₉ представляет собой -H, OH, аминогруппу, C₁₋₈алкиламино или -[C(R₂₀R₂₁)]_a-R₂₂;

R₄₂ представляет собой аминогруппу, C₁₋₆алкиламино или -[C(R₂₀R₂₁)]_a-R₂₂;

каждый из R₂₀ и R₂₁ независимо представляет собой -H, C₁₋₆алкил, C₆₋₁₀арил,

гидроксилированный С₆₋₁₀арил, полигидроксилированный С₆₋₁₀арил, 5-12-членный гетероцикл, С₃₋₈циклоалкил, гидроксилированный С₃₋₈циклоалкил, полигидроксилированный С₃₋₈циклоалкил или боковую цепь природной или неприродной аминокислоты;

R₂₂ представляет собой -ОН, -NHR₂₃, -COОН, -R₈₂-C(O)(CH₂)_c-C(H)(R₂₃)-N(H)(R₂₃), -R₈₂-C(O)(CH₂)_d-(O CH₂-CH₂)_f-N(H)(R₂₃) или -R₈₂-(C(O)-CH(X²)-NH)_d-R₇₇;

каждый R₂₃ независимо представляет собой -H, С₁₋₆алкил, С₆₋₁₀арил, С₃₋₈циклоалкил, -COОН или -COO-С₁₋₆алкил;

X² представляет собой боковую цепь природной или неприродной аминокислоты;

R₇₇ представляет собой -H, или X² и NR₇₇ образуют азотсодержащее циклическое соединение;

R₈₂ представляет собой -NR₂₃ или кислород;

R₅₄ представляет собой -C(R₅₆)₂--C(R₅₆)₂-С₆₋₁₀арил, -C(R₅₆)₂--C(R₅₆)₂-С₃₋₈гетероцикл или -C(R₅₆)₂--C(R₅₆)₂-С₃₋₈карбоцикл;

R₅₆ независимо выбран из H, ОН, С₁₋₈алкила, С₃₋₈карбоцикла, -O-С₁₋₈алкила, -O-С(O)-R₂₉, и -O-R₂₃-O-С₁₋₆алкил-NH₂;

R₂₉ представляет собой аминогруппу, 5-12-членный гетероциклоалкил, -R₂₈-С₁₋₆алкил-R₂₂, R₂₈-С₅₋₁₂гетероциклоалкил-С₁₋₆алкил-R₂₂, -[C(R₂₀R₂₁)]_a-R₂₂ или -R₂₈-С₁₋₆алкил-С₆₋₁₂арил-С₁₋₆алкил-R₂₂; или R₂₉ представляет собой R₄₇, как определено в данном документе;

R₂₈ отсутствует, представляет собой NR₂₃ или кислород;

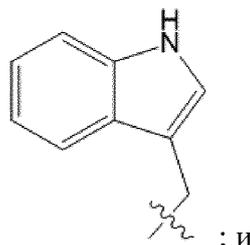
a представляет собой целое число от 1 до 6;

c представляет собой целое число от 0 до 3;

d представляет собой целое число от 1 до 3; и

f представляет собой целое число от 1 до 12.

[00502] В некоторых вариантах осуществления в соединении ауристатина формулы (X):

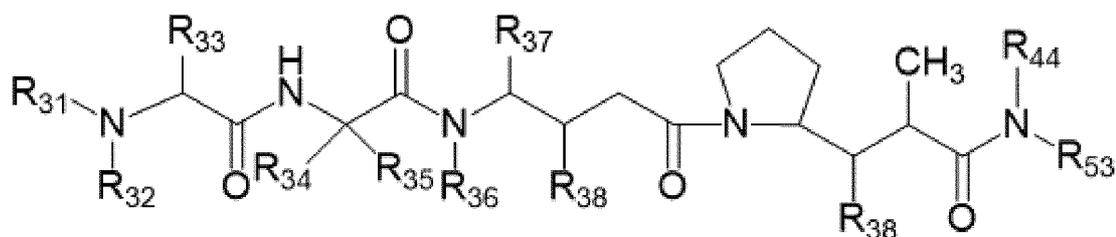


R₃₉ представляет собой бензил или

; и

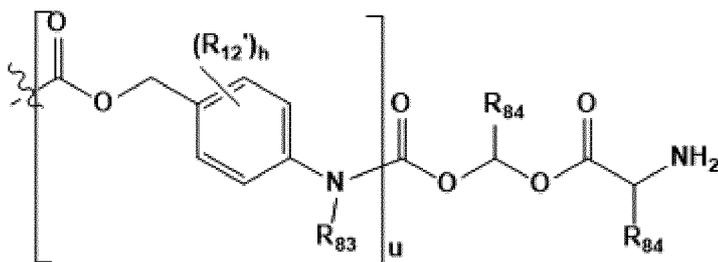
R₄₄ представляет собой водород.

[00503] В некоторых вариантах осуществления ауристатин представляет собой соединение формулы (Xa):



(Xa)

где:

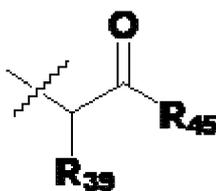
R₃₃-R₃₈ и R₄₄ являются такими, как определено в данном документе,Один из R₃₁ и R₃₂ представляет собой водород или C₁-алкил, и другой представляет собой:

где:

R₈₃ представляет собой -H или CH₃;R₈₄ представляет собой C₁₋₆-алкил или C₆₋₁₀-арил;каждый R₁₂' независимо представляет собой галоген, -C₁₋₈-алкил, -O-C₁₋₈-алкил, нитро или циано;

h представляет собой целое число от 0 до 4;

u представляет собой целое число 0 или 1;

R₅₃ представляет собой: **R₃₉** или R₅₄R₃₉ представляет собой H, C₁₋₈-алкил, C₆₋₁₀-арил, -X¹-C₆₋₁₀-арил, C₃₋₈-карбоцикл, C₃₋₈-гетероцикл, -X¹-C₃₋₈-гетероцикл, -C₁₋₈-алкилен-NH₂ или (CH₂)₂SCH₃,каждый X¹ независимо представляет собой C₁₋₁₀-алкилен или C₃₋₁₀-циклоалкилен;R₄₅ представляет собой X³-R₄₂ или NH-R₁₉;X³ представляет собой O или S;R₁₉ представляет собой -H, OH, аминогруппу, C₁₋₈-алкиламино или -[C(R₂₀R₂₁)]_a-R₂₂;R₄₂ представляет собой -H, аминогруппу, C₁₋₆-алкиламино, или -[C(R₂₀R₂₁)]_a-R₂₂;каждый из R₂₀ и R₂₁ независимо представляет собой водород, C₁₋₆-алкил, C₆₋₁₀-арил, гидроксированный C₆₋₁₀-арил, полигидроксированный C₆₋₁₀-арил, 5-12-членный гетероцикл, C₃₋₈-циклоалкил, гидроксированный C₃₋₈-циклоалкил, полигидроксированный C₃₋₈-циклоалкил или боковую цепь природной или не природной аминокислоты;

R_{22} представляет собой $-\text{OH}$, $-\text{NHR}_{23}$, $-\text{COOH}$, $-\text{R}_{82}-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_c-\text{C}(\text{H})(\text{R}_{23})-\text{N}(\text{H})(\text{R}_{23})$, $-\text{R}_{82}-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_d-(\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2)_f-\text{N}(\text{H})(\text{R}_{23})$ или $-\text{R}_{82}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}(\text{X}^2)-\text{NH}_d-\text{R}_{77}$;

каждый R_{23} независимо представляет собой $-\text{H}$, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, C_{3-8} циклоалкил, $-\text{COOH}$ или $-\text{COO}-\text{C}_{1-6}$ алкил;

X^2 представляет собой боковую цепь природной или неприродной аминокислоты;

R_{77} представляет собой $-\text{H}$, или X^2 и NR_{77} образуют азотсодержащее циклическое соединение;

R_{82} представляет собой $-\text{NR}_{23}$ или кислород;

R_{54} представляет собой $-\text{C}(\text{R}_{56})_2--\text{C}(\text{R}_{56})_2-\text{C}_{6-10}$ арил, $-\text{C}(\text{R}_{56})_2--\text{C}(\text{R}_{56})_2-\text{C}_{3-8}$ гетероцикл или $-\text{C}(\text{R}_{56})_2--\text{C}(\text{R}_{56})_2-\text{C}_{3-8}$ карбоцикл;

R_{56} независимо выбран из H , OH , C_{1-8} алкила, C_{3-8} карбоцикла, $-\text{O}-\text{C}_{1-8}$ алкила, $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{R}_{29}$, и $-\text{O}-\text{R}_{23}-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ алкил- NH_2 ;

R_{29} представляет собой аминогруппу, 5-12-членный гетероциклоалкил, $-\text{R}_{28}-\text{C}_{1-6}$ алкил- R_{22} , $\text{R}_{28}-\text{C}_{5-12}$ гетероциклоалкил- C_{1-6} алкил- R_{22} , $-\text{[C}(\text{R}_{20}\text{R}_{21})\text{]}_a-\text{R}_{22}$ или $-\text{R}_{28}-\text{C}_{1-6}$ алкил- C_{6-12} арил- C_{1-6} алкил- R_{22} ; или R_{29} представляет собой R_{47} , как определено в данном документе;

R_{28} отсутствует, представляет собой NR_{23} или кислород;

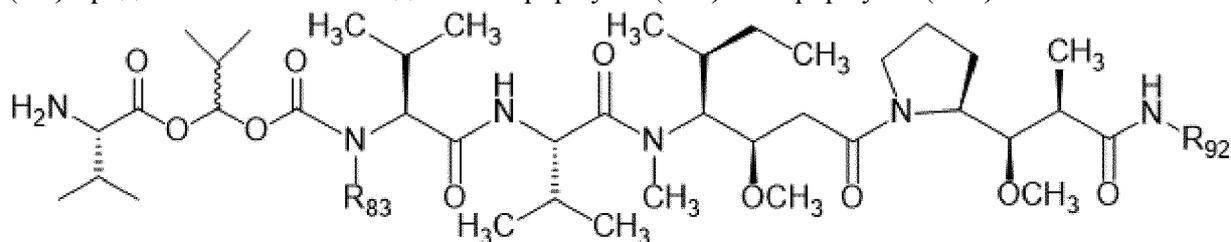
a представляет собой целое число от 1 до 6;

c представляет собой целое число от 0 до 3;

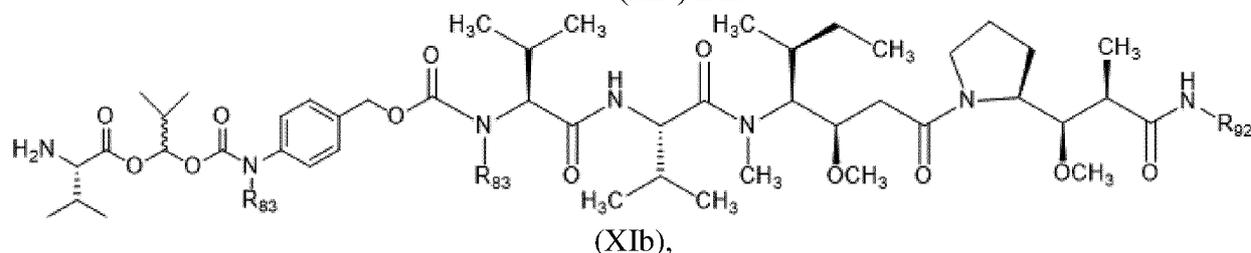
d представляет собой целое число от 1 до 3; и

f представляет собой целое число от 1 до 12.

[00504] В некоторых вариантах осуществления соединение ауристатина формулы (Xa) представляет собой соединение формулы (XIa) или формулы (XIb):

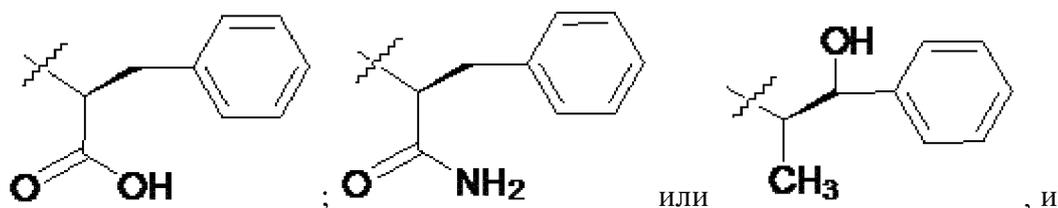


(XIa) или



где:

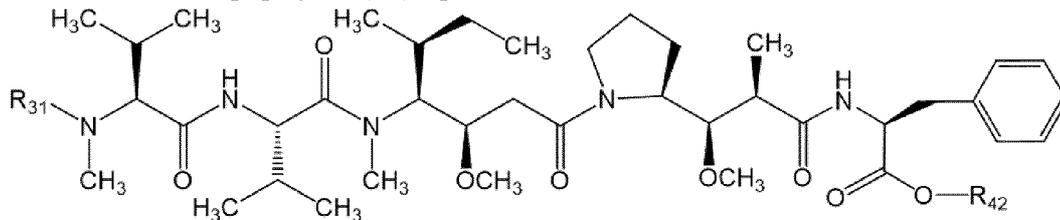
R_{92} представляет собой:



R_{83} представляет собой водород или CH_3 .

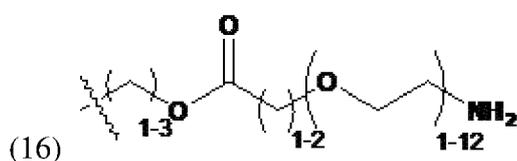
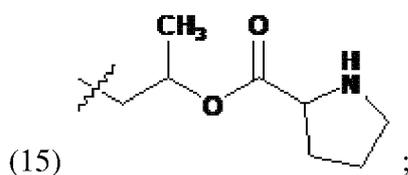
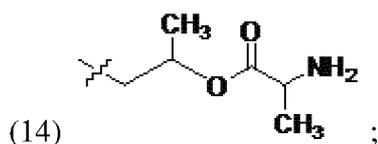
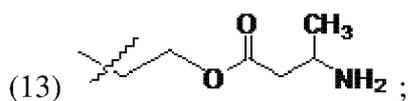
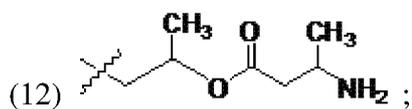
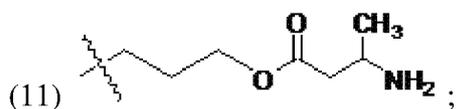
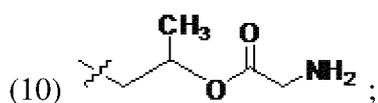
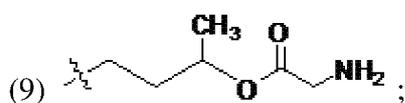
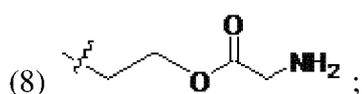
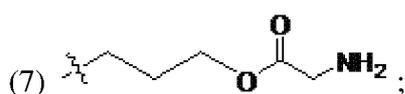
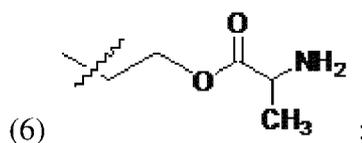
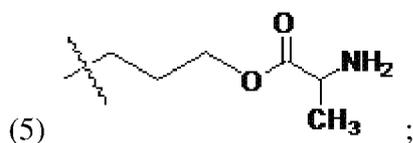
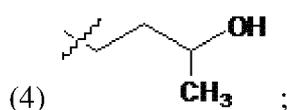
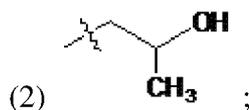
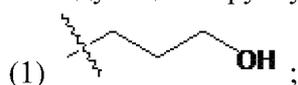
[00505] В некоторых вариантах осуществления ауристатин формулы (X) представляет собой соединение формулы (XI), формулы (XII) или формулы (XIII):

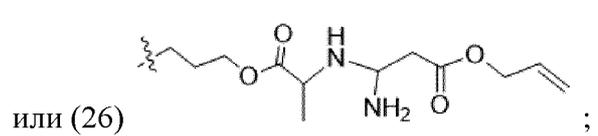
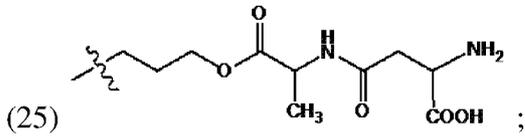
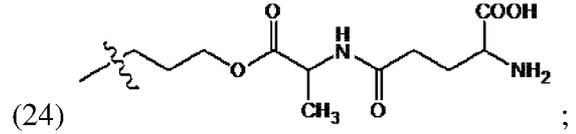
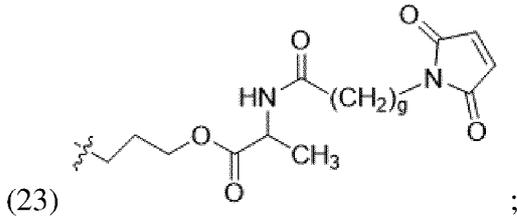
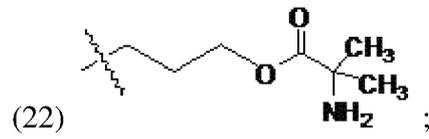
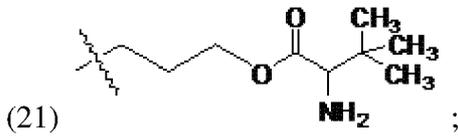
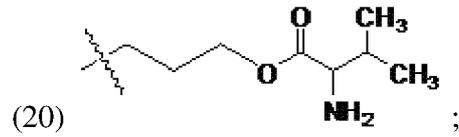
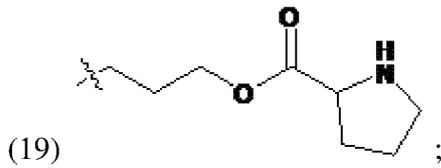
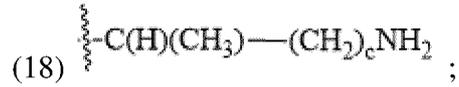
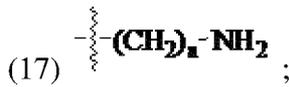
где соединение формулы (XI) представляет собой:



(XI)

где R_{31} представляет собой H или CH_3 , и R_{42} представляет собой $-CH_3$ или любую из следующих структур:





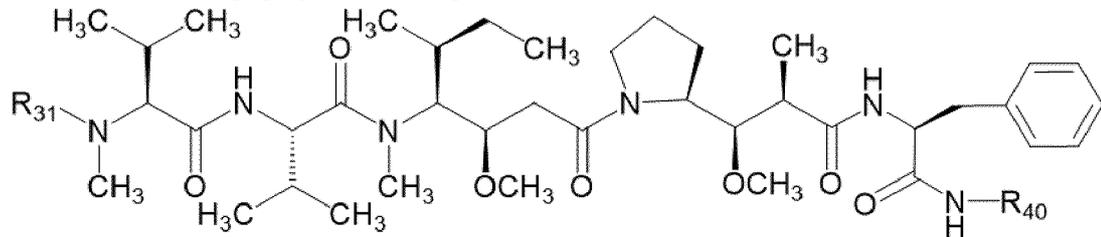
где:

a представляет собой целое число от 1 до 6;

c представляет собой целое число от 0 до 3; и

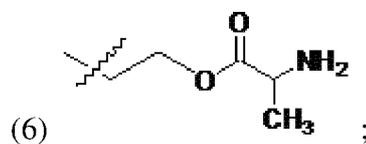
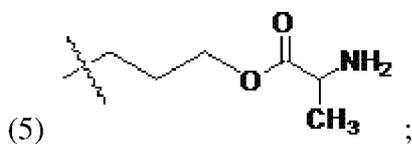
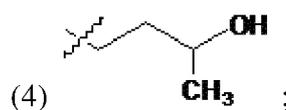
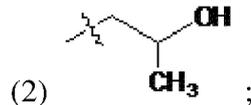
g представляет собой целое число от 2 до 6;

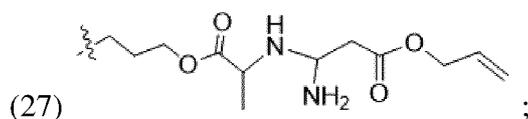
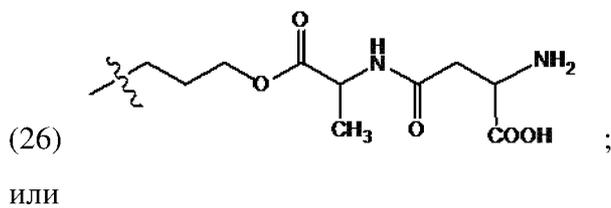
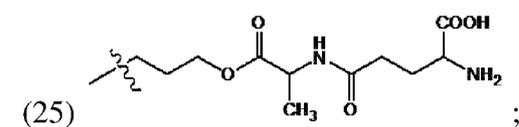
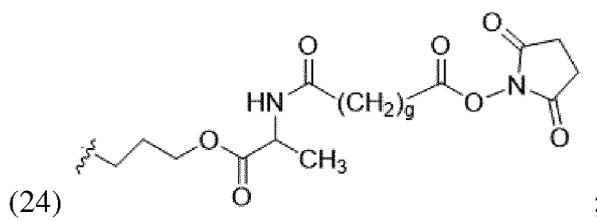
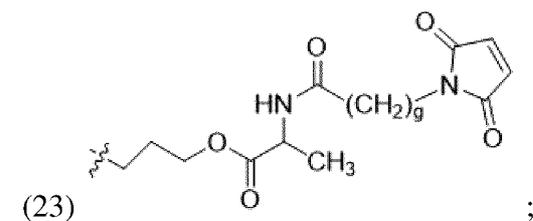
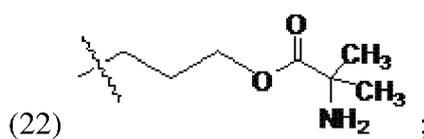
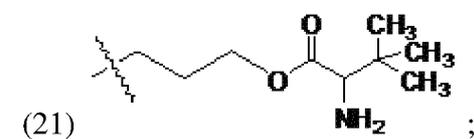
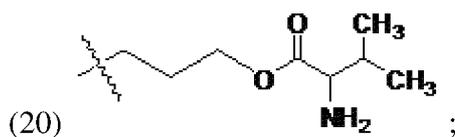
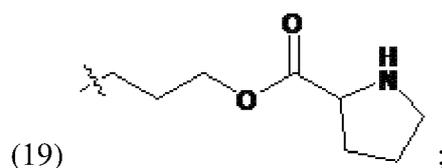
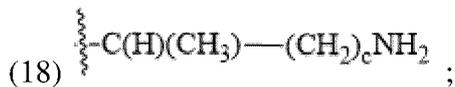
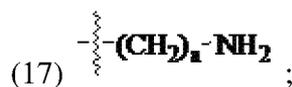
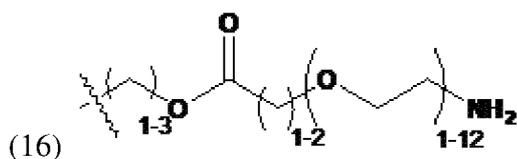
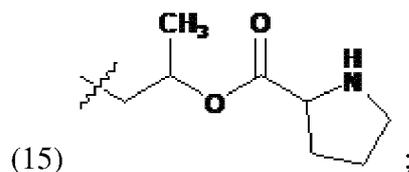
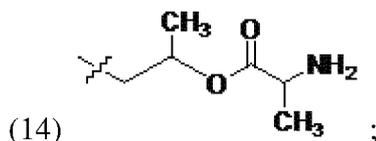
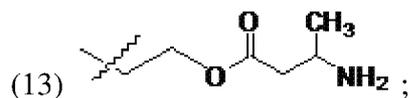
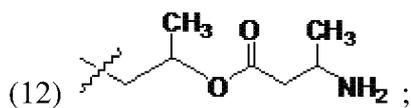
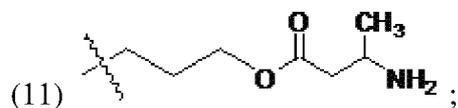
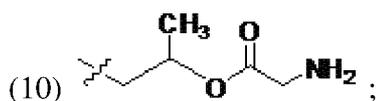
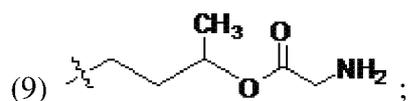
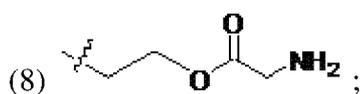
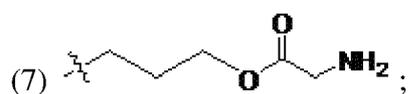
где соединение формулы (XII) представляет собой:



(XII),

где R₃₁ представляет собой H или CH₃, и R₄₀ представляет собой водород, -OH, -NH₂ или любую из следующих структур:





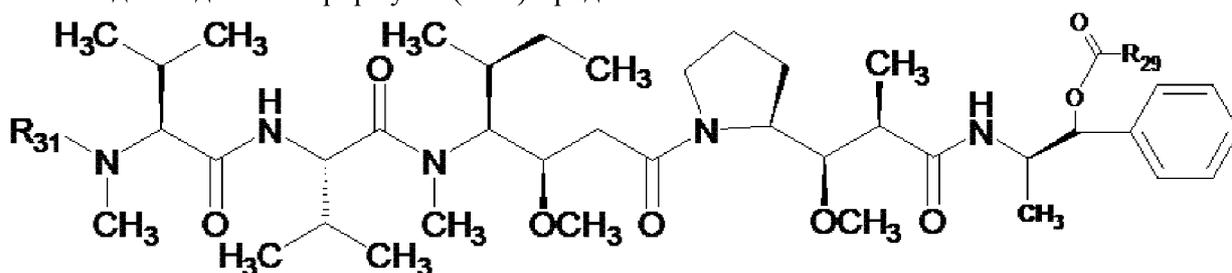
где:

a представляет собой целое число от 1 до 6;

g представляет собой целое число от 2 до 6; и

с представляет собой целое число от 0 до 3;

где соединение формулы (XIII) представляет собой:



(XIII),

где:

R_{31} представляет собой H или CH_3 ;

R_{29} представляет собой аминогруппу, 5-12-членный гетероциклоалкил, $-R_{28}-C_{1-6}$ алкил- R_{22} , $R_{28}-C_{5-12}$ гетероциклоалкил- C_{1-6} алкил- R_{22} , $-R_{28}-[C(R_{20}R_{21})]_a-R_{22}$ или $-R_{28}-C_{1-6}$ алкил- C_{6-12} арил- C_{1-6} алкил- R_{22} ; или R_{29} представляет собой R_{47} , как определено в данном документе;

каждый из R_{20} и R_{21} независимо представляет собой -H, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, гидроксированный C_{6-10} арил, полигидроксированный C_{6-10} арил, 5-12-членный гетероцикл, C_{3-8} циклоалкил, гидроксированный C_{3-8} циклоалкил, полигидроксированный C_{3-8} циклоалкил или боковую цепь природной или неприродной аминокислоты;

R_{22} представляет собой -OH, -NHR₂₃, -COOH, $-R_{82}-C(O)(CH_2)_c-C(H)(R_{23})-N(H)(R_{23})$, $-R_{82}-C(O)(CH_2)_d-(OCH_2-CH_2)_f-N(H)(R_{23})$ или $-R_{82}-(C(O)-CH(X^2)-NH)_d-R_{77}$;

каждый R_{23} независимо представляет собой -H, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, C_{3-8} циклоалкил, -COOH или -COO- C_{1-6} алкил;

X^2 представляет собой боковую цепь природной или неприродной аминокислоты;

R_{77} представляет собой -H, или X^2 и NR₇₇ образуют азотсодержащее циклическое соединение;

R_{82} представляет собой -NR₂₃ или кислород;

R_{28} отсутствует, представляет собой NR₂₃ или кислород;

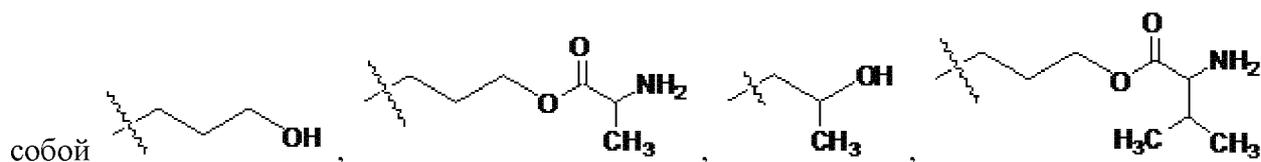
a представляет собой целое число от 1 до 6;

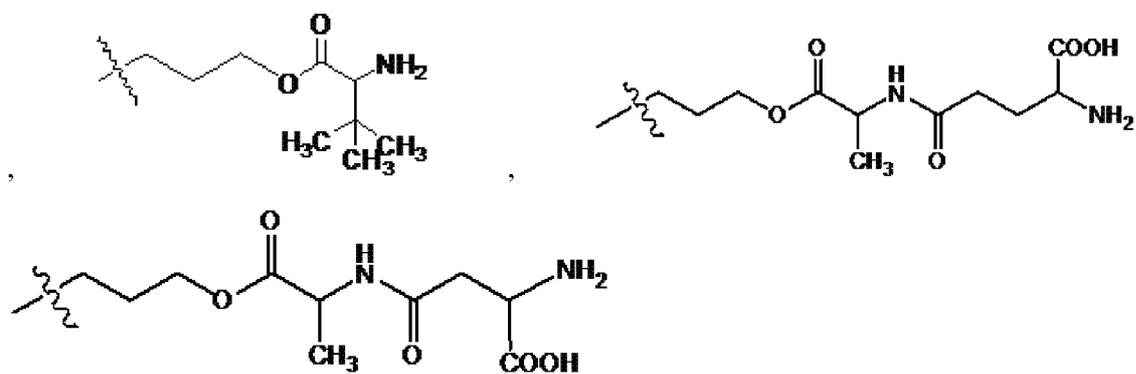
c представляет собой целое число от 0 до 3;

d представляет собой целое число от 1 до 3; и

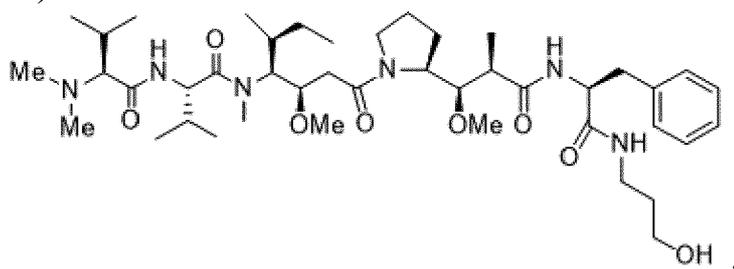
f представляет собой целое число от 1 до 12.

[00506] В некоторых вариантах осуществления в формуле (XII) R_{40} представляет

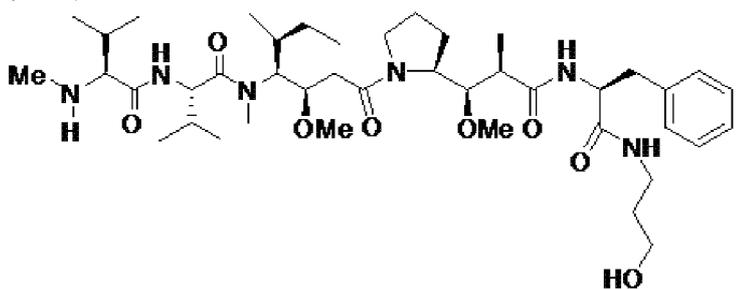




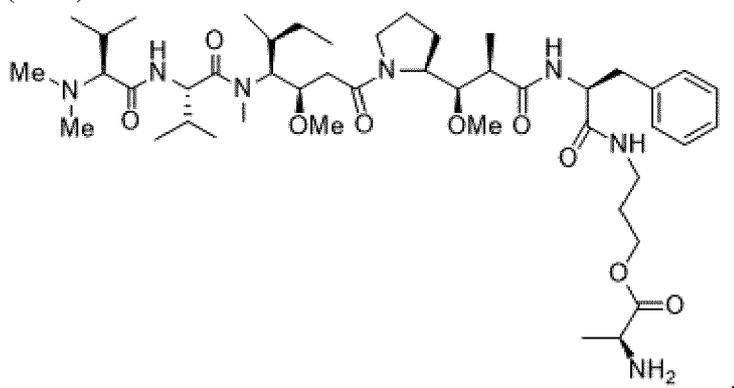
[00507] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (XII) представляет собой соединение формулы (XIIa), (XIIb), (XIIc), (XIId), (XIIe), (XIIf), (XIIg) или (XIIh):



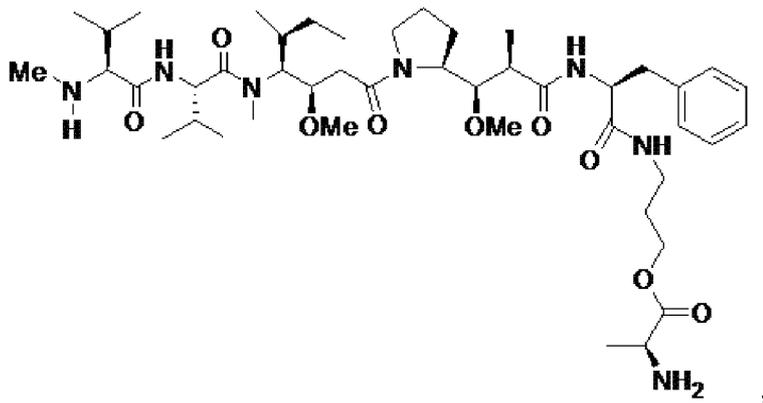
(XIIa)



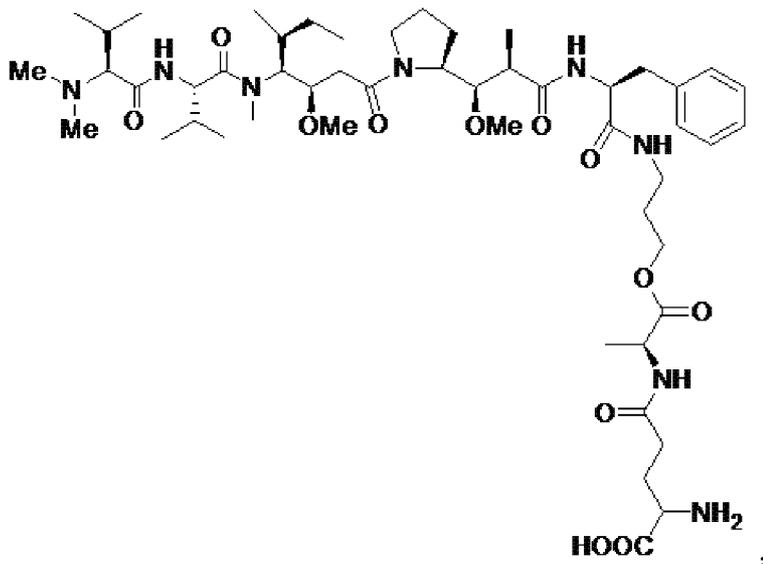
(XIIb)



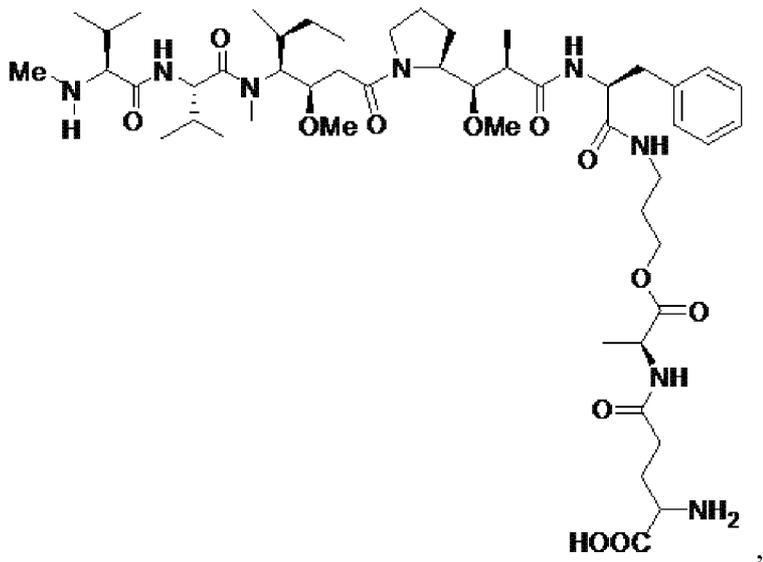
(XIIc)



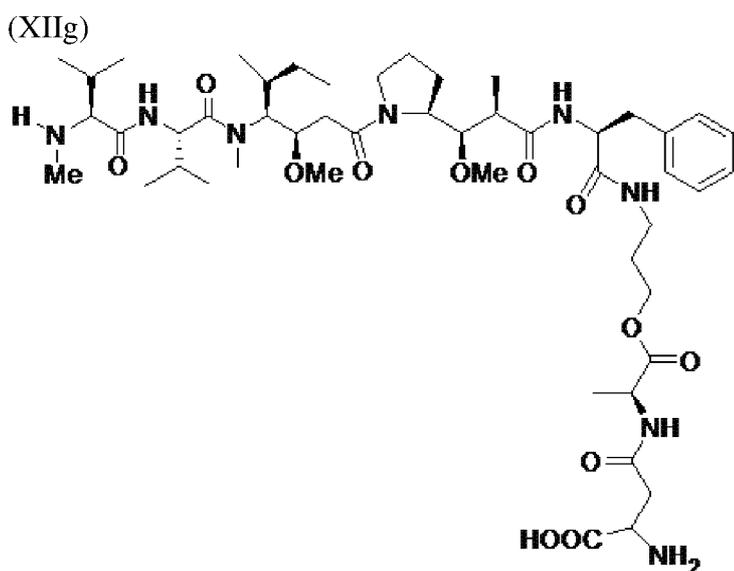
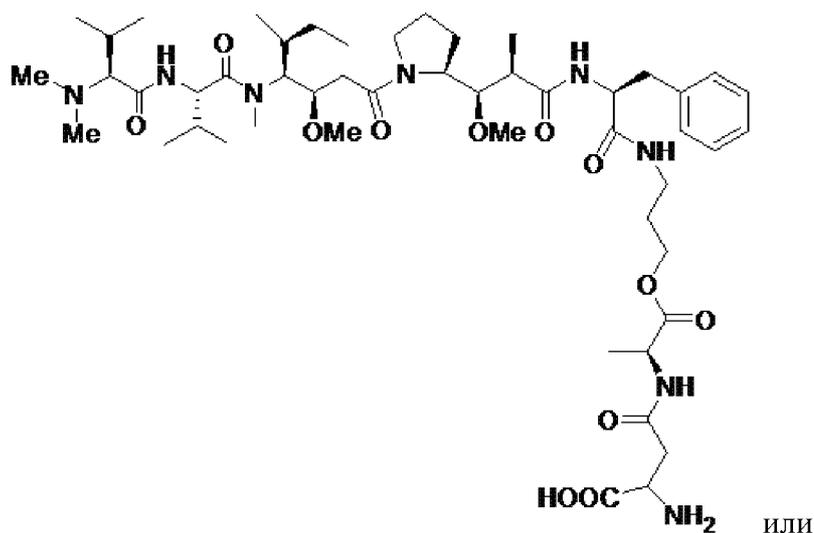
(XIId)



(XIIe)



(XII f)



(XIIh).

[00508] В некоторых вариантах осуществления в соединении формулы (XIII) R_{29} представляет собой $-NH_2$, 5-членный гетероциклоалкил, $-R_{28}-C_{1-6}$ алкил- R_{22} , $R_{28}-C_{5-12}$ гетероциклоалкил- C_{1-6} алкил- R_{22} или $-R_{28}-C_{1-6}$ алкил- C_{6-12} арил- C_{1-6} алкил- R_{22} ; или R_{29} представляет собой R_{47} , как определено в данном документе;

R_{28} отсутствует, представляет собой NR_{23} или кислород;

R_{22} представляет собой $-OH$, $-NHR_{23}$, $-COOH$, $-R_{82}-C(O)(CH_2)_c-C(H)(R_{23})-N(H)(R_{23})$, $-R_{82}-C(O)(CH_2)_d-(OCH_2-CH_2)_f-N(H)(R_{23})$ или $-R_{82}-(C(O)-CH(X^2)-NH)_d-R_{77}$;

каждый R_{23} независимо представляет собой $-H$, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, C_{3-8} циклоалкил, $-COOH$ или $-COO-C_{1-6}$ алкил;

X^2 представляет собой боковую цепь природной или неприродной аминокислоты;

R_{77} представляет собой $-H$, или X^2 и NR_{77} образуют азотсодержащее циклическое соединение;

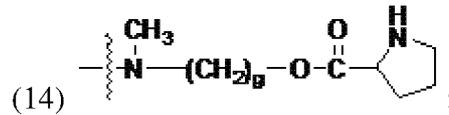
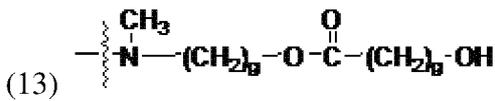
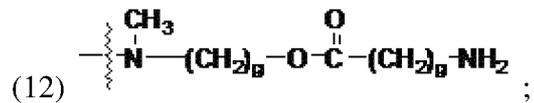
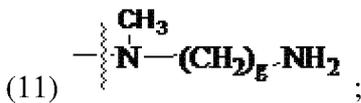
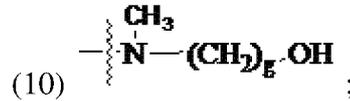
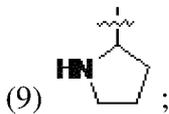
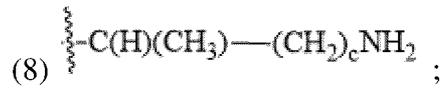
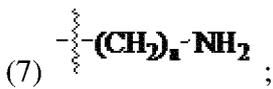
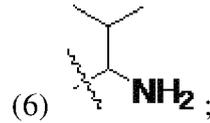
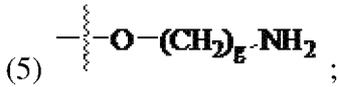
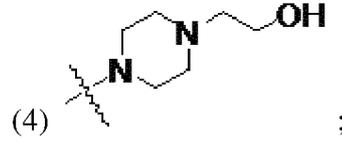
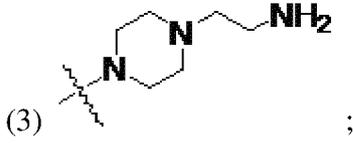
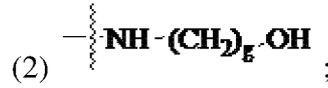
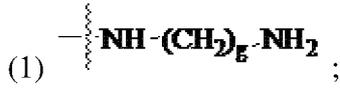
R_{82} представляет собой $-NR_{23}$ или кислород;

c представляет собой целое число от 0 до 3;

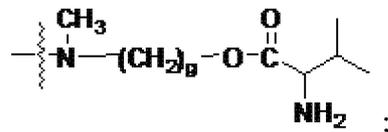
d представляет собой целое число от 1 до 3; и

f представляет собой целое число от 1 до 12.

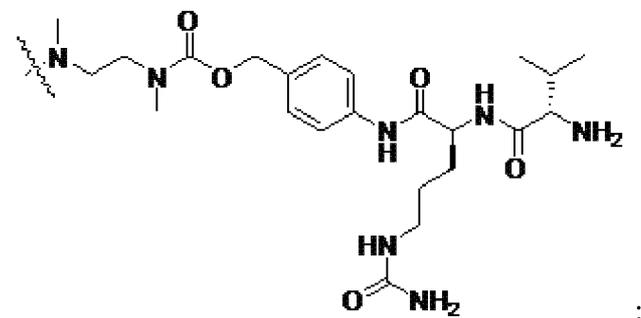
[00509] В некоторых вариантах осуществления R₂₉ представляет собой любую из следующих структур:



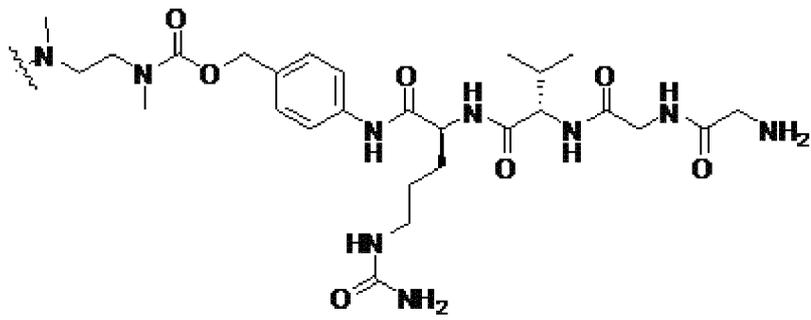
(15)



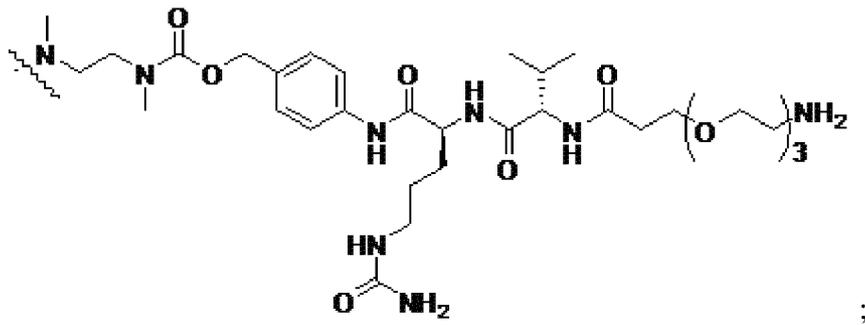
(16)



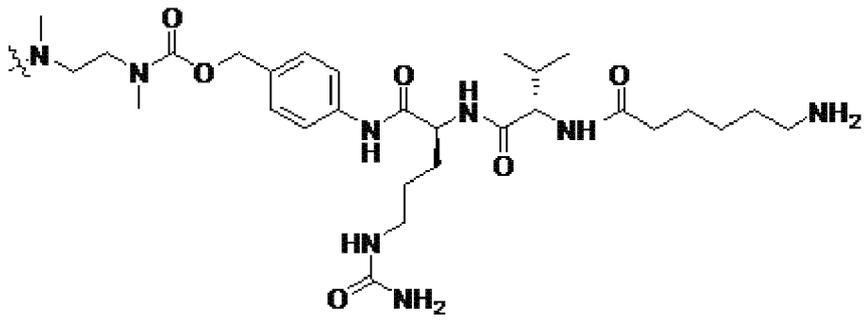
(17)



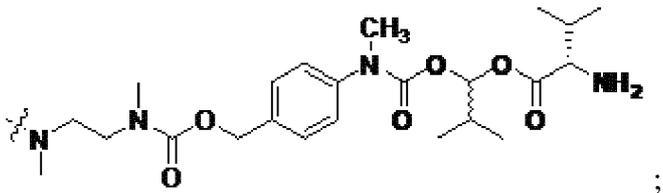
(18)



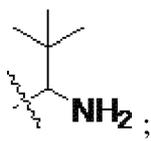
(19)



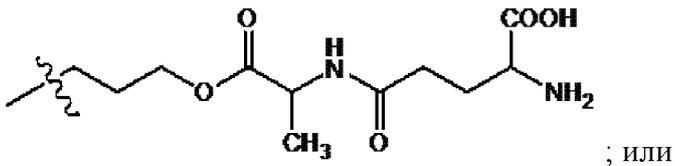
(20)



(21)

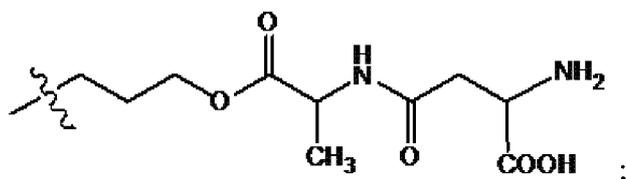


(22)



(23)





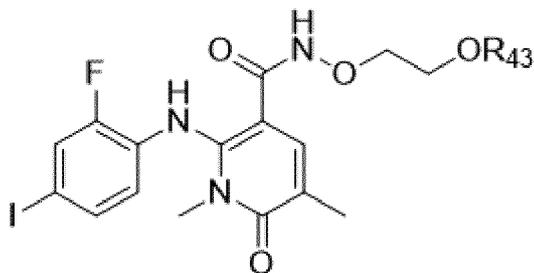
где:

a представляет собой целое число от 1 до 6;

c представляет собой целое число от 0 до 3; и

g представляет собой целое число от 2 до 6.

[00510] В некоторых вариантах осуществления ингибитор МЕК представляет собой соединение формулы (XIV):



(XIV)

где:

R₄₃ представляет собой -H или -R₄₆-R₄₇;

каждый из R₂₀ и R₂₁ независимо представляет собой -H, C₁₋₆алкил, C₆₋₁₀арил, гидроксированный C₆₋₁₀арил, полигидроксированный C₆₋₁₀арил, 5-12-членный гетероцикл, C₃₋₈циклоалкил, гидроксированный C₃₋₈циклоалкил, полигидроксированный C₃₋₈циклоалкил или боковую цепь природной или неприродной аминокислоты;

R₂₂ представляет собой -OH, -NH₂, -COOH, -R₈₂-C(O)(CH₂)_c-C(H)(R₂₃)-N(H)(R₂₃), -R₈₂-C(O)(CH₂)_d-(OCH₂-CH₂)_f-N(H)(R₂₃) или -R₈₂-(C(O)-CH(X²)-NH)_d-R₇₇;

каждый R₂₃ независимо представляет собой -H, C₁₋₆алкил, C₆₋₁₀арил, C₃₋₈циклоалкил, -COOH или -COO-C₁₋₆алкил;

X² представляет собой боковую цепь природной или неприродной аминокислоты;

R₇₇ представляет собой -H, или X² и NR₇₇ образуют азотсодержащее циклическое соединение;

R₈₂ представляет собой -NR₂₃ или кислород;

R₄₆ представляет собой -C(O)-, -C(O)-O-, -C(O)-NH- или отсутствует;

R₄₇ является таким, как определено в данном документе;

a представляет собой целое число от 1 до 6;

c представляет собой целое число от 0 до 3;

d представляет собой целое число от 1 до 3; и

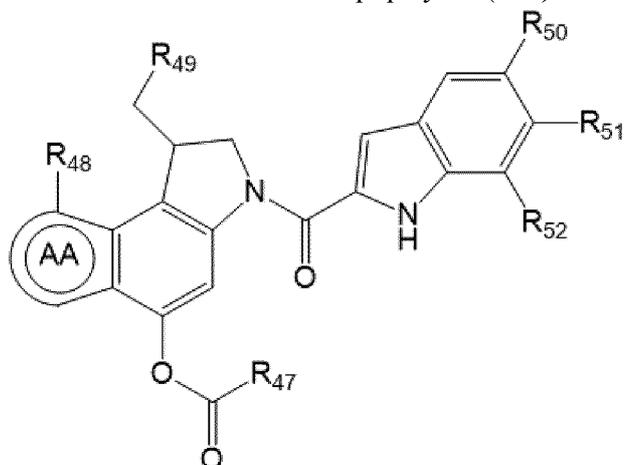
f представляет собой целое число от 1 до 12.

[00511] Дополнительные примеры ингибитора МЕК раскрыты в US 7517994 B2.

[00512] В некоторых вариантах осуществления R₄₃ представляет собой -C(O)-

$(\text{CH}_2)_a\text{-NH}_2$ или $-\text{C}(\text{O})\text{-C}(\text{H})(\text{CH}_3)\text{-(CH}_2)_c\text{-NH}_2$; где a представляет собой целое число от 1 до 6; и c представляет собой целое число от 0 до 3.

[00513] В некоторых вариантах осуществления соединение дуокармицина представляет собой соединение формулы (XV):



(XV),

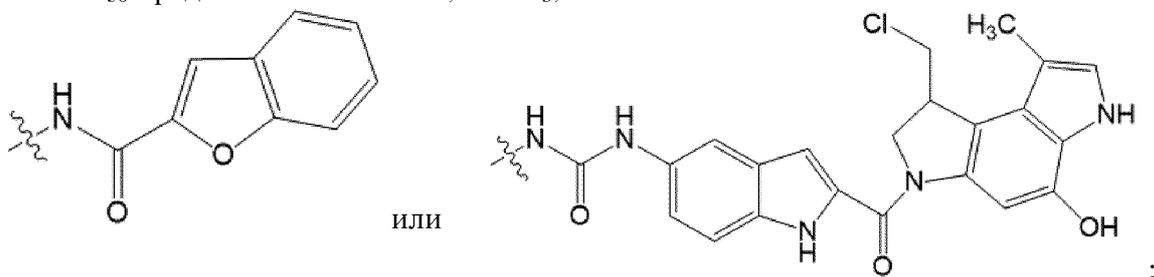
где:

R_{47} является таким, как определено в данном документе;

R_{48} представляет собой водород, $-\text{COOC}_{1-6}$ алкил, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$ или $-\text{CH}_3$;

R_{49} представляет собой Cl, Br или $-\text{OH}$;

R_{50} представляет собой $-\text{H}$, $-\text{OCH}_3$,

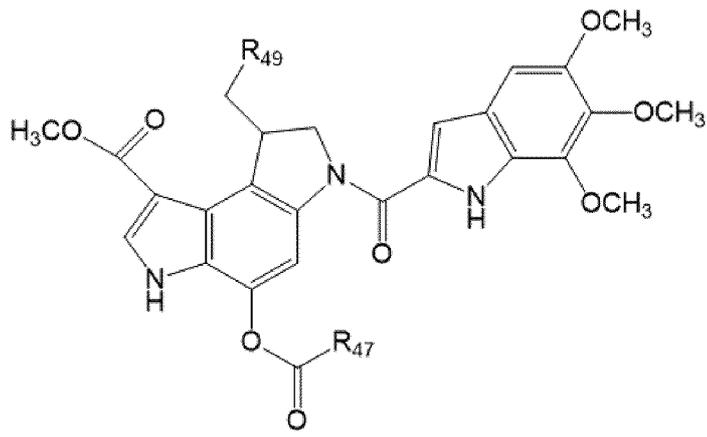


каждый из R_{51} и R_{52} независимо представляет собой $-\text{H}$ или $-\text{OCH}_3$; и

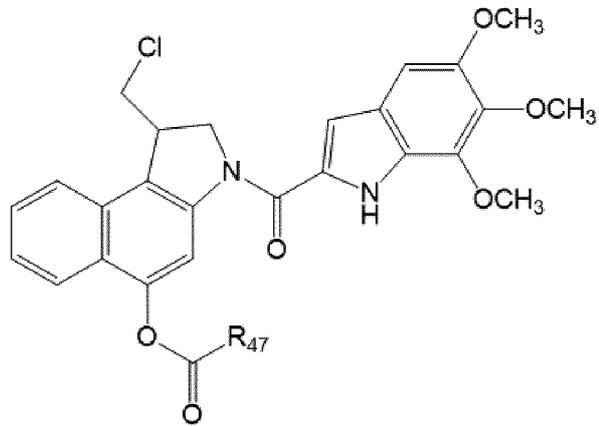
кольцо AA представляет собой либо фенильное, либо пиррольное кольцо.

[00514] Дополнительные примеры соединений дуокармицина раскрыты в US 7553816.

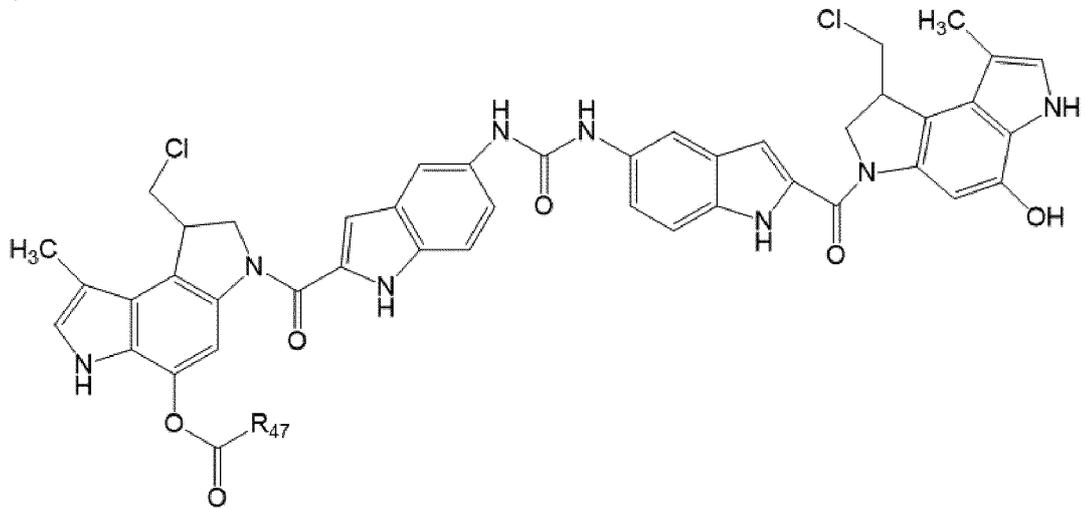
[00515] В некоторых вариантах осуществления соединение дуокармицина формулы (XV) представляет собой соединение формулы (XVI), (XVII), (XVIII) или (XIX):



(XVI)

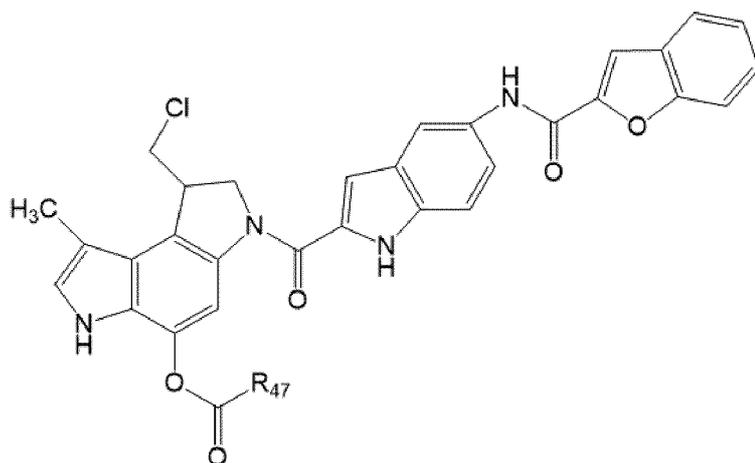


(XVII)



(XVIII)

или

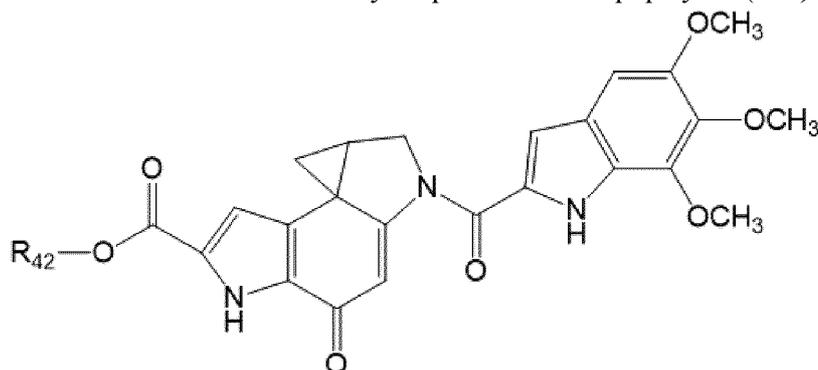


(XIX)

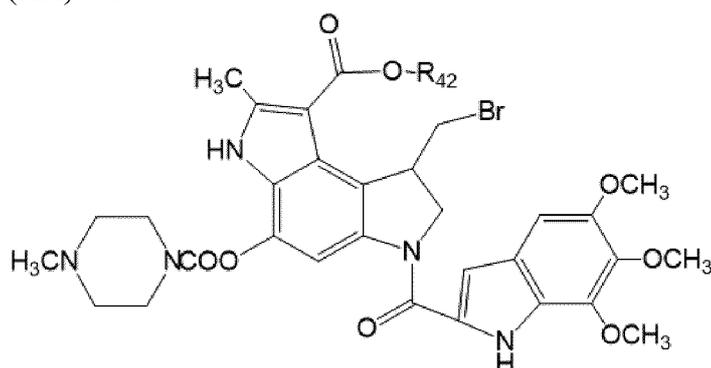
где:

R₄₉ представляет собой Cl, Br или -OH; иR₄₇ является таким, как определено в данном документе.

[00516] В некоторых вариантах осуществления соединение дуокармицина представляет собой соединение дуокармицина SA формулы (XX) или (XXI):



(XX) или



(XXI),

где:

R₄₂ представляет собой C₁₋₆алкиламино или -[C(R₂₀R₂₁)]_a-R₂₂;

каждый из R₂₀ и R₂₁ независимо представляет собой -H, C₁₋₆алкил, C₆₋₁₀арил, гидроксированный C₆₋₁₀арил, полигидроксированный C₆₋₁₀арил, 5-12-членный гетероцикл, C₃₋₈циклоалкил, гидроксированный C₃₋₈циклоалкил,

полигидроксилированный C_{3-8} -циклоалкил или боковую цепь природной или не природной аминокислоты;

R_{22} представляет собой $-OH$, $-NH_2$, $-COOH$, $-R_{82}-C(O)(CH_2)_c-C(H)(R_{23})-N(H)(R_{23})$, $-R_{82}-C(O)(CH_2)_d-(OCH_2-CH_2)_f-N(H)(R_{23})$ или $-R_{82}-(C(O)-CH(X^2)-NH)_d-R_{77}$;

каждый R_{23} независимо представляет собой $-H$, C_{1-6} -алкил, C_{6-10} -арил, C_{3-8} -циклоалкил, $-COOH$ или $-COO-C_{1-6}$ -алкил;

X^2 представляет собой боковую цепь природной или не природной аминокислоты;

R_{77} представляет собой $-H$, или X^2 и NR_{77} образуют азотсодержащее циклическое соединение;

R_{82} представляет собой $-NR_{23}$ или кислород;

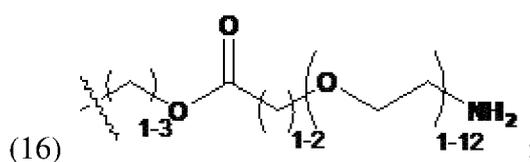
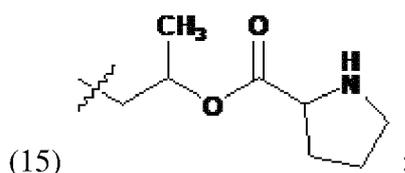
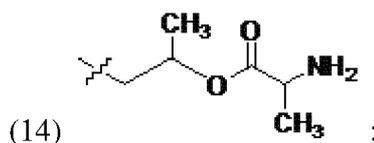
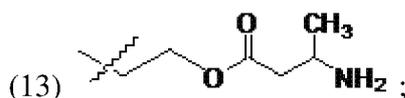
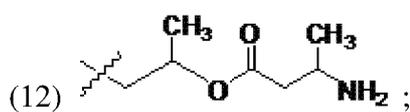
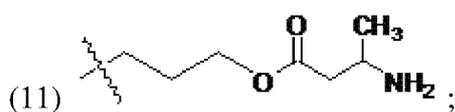
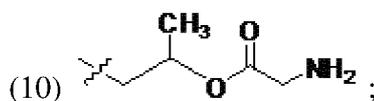
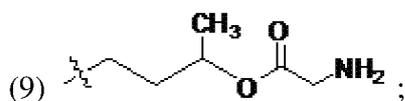
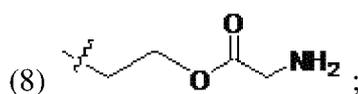
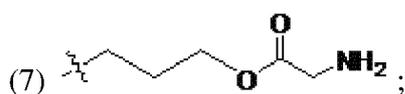
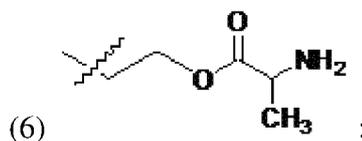
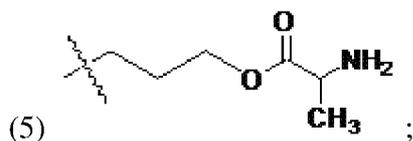
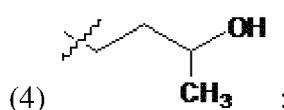
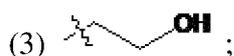
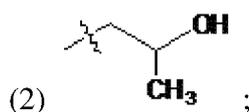
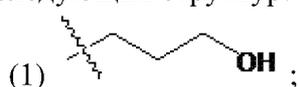
c представляет собой целое число от 1 до 6;

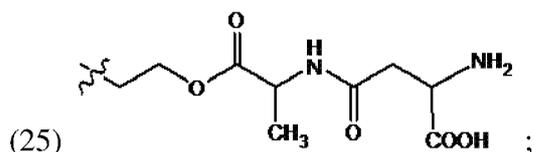
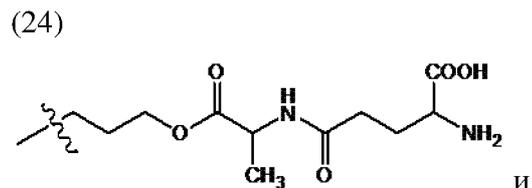
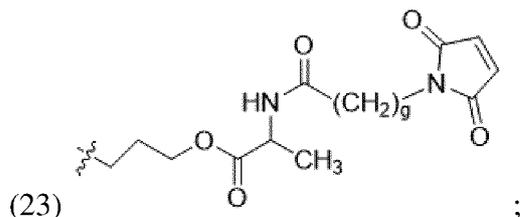
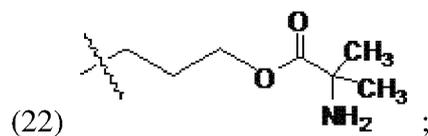
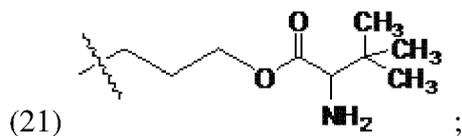
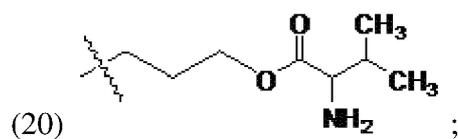
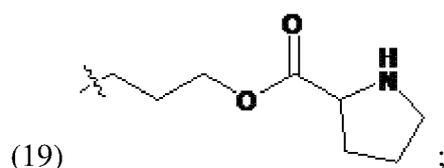
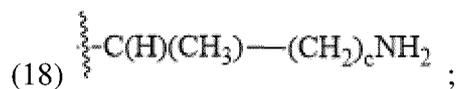
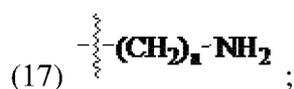
d представляет собой целое число от 0 до 3;

e представляет собой целое число от 1 до 3; и

f представляет собой целое число от 1 до 12.

[00517] В некоторых вариантах осуществления R_{42} представляет собой любую из следующих структур:





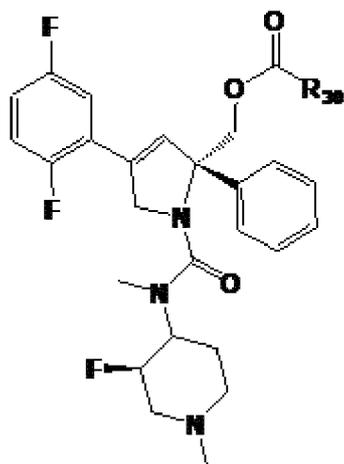
где:

a представляет собой целое число от 1 до 6;

g представляет собой целое число от 2 до 6; и

s представляет собой целое число от 0 до 3.

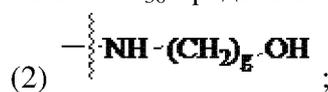
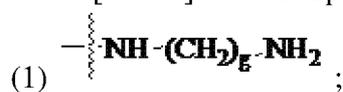
[00518] В некоторых вариантах осуществления соединение ингибитора KSP представляет собой соединение формулы (XXVI):

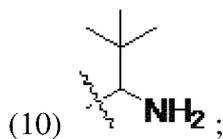
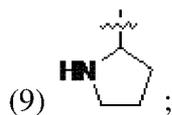
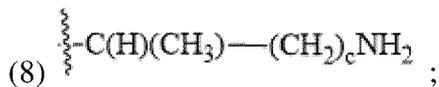
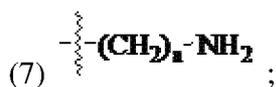
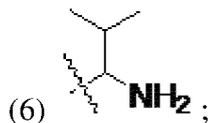
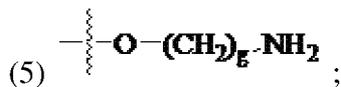
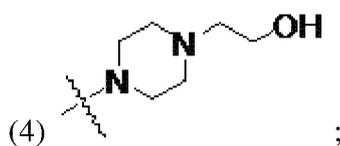
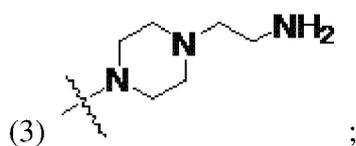


(XXVI)

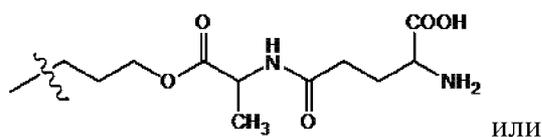
где R₃₀ является таким, как определено в данном документе.

[00519] В некоторых вариантах осуществления R₃₀ представляет собой:

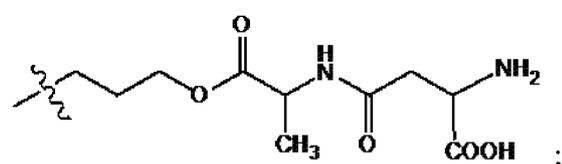




(11)



(12)



где:

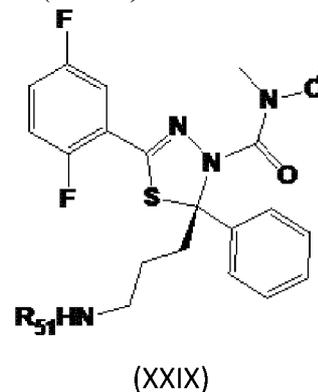
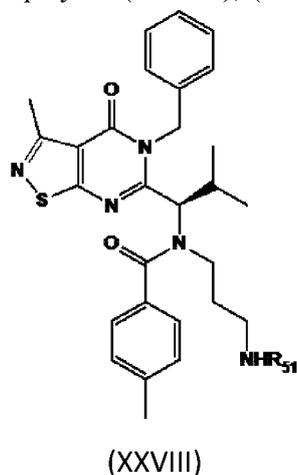
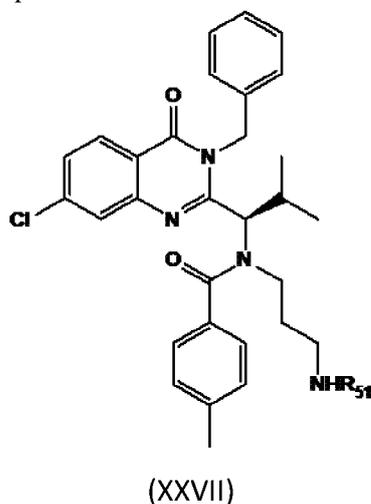
a представляет собой целое число от 1 до 6;

c представляет собой целое число от 0 до 3; и

g представляет собой целое число от 2 до 6.

[00520] В некоторых вариантах осуществления соединение дуокармицина представляет собой дуокармицин А, дуокармицин В1, дуокармицин В2, дуокармицин С1, дуокармицин С2, дуокармицин D, СС-1065, адозелезин, бизелезин или карзелезин. Дополнительные соединения дуокармицина, подходящие для конъюгатов, каркасов и способов по настоящему изобретению, описаны в US 5101038.

[00521] В некоторых вариантах осуществления соединение ингибитора KSP представляет собой соединение формулы (XXVII), (XXVIII) или (XXIX):



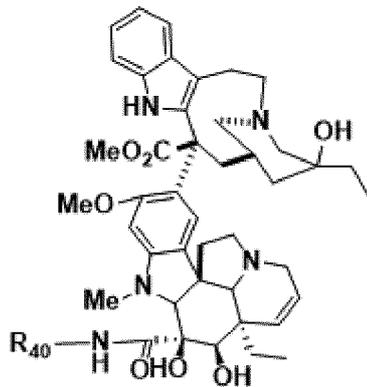
где:

R_{51} представляет собой связь, $-C(O)-(CH_2)-C(O)NH-(CH_2)_2-NH-$, $-C(O)-(CH_2O-CH_2)-C(O)NH-(CH_2)_2-NH-$, или R_{11} является таким, как определено в данном документе.

[00522] Специалисту в данной области терапевтических средств будет понятно, что каждое из терапевтических средств, описанных в данном документе, может быть модифицировано таким образом, чтобы полученное соединение сохраняло специфичность и/или активность исходного соединения. Специалисту в данной области техники будет также понятно, что множество данных соединений может применяться вместо терапевтических средств, описанных в данном документе. Таким образом, терапевтические средства, раскрытые в данном документе, включают аналоги и производные соединений, описанных в данном документе.

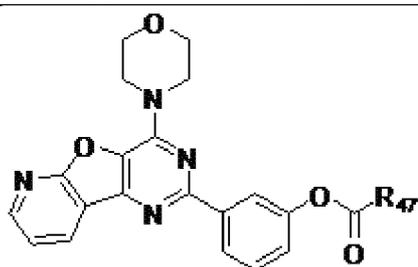
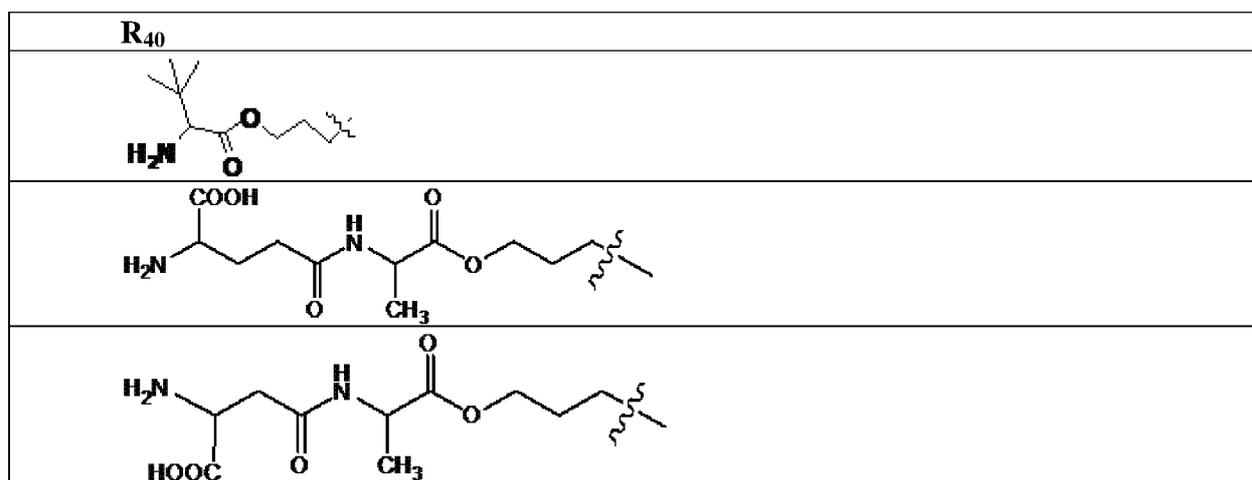
[00523] В таблице А ниже представлено больше примеров терапевтических средств и их производных, подходящих для конъюгации с образованием конъюгатов антитело-лекарственное средство или каркасов, несущих лекарственное средство, по настоящему изобретению. Данные спектрального анализа определенных соединений также представлены (ND в таблице означает «не определено»). Такие примеры могут также представлять собой активную форму лекарственного средства при его высвобождении из конъюгатов *in vitro* или *in vivo*.

Таблица А



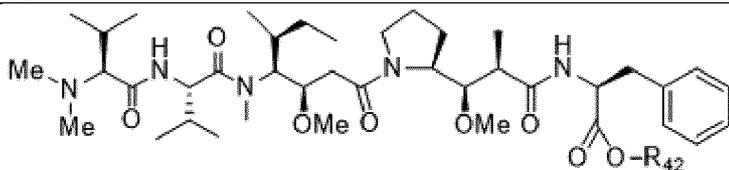
(VI1)

R_{40}



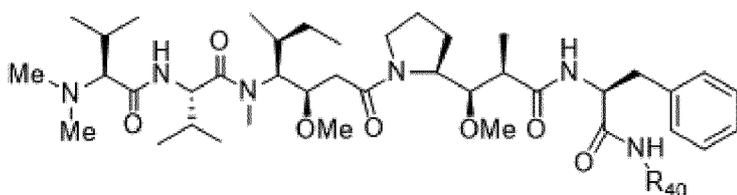
(IX1)

R₄₇	масса/заряд
	ND
	ND
	ND
	ND



(XI)

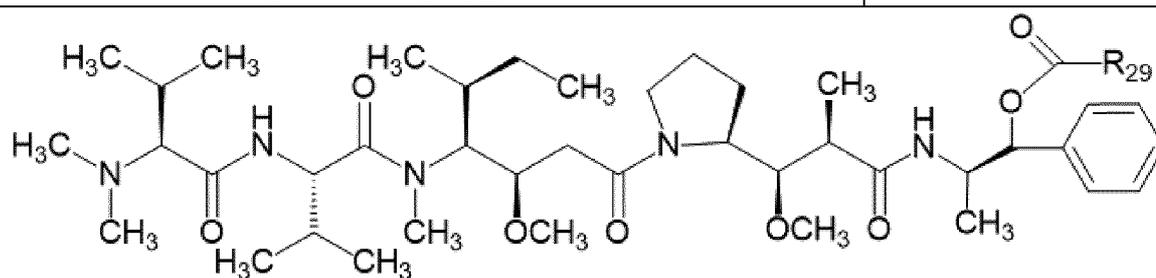
R₄₂	масса/заряд
H	
-CH ₃	760
	802,6
	790
	804



(XII)

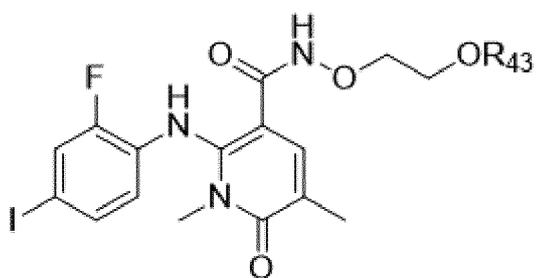
R ₄₀	масса/заряд
-H	
	803,5
	789,1
	974,2
	874,5
	902,2
	ND
	ND
-OH	788
	803,4
	803,4
	874,4
	874,4
	874,4
	874,4
	900,2
	900,2

R_{40}	масса/заряд
	900,5
	900,5
	1016,6
	989,5
	975,5



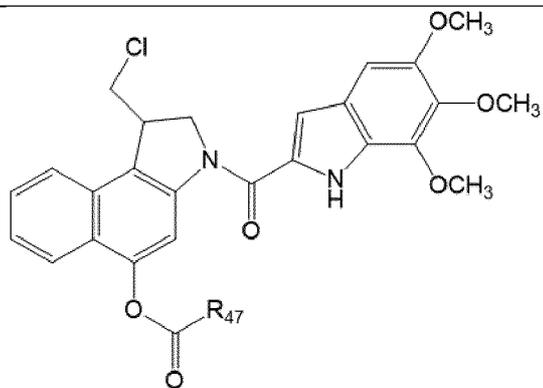
(XIII)

$-C(O)-R_{29}$	масса/заряд
	903,2
	803,1
	790
	832,6
	829,1
	802



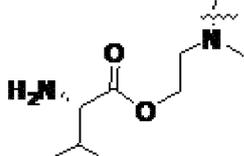
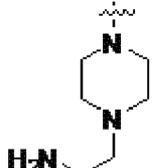
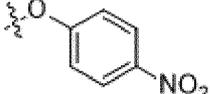
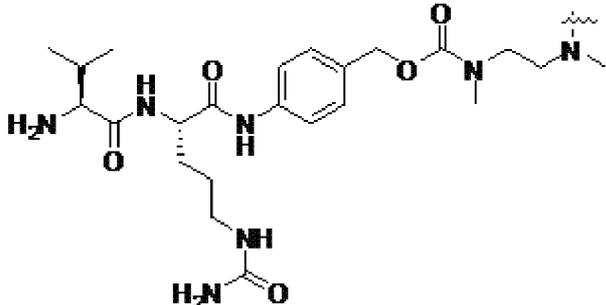
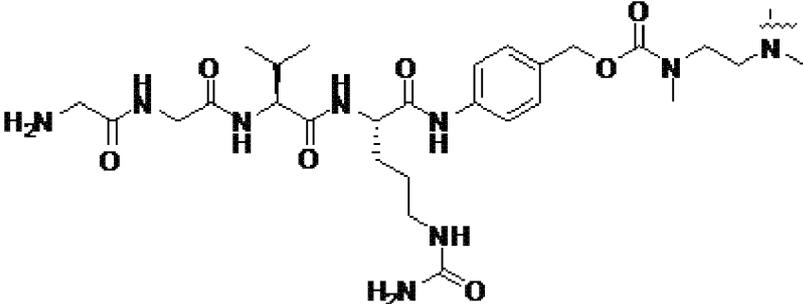
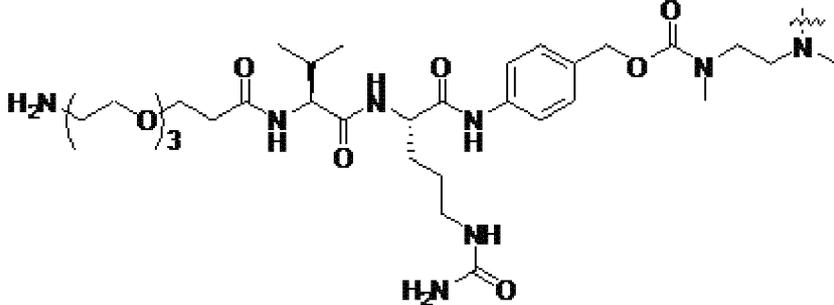
(XIV)

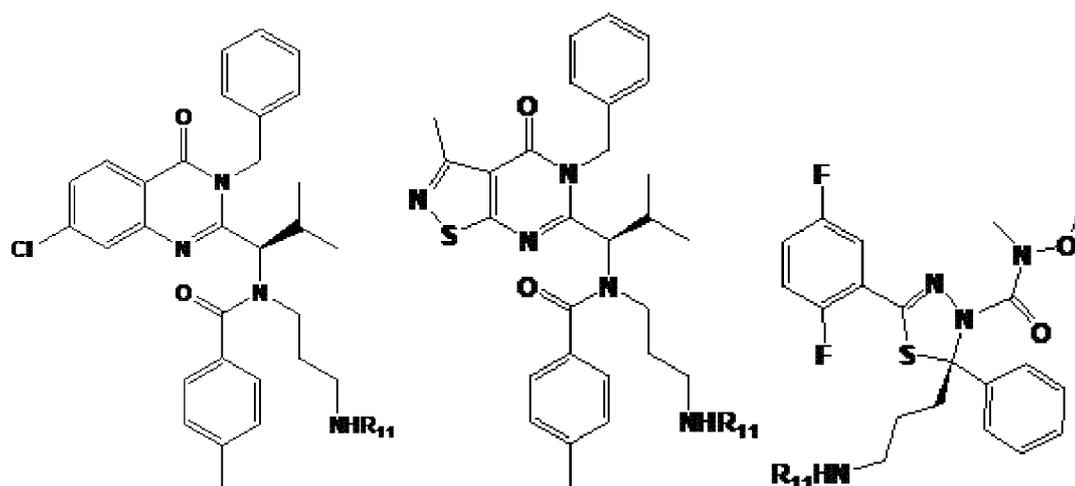
R ₄₃	масса/заряд
	ND
	644,9



(XVII)

R ₄₇	масса/заряд
	553,1
	538,1
	564,1
	566,1
	568,1
	ND
	ND

R ₄₇	масса/заряд
	667,2
	622,2
	632,02
	986,2
	ND
	ND



(XXVII) (XXVIII) (XXIX)

R_{11}	масса/заряд (XXVII)
	922,3
	732,2
	ND
	ND
	ND

R ₁₁	масса/заряд (XXVII)
	ND

Гидрофильная группа или T¹

[00524] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа, включенная в конъюгаты или каркасы по настоящему изобретению представляет собой водорастворимый и по сути не обладающий антигенными свойствами полимер. Примеры гидрофильной группы включают без ограничения многоатомные спирты, полиэфиры, полианионы, поликатионы, полифосфорные кислоты, полиамины, полисахариды, полигидроксисоединения, полилизины и их производные. В некоторых вариантах осуществления один конец гидрофильной группы может быть функционализирован таким образом, чтобы он мог быть ковалентно присоединен к многофункциональному линкеру или линкеру M^A (например, к аминокислоте в линкере M^A) с помощью нерасщепляемой связи или посредством расщепляемой связи. В некоторых вариантах осуществления функционализация может осуществляться, например, посредством аминовой, тиольной, сложноэфирной NHS, малеимидной, алкиновой, азидной, карбонильной или другой функциональной группы. В некоторых вариантах осуществления другой конец (или концы) гидрофильной группы является свободным и несвязанным. В некоторых вариантах осуществления термин «несвязанный» означает, что гидрофильная группа не является присоединенной к другому фрагменту, такому как D или звено, представляющее собой лекарственное средство, звено, обеспечивающее возможность высвобождения, или другим компонентам конъюгатов или каркасов по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления свободный и несвязанный конец гидрофильной группы может содержать метокси, карбоновую кислоту, спирт или другую подходящую функциональную группу. В некоторых вариантах осуществления метокси, карбоновая кислота, спирт, или другая подходящая функциональная группа выполняют функцию кэпа в отношении конца или концов гидрофильной группы.

[00525] В некоторых вариантах осуществления расщепляемая связь относится к связи, которая не является по сути чувствительной к расщеплению во время

циркулирования в плазме крови, но является чувствительной к расщеплению во внутриклеточной или внутриопухолевой среде. В некоторых вариантах осуществления нерасщепляемая связь представляет собой такую связь, которая не является по сути чувствительной к расщеплению в любой биологической среде. В некоторых вариантах осуществления химический гидролиз гидразона, восстановление дисульфида и ферментативное расщепление пептидной связи или гликозидной связи представляют собой примеры расщепляемых связей. В некоторых вариантах осуществления иллюстративное присоединение гидрофильной группы осуществляется посредством амидных связей, эфирных связей, сложноэфирных связей, гидразоновых связей, оксимных связей, дисульфидных связей, пептидных связей или триазольных связей. В некоторых вариантах осуществления присоединение гидрофильной группы к многофункциональному линкеру или линкеру M^A (например, к аминокислоте в линкере M^A) осуществляется посредством амидной связи.

[00526] В некоторых вариантах осуществления, где конъюгат или каркас по настоящему изобретению содержит более чем одну гидрофильную группу, несколько гидрофильных групп могут представлять собой одинаковые или отличные химические фрагменты (например, гидрофильные группы с разной молекулярной массой, числом субъединиц или химической структурой). В некоторых вариантах осуществления несколько гидрофильных групп могут быть присоединены к многофункциональному линкеру или линкеру M^A в одном сайте присоединения или в разных сайтах.

[00527] В некоторых вариантах осуществления добавление гидрофильной группы может оказывать два потенциальных вида влияния на фармакокинетические свойства полученного конъюгата. В некоторых вариантах осуществления требуемый тип воздействия представляет собой снижение клиренса (и, как следствие, повышение времени воздействия), которое возникает в результате снижения количества неспецифических взаимодействий, индуцированных открытыми гидрофобными элементами лекарственного средства или лекарственного средства с линкером. В некоторых вариантах осуществления нежелательное влияние представляет собой снижение объема и скорости распределения, которое может возникать в результате увеличения молекулярной массы конъюгата. В некоторых вариантах осуществления увеличение молекулярной массы гидрофильной группы приводит к увеличению гидродинамического радиуса конъюгата, что в результате приводит к снижению способности к диффузии, что может снижать способность конъюгата проникать в опухоль. По причине наличия данных двух конкурирующих фармакокинетических эффектов желательным может быть применение гидрофильной группы, которая является достаточно крупной, чтобы снижать клиренс конъюгата и, таким образом, повышать содержание в плазме крови, но не настолько крупной, чтобы значительно снижать его способность к диффузии, что может снижать способность конъюгата достигать предполагаемой целевой популяции клеток.

[00528] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа включает без

ограничения сахарный спирт (также известный как многоатомный спирт, полиспирт, альдит или глицит, такой как инозитол, глицерин, эритрит, треит, арабит, ксилит, рибит, галактит, маннит, сорбит и т. п.) или его производное (например, многоатомный аминспирт), углевод (например, сахарид), поливиниловый спирт, полимер на основе углевода (например, декстраны), гидроксипропилметакриламид (HPMA), полиалкиленоксид и/или его сополимер.

[00529] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит множество гидроксильных («-ОН») групп, таких как фрагменты, которые включают моносахариды, олигосахариды, полисахариды и т. п. В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит ряд групп $-(CR_{58}OH)-$, где R_{58} представляет собой -H или C_{1-8} алкил.

[00530] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит один или более из следующих фрагментов формулы: $\frac{\xi}{2}NH-R_{60}-(CR_{58}OH)_{n_1}-R_{61}$, где:

n_1 представляет собой целое число от 0 до приблизительно 6;

каждый R_{58} независимо представляет собой -H или C_{1-8} алкил;

R_{60} представляет собой связь, C_{1-6} алкильный линкер или $-CHR_{59}-$, где R_{59} представляет собой -H, C_{1-8} алкил, циклоалкил или арилалкил;

R_{61} представляет собой CH_2OR_{62} , $COOR_{62}$, $-(CH_2)_{n_2}COOR_{62}$ или гетероциклоалкил, замещенный одним или более гидроксилами;

R_{62} представляет собой -H или C_{1-8} алкил; и

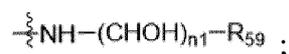
n_2 представляет собой целое число от 1 до приблизительно 5.

[00531] В некоторых вариантах осуществления R_{58} представляет собой -H; R_{60} представляет собой связь или C_{1-6} алкильный линкер; n_1 представляет собой целое число от 1 до приблизительно 6; и R_{61} представляет собой CH_2OH или $COOH$. В некоторых вариантах осуществления R_{58} представляет собой -H; R_{60} представляет собой $-CHR_{59}-$; n_1 равняется 0; и R_{61} представляет собой гетероциклоалкил, замещенный одним или более гидроксилами, например, моносахаридом.

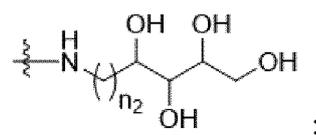
[00532] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит глюкозиламин, диамин или триамин.

[00533] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит один или более из следующих фрагментов или их стереоизомеров:

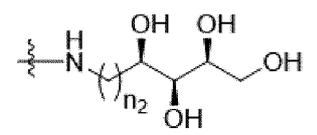
(1)



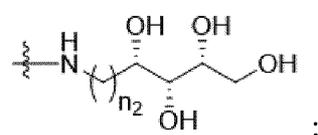
(2)



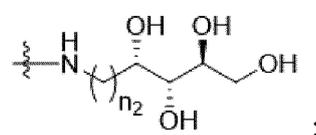
(3)



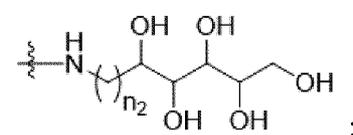
(4)

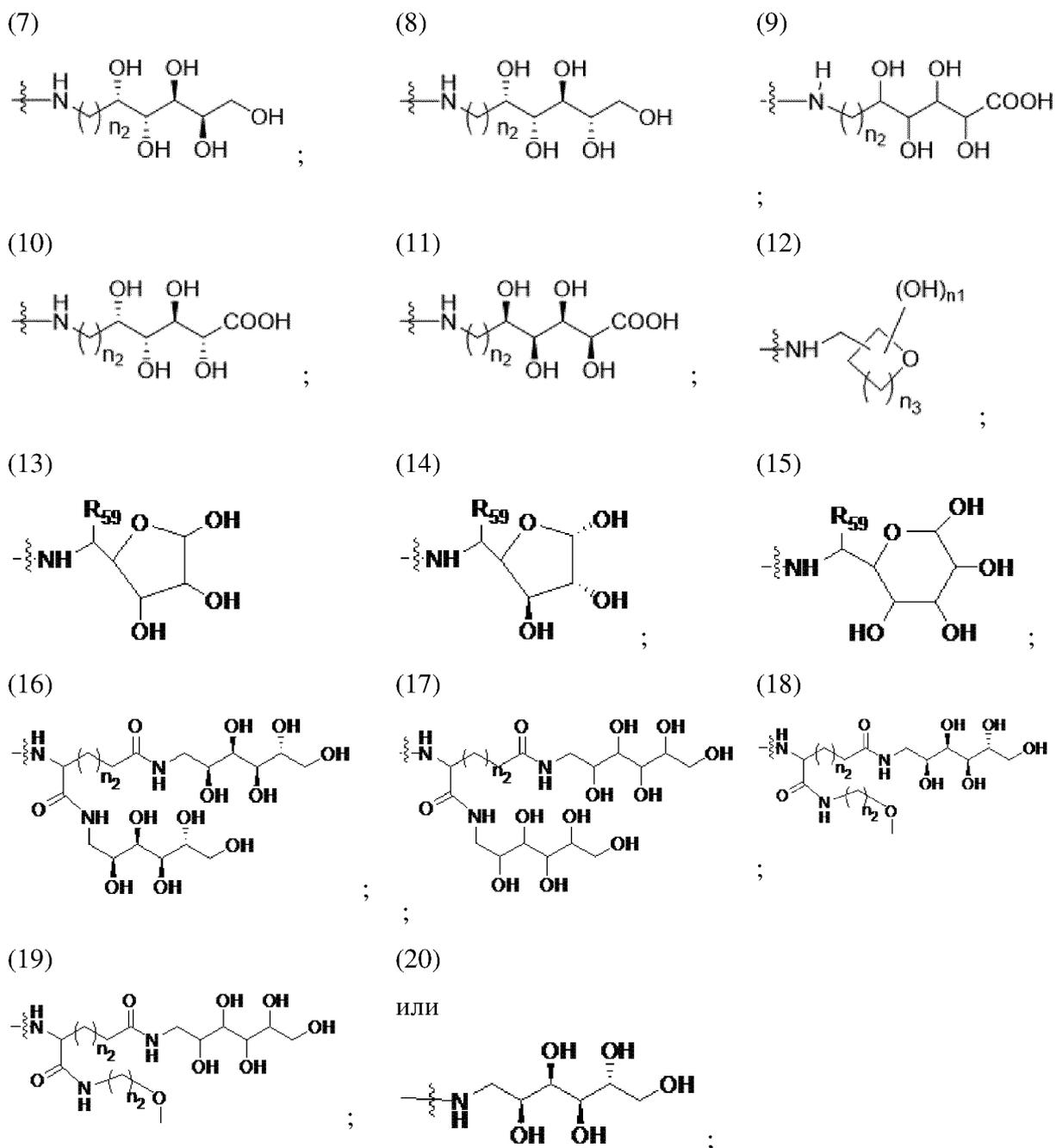


(5)



(6)





где:

R_{59} представляет собой -H, C_{1-8} алкил, циклоалкил или арилалкил;

n_1 представляет собой целое число от 1 до приблизительно 6;

n_2 представляет собой целое число от 1 до приблизительно 5; и

n_3 представляет собой целое число от приблизительно 1 до приблизительно 3.

[00534] Следует понимать, что в данном документе предусмотрены все стереохимические формы гидрофильных групп. Например, в вышеуказанной формуле гидрофильная группа может быть получена из рибозы, ксилозы, глюкозы, маннозы, галактозы или другого сахара и сохраняет стереохимические группировки боковых гидроксильных и алкильных групп, присутствующих на этих молекулах. Следует понимать, что в некоторых вариантах осуществления в вышеуказанных формулах также предусмотрены различные дезоксисоединения. В качестве иллюстрации, одна или более

из следующих характеристик предусмотрены в отношении гидрофильных групп, где это применимо:

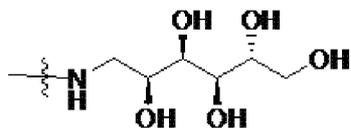
[00535] В некоторых вариантах осуществления n_3 равняется 2 или 3.

[00536] В некоторых вариантах осуществления n_1 равняется 1, 2 или 3.

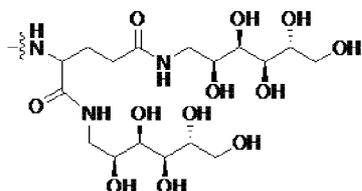
[00537] В некоторых вариантах осуществления n_2 равняется 1.

[00538] В некоторых вариантах осуществления R_{59} представляет собой водород.

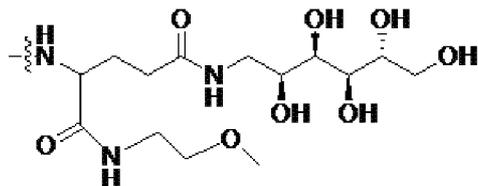
[00539] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит:



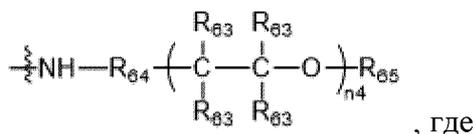
[00540] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит:



[00541] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит:



[00542] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит



n_4 представляет собой целое число от 1 до приблизительно 25;

каждый R_{63} независимо представляет собой -H или C_{1-8} -алкил;

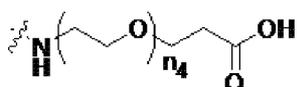
R_{64} представляет собой связь или C_{1-8} -алкильный линкер;

R_{65} представляет собой -H, C_{1-8} -алкил или $-(CH_2)_{n_2}COOR_{62}$;

R_{62} представляет собой -H или C_{1-8} -алкил; и

n_2 представляет собой целое число от 1 до приблизительно 5.

[00543] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит:



[00544] В некоторых вариантах осуществления n_4 представляет собой целое число от приблизительно 2 до приблизительно 20, от приблизительно 4 до приблизительно 16, от приблизительно 6 до приблизительно 12 или от приблизительно 8 до приблизительно 12.

[00545] В некоторых вариантах осуществления n_4 представляет собой целое число от приблизительно 2 до приблизительно 20. В некоторых вариантах осуществления n_4 представляет собой целое число от приблизительно 4 до приблизительно 16. В некоторых вариантах осуществления n_4 представляет собой целое число от приблизительно 6 до приблизительно 12. В некоторых вариантах осуществления n_4 представляет собой целое число от приблизительно 8 до приблизительно 12.

[00546] В некоторых вариантах осуществления n_4 равняется 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12.

[00547] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит полиэфир, например, полиалкиленгликоль (РАО). РАО включает без ограничения полимеры низших алкиленоксидов, в частности, полимеры этиленоксида, такие как, например, пропиленоксид, полипропиленгликоли, полиэтиленгликоль (PEG), полиоксиэтиленированные полиолы, их сополимеры и их блок-сополимеры. В других вариантах осуществления полиалкиленгликоль представляет собой полиэтиленгликоль (PEG), включающий без ограничения полидисперсный PEG, монодисперсный PEG и дискретный PEG. Полидисперсные PEG представляют собой неоднородную смесь размеров и молекулярных масс, при этом монодисперсные PEG, как правило, являются выделенными из неоднородных смесей посредством очистки и, следовательно, предусматривают одну длину цепи и молекулярную массу. В некоторых вариантах осуществления звенья PEG представляют собой дискретные PEG и предусматривают одну молекулу с определенной и заданной длиной цепи. В некоторых вариантах осуществления полиэтиленгликоль представляет собой mPEG.

[00548] В некоторых вариантах осуществления гидрофильная группа содержит звено PEG, которое содержит одну или несколько цепей PEG. Цепи PEG могут быть связаны вместе, например, в линейной, разветвленной или звездообразной конфигурации. Звено PEG в дополнение к содержанию повторяющихся субъединиц PEG может также содержать материал, отличный от PEG (например, для обеспечения спаривания нескольких цепей PEG друг с другом или для обеспечения спаривания с аминокислотой). Материал, отличный от PEG, относится к атомам в цепи PEG, которые не являются частью повторяющейся субъединицы $-CH_2CH_2O-$. В некоторых вариантах осуществления цепь PEG может содержать две мономерных цепи PEG, связанных друг с другом посредством элементов, отличных от PEG. В некоторых вариантах осуществления звено PEG может содержать линейные цепи PEG, присоединенные к центральной сердцевине, которая присоединена к аминокислоте (т. е. звено PEG само по себе является разветвленным).

[00549] Звено PEG может быть ковалентно связано с многофункциональным линкером или линкером M^A (например, с аминокислотой в линкере M^A) посредством реакционноспособной группы. Реакционноспособные группы представляют собой группы, с которыми может быть связана активированная молекула PEG (например, свободная аминогруппа или карбоксильная группа). В некоторых вариантах осуществления N-концевые аминокислоты и лизины (K) содержат свободную

аминогруппу и С-концевые аминокислотные остатки содержат свободную карбоксильную группу. Сульфгидрильные группы (например, находящиеся на цистеиновых остатках) могут также применяться в качестве реакционноспособной группы для присоединения PEG.

[00550] В некоторых вариантах осуществления звено PEG может быть присоединено к многофункциональному линкеру или линкеру M^A (например, к аминокислоте в линкере M^A) с помощью метоксилированного PEG («mPEG»), содержащего разные реакционноспособные фрагменты, включающие без ограничения сукцинимидилсукцинат (SS), сукцинимидилкарбонат (SC), mPEG-имидат, пара-нитрофенилкарбонат (NPC), сукцинимидилпропионат (SPA) и цианурхлорид. Примеры mPEG включают без ограничения mPEG-сукцинимидилсукцинат (mPEG-SS), mPEG₂-сукцинимидилсукцинат (mPEG₂-SS), mPEG-сукцинимидилкарбонат (mPEG-SC), mPEG₂-сукцинимидилкарбонат (mPEG₂-SC), mPEG-имидат, mPEG-пара-нитрофенилкарбонат (mPEG-NPC), mPEG-имидат, mPEG₂-пара-нитрофенилкарбонат (mPEG₂-NPC), mPEG-сукцинимидилпропионат (mPEG-SPA), mPEG₂-сукцинимидилпропионат (mPEG₂-SPA), mPEG-N-гидроксисукцинимид (mPEG-NHS), mPEG₂-N-гидроксисукцинимид (mPEG₂-NHS), mPEG-цианурхлорид, mPEG₂-цианурхлорид, mPEG₂-лизинол-NPC и mPEG₂-Lys-NHS. Может использоваться широкое разнообразие видов PEG, и может применяться по сути любой подходящий реакционноспособный реактив PEG. В некоторых вариантах осуществления применение реакционноспособного реактива PEG приводит к образованию карбаматной или амидной связи при присоединении к многофункциональному линкеру или линкеру M^A (например, к аминокислоте в линкере M^A). Реакционноспособные реактивы PEG включают без ограничения mPEG₂-N-гидроксисукцинимид (mPEG₂-NHS), бифункциональный пропиональдегид PEG (mPEG₂-ALD), многоцепочечный PEG, малеимидосодержащий PEG (mPEG(MAL)₂, mPEG₂(MAL)), mPEG-NH₂, mPEG-сукцинимидилпропионат (mPEG-SPA), сукцинимид mPEG-масляной кислоты (mPEG-SBA), mPEG-тиоэфиры, двойные сложные эфиры mPEG, mPEG-BTC, mPEG-ButyrALD, mPEG-ацетальдегид диэтилацеталя (mPEG-ACET), гетерофункциональные PEG (например, NH₂-PEG-COOH, Вос-PEG-NHS, Fmoc-PEG-NHS, NHS-PEG-винилсульфон (NHS-PEG-VS) или NHS-PEG-MAL), акрилаты PEG (ACRL-PEG-NHS), PEG-фосфолипиды (например, mPEG-DSPE), многоцепочечные PEG серий SUNBRITE™, включающие PEG на основе глицерина, активированные химией, выбранной специалистом в данной области техники, любые PEG, активированные SUNBRITE (включающие без ограничения карбоксил-PEG, p-NP-PEG, Tresyl-PEG, альдегидные PEG, ацеталь-PEG, amino-PEG, тиол-PEG, малеимидо-PEG, гидроксил-PEG-амин, amino-PEG-COOK гидроксил-PEG-альдегид, PEG типа ангидрида карбоновой кислоты, функционализированный PEG-фосфолипид и другие подобные и/или подходящие реакционноспособные PEG.

[00551] В некоторых вариантах осуществления звено PEG содержит по меньшей мере 6 субъединиц, по меньшей мере 7 субъединиц, по меньшей мере 8 субъединиц, по

меньшей мере 23 субъединицы или по меньшей мере 24 субъединицы. В некоторых вариантах осуществления звено PEG содержит в общей сложности по меньшей мере 6 субъединиц, по меньшей мере 8, по меньшей мере 10 субъединиц или по меньшей мере 12 субъединиц. В некоторых таких вариантах осуществления звено PEG содержит не более чем в общей сложности приблизительно 72 субъединицы. В некоторых таких вариантах осуществления звено PEG содержит не более чем в общей сложности приблизительно 36 субъединиц.

[00558] В некоторых вариантах осуществления звено PEG содержит в общей сложности 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 или 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 субъединиц.

[00559] В некоторых вариантах осуществления звено PEG содержит одну или более линейных цепей PEG, содержащих в общей сложности 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 или 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 субъединиц.

[00560] В некоторых вариантах осуществления звено PEG представляет собой дериватизированную линейную одиночную цепь PEG, содержащую по меньшей мере 2 субъединицы, по меньшей мере 3 субъединицы, по меньшей мере 4 субъединицы, по меньшей мере 5 субъединиц, по меньшей мере 6 субъединиц, по меньшей мере 7 субъединиц, по меньшей мере 8 субъединиц, по меньшей мере 9 субъединиц, по меньшей мере 10 субъединиц, по меньшей мере 11 субъединиц, по меньшей мере 12 субъединиц, по меньшей мере 13 субъединиц, по меньшей мере 14 субъединиц, по меньшей мере 15 субъединиц, 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.

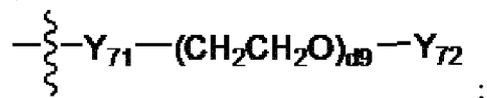
[00561] В некоторых вариантах осуществления звено PEG представляет собой дериватизированную линейную одиночную цепь PEG, содержащую от 6 до 72, от 6 до 60, от 6 до 48, от 6 до 36 или от 6 до 24 субъединиц; от 7 до 72, от 7 до 60, от 7 до 48, от 7 до 36 или от 7 до 24 субъединиц; от 8 до 72, от 8 до 60, 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 субъединиц.

[00562] В некоторых вариантах осуществления звено PEG представляет собой дериватизированную линейную одиночную цепь PEG, содержащую от 2 до 72, от 2 до 60, от 2 до 48, от 2 до 36 или от 2 до 24 субъединиц; от 3 до 72, от 3 до 60, от 3 до 48, от 3 до 36 или от 3 до 24 субъединиц; от 3 до 72, от 3 до 60, от 3 до 48, от 3 до 36 или от 3 до 24 субъединиц; от 4 до

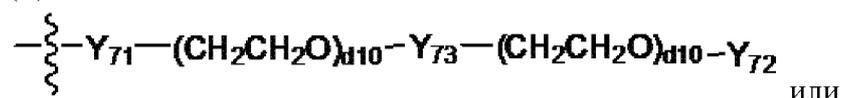
72, от 4 до 60, от 4 до 48, от 4 до 36 или от 4 до 24 субъединиц; или от 5 до 72, от 5 до 60, от 5 до 48, от 5 до 36 или от 5 до 24 субъединиц.

[00563] В некоторых вариантах осуществления линейное звено PEG представляет собой:

(i)

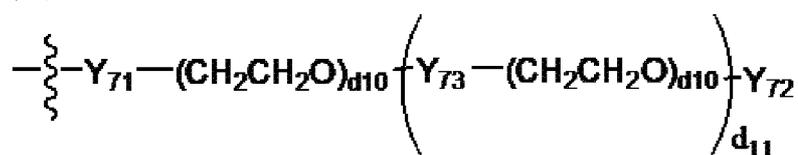


(ii)



или

(iii),



где



обозначает сайт присоединения к многофункциональному линкеру или линкеру

M^A (например, к аминокислоте в линкере M^A);

Y_{71} представляет собой звено присоединения PEG;

Y_{72} представляет собой звено кэпирования PEG;

Y_{73} представляет собой звено спаривания PEG (т. е. для спаривания вместе нескольких цепей, состоящих из субъединиц PEG);

d_9 представляет собой целое число от 2 до 72;

каждый d_{10} независимо представляет собой целое число от 1 до 72.

d_{11} представляет собой целое число от 2 до 5.

[00564] В некоторых вариантах осуществления d_9 представляет собой целое число от 2 до 72. В некоторых вариантах осуществления d_9 представляет собой целое число от 4 до 72. В некоторых вариантах осуществления d_9 представляет собой целое число от 6 до 72, от 8 до 72, от 10 до 72, от 12 до 72 или от 6 до 24.

[00565] В некоторых вариантах осуществления d_9 представляет собой целое число от 6 до 72. В некоторых вариантах осуществления d_9 представляет собой целое число от 8 до 72. В некоторых вариантах осуществления d_9 представляет собой целое число от 10 до 72. В некоторых вариантах осуществления d_9 представляет собой целое число от 12 до 72. В некоторых вариантах осуществления d_9 представляет собой целое число от 6 до 24.

[00566] В некоторых вариантах осуществления в звене PEG содержится по меньшей мере 6 субъединиц PEG. В некоторых вариантах осуществления в звене PEG содержится не более чем 72 или 36 субъединиц PEG.

[00567] В некоторых вариантах осуществления в звене PEG содержится по

меньшей мере 8 субъединиц PEG. В некоторых вариантах осуществления в звене PEG содержится по меньшей мере 10 субъединиц PEG. В некоторых вариантах осуществления в звене PEG содержится по меньшей мере 12 субъединиц PEG.

[00568] В некоторых вариантах осуществления, d_9 равняется 8, или приблизительно 8, 12, или приблизительно 12, 24, или приблизительно 24.

[00569] В некоторых вариантах осуществления каждый Y_{72} независимо представляет собой $-C_{1-10}$ алкил, $-C_{2-10}$ алкил- CO_2H , $-C_{2-10}$ алкил- OH , $-C_{2-10}$ алкил- NH_2 , $-C_{2-10}$ алкил- $NH(C_{1-3}$ алкил) или C_{2-10} алкил- $N(C_{1-3}$ алкил) $_2$.

[00570] В некоторых вариантах осуществления Y_{72} представляет собой $-C_{1-10}$ алкил, $-C_{2-10}$ алкил- CO_2H , $-C_{2-10}$ алкил- OH или $-C_{2-10}$ алкил- NH_2 .

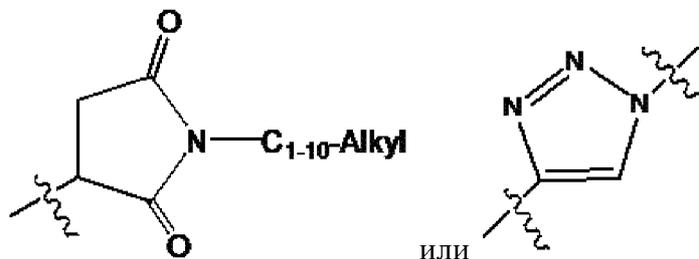
[00571] В некоторых вариантах осуществления звено спаривания PEG представляет собой часть звена PEG и представляет собой материал, отличный от PEG, который соединяет две или более цепей повторяющихся субъединиц CH_2CH_2O -. В некоторых вариантах осуществления звено спаривания PEG Y_{73} представляет собой $-C_{2-10}$ алкил- $C(O)-NH-$, $-C_{2-10}$ алкил- $NH-C(O)-$, $-C_{2-10}$ алкил- $NH-$, $-C_{2-10}$ алкил- $C(O)-$, $-C_{2-10}$ алкил- $O-$ или $-C_{2-10}$ алкил- $S-$.

[00572] В некоторых вариантах осуществления каждый Y_{73} независимо представляет собой $-C_{1-10}$ алкил- $C(O)-NH-$, $-C_{1-10}$ алкил- $NH-C(O)-$, $-C_{2-10}$ алкил- $NH-$, $-C_{2-10}$ алкил- $O-$, $-C_{1-10}$ алкил- $S-$ или $-C_{1-10}$ алкил- $NH-$.

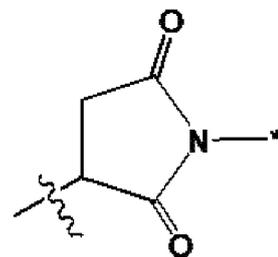
[00573] В некоторых вариантах осуществления звено присоединения PEG представляет собой часть звена PEG и связывает звено PEG с многофункциональным линкером или линкером M^A (например, с аминокислотой в линкере M^A). В некоторых вариантах осуществления аминокислота содержит функциональную группу, которая образует связь со звеном PEG. В некоторых вариантах осуществления функциональные группы для присоединения звена PEG к аминокислоте включают сульфгидрильные группы для образования дисульфидных связей или тиоэфирных связей, альдегидные, кетонные или гидразиновые группы для образования гидразоновых связей, гидроксилы для образования оксимных связей, карбоксильные или аминогруппы для образования пептидных связей, карбоксильные или гидроксигруппы для образования сложноэфирных связей, сульфоновые кислоты для образования сульфонамидных связей, спирты для образования карбаматных связей и амины для образования сульфонамидных связей, или карбаматных связей, или амидных связей. В некоторых вариантах осуществления звено PEG может быть присоединено к аминокислоте, например, посредством дисульфидной, тиоэфирной, гидразоновой, оксимной, пептидной, сложноэфирной, сульфонамидной, карбаматной или амидной связи. В некоторых вариантах осуществления реакция для присоединения звена PEG может представлять собой реакцию циклоприсоединения, присоединения, присоединения/элиминации или замещения, или их комбинацию, если это применимо.

[00574] В некоторых вариантах осуществления звено присоединения PEG Y_{71} представляет собой связь, $-C(O)-$, $-O-$, $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-NR_5-$, $-C(O)O-$, $-C(O)-C_{1-10}$ алкил,

-C(O)-C₁₋₁₀алкил-O-, -C(O)-C₁₋₁₀алкил-CO₂-, -C(O)-C₁₋₁₀алкил-NR₅-, -C(O)-C₁₋₁₀алкил-S-, -C(O)-C₁₋₁₀алкил-C(O)-NR₅-, -C(O)-C₁₋₁₀алкил-NR₅-C(O)-, -C₁₋₁₀алкил-, -C₁₋₁₀алкил-O-, -C₁₋₁₀алкил-CO₂-, -C₁₋₁₀алкил-NR₅-, -C₁₋₁₀алкил-S-, -C₁₋₁₀алкил-C(O)-NR₅-, -C₁₋₁₀алкил-NR₅-C(O)-, -CH₂CH₂SO₂-C₁₋₁₀алкил-, -CH₂C(O)-C₁₋₁₀алкил-, =N-(O или N)-C₁₋₁₀алкил-O-, =N-(O или N)-C₁₋₁₀алкил-NR₅-, =N-(O или N)-C₁₋₁₀алкил-CO₂-, =N-(O или N)-C₁₋₁₀алкил-S-,



[00575] В некоторых вариантах осуществления Y₇₁ представляет собой -NH-, -

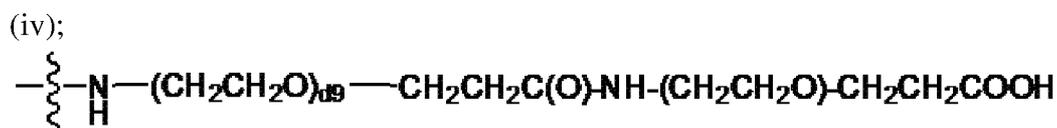
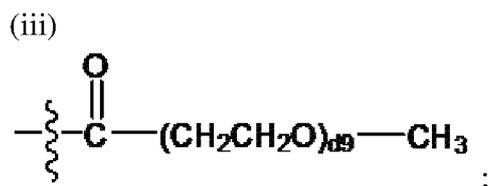
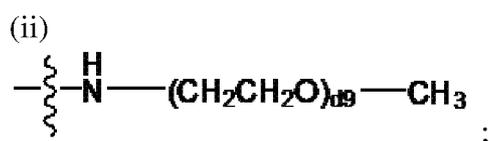
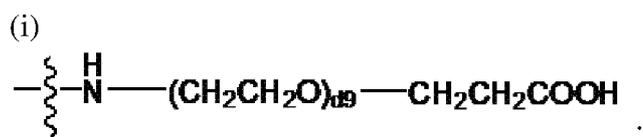


C(O)-, триазольную группу, -S- или малеимидогруппу, такую как



где обозначает присоединение к многофункциональному линкеру или линкеру M^A (например, к аминокислоте в линкере M^A), и * обозначает сайт присоединения в пределах звена PEG.

[00576] Примеры линейных звеньев PEG включают:



и

[00581] В некоторых вариантах осуществления сконструированный с цистеином нацеливающий фрагмент направляет конъюгаты, содержащие пептидный линкер, к определенным тканям, клеткам или местоположениям в клетке. В некоторых вариантах осуществления сконструированный с цистеином нацеливающий фрагмент содержит сконструированный цистеин.

[00582] В некоторых вариантах осуществления сконструированный с цистеином нацеливающий фрагмент представляет собой распознающую молекулу на основе белка (PBRM).

[00583] В некоторых вариантах осуществления сконструированная с цистеином распознающая молекула на основе белка направляет конъюгаты, содержащие пептидный линкер, к определенным тканям, клеткам или местоположениям в клетке. В некоторых вариантах осуществления сконструированная с цистеином распознающая молекула на основе белка может направлять конъюгат в культуре, или в целом организме, или в обоих. В каждом случае сконструированная с цистеином распознающая молекула на основе белка может иметь лиганд, который присутствует на клеточной поверхности целевой(целевых) клетки(клеток), с которым она связывается с эффективной специфичностью, аффинностью и авидностью. В некоторых вариантах осуществления сконструированная с цистеином распознающая молекула на основе белка нацеливает конъюгат на ткани, отличные от печени. В некоторых вариантах осуществления сконструированная с цистеином распознающая молекула на основе белка нацеливает конъюгат на определенную ткань, такую как печень, почка, легкое или поджелудочная железа. Сконструированная с цистеином распознающая молекула на основе белка может нацеливать конъюгат на клетку-мишень, такую как раковая клетка, например, на рецептор, экспрессированный на клетке, такой как раковая клетка, ткань матрикса или белок, ассоциированный с раком, такой как опухолевый антиген. В качестве альтернативы может происходить нацеливание на клетки, входящие в состав сосудистой системы опухоли. Сконструированные с цистеином распознающие молекулы на основе белка могут направлять конъюгат к конкретным типам клеток, например, специфически нацеливать на гепатоциты в печени, но не на клетки Купфера. В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином распознающие молекулы на основе белка могут направлять конъюгат к клеткам ретикулоэндотелиальной или лимфатической системы, или к специализированным фагоцитарным клеткам, таким как макрофаги или эозинофилы. В некоторых вариантах осуществления сам конъюгат может также представлять собой эффективную систему доставки без необходимости специфического нацеливания.

[00584] В некоторых вариантах осуществления сконструированная с цистеином распознающая молекула на основе белка может нацеливать конъюгат на местоположение в пределах клетки, такое как ядро, цитоплазма или эндосома, например. В некоторых вариантах осуществления сконструированная с цистеином распознающая молекула на основе белка может усиливать связывание с рецепторами в клетке, или

цитоплазматический транспорт к ядру и проникновение в ядро, или высвобождение из эндосом или других внутриклеточных везикул.

[00585] В некоторых вариантах осуществления сконструированная с цистеином распознающая молекула на основе белка представляет собой антитело, фрагмент антитела, белок, пептид или миметик пептида.

[00586] В некоторых вариантах осуществления сконструированная с цистеином распознающая молекула на основе белка представляет собой антитело. В некоторых вариантах осуществления сконструированная с цистеином распознающая молекула на основе белка представляет собой фрагмент антитела. В некоторых вариантах осуществления сконструированная с цистеином распознающая молекула на основе белка представляет собой белок. В некоторых вариантах осуществления сконструированная с цистеином распознающая молекула на основе белка представляет собой пептид. В некоторых вариантах осуществления сконструированная с цистеином распознающая молекула на основе белка представляет собой миметик пептида.

[00587] В некоторых вариантах осуществления сконструированное с цистеином антитело или фрагмент антитела представляют собой антитело или фрагмент антитела, в которых одна или более аминокислот соответствующего исходного антитела или фрагмента антитела (например, соответствующего антитела или фрагмента антитела дикого типа) замещены цистеинами (например, сконструированным цистеином). В некоторых вариантах осуществления исходное антитело или фрагмент антитела могут быть дикого типа или мутированными.

[00588] В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином антитело или фрагмент антитела могут представлять собой мутированные антитело или фрагмент антитела. В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело, известное из уровня техники, сконструировано с образованием сконструированного с цистеином антитела. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела (например, Fab-фрагмент антитела), известный из уровня техники, сконструирован с образованием сконструированного с цистеином фрагмента антитела (например, сконструированного с цистеином Fab-фрагмента антитела). В некоторых вариантах осуществления с помощью мутации в одном сайте Fab получают один сконструированный с цистеином остаток в Fab, где мутация в одном сайте в антителе приводит к получению двух сконструированных с цистеином аминокислот в полученном антителе по причине димерной природы антитела IgG.

[00589] В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином антитело или фрагмент антитела сохраняют антигенсвязывающую способность соответствующих им антитела или фрагмента антитела дикого типа. В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином антитело или фрагмент антитела обладают способностью к связыванию с одним или более антигенами для соответствующих им антитела или фрагмента антитела дикого типа.

[00590] В некоторых вариантах осуществления сконструированный цистеин не

представляет собой часть внутрицепочечного или межцепочечного дисульфидного звена. В некоторых вариантах осуществления сконструированный цистеин содержит свободную тиольную группу, которая является реакционноспособной и обладает электрофильной функциональностью. В некоторых вариантах осуществления сконструированный цистеин (например, его свободная тиольная группа) на поверхности антитела или фрагмента антитела может обеспечивать возможность конъюгации антитела или фрагмента антитела с фрагментом линкер-лекарственное средство, содержащим реакционноспособную в отношении тиола группу (например, малеимид или галогенацетил).

[00591] Известно, что замещение одной или более аминокислот, отличных от цистеина, в антителе или фрагменте антитела цистеинами может приводить к получению одного или более сконструированных цистеинов в качестве доступных сайтов для конъюгации. В некоторых вариантах осуществления при замещении аминокислоты, отличной от цистеина, в антителе или фрагменте антитела цистеином реакционноспособная тиольная группа располагается в виде доступного сайта антитела или фрагмента антитела и может применяться для конъюгации антитела или фрагмента антитела с другими фрагментами (например, фрагментами, представляющими собой лекарственное средство, или фрагментами линкер-лекарственное средство) и для получения конъюгата по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления аминокислота в положении V205 (в соответствии с системой нумерации по Kabat) легкой цепи исходного антитела или фрагмента антитела замещена цистеином. В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином антитела могут быть получены как описано, например, в патенте США № 7521541.

[00592] В некоторых вариантах осуществления сконструированная с цистеином распознающая молекула на основе белка содержит сконструированный цистеин, и сконструированная с цистеином распознающая молекула на основе белка конъюгирована с фрагментом линкер-лекарственное средство посредством образования ковалентной связи с помощью сульфгидрильной группы сконструированного цистеина и функциональной группы фрагмента линкер-лекарственное средство.

[00593] В некоторых вариантах осуществления иллюстративные сконструированные с цистеином антитела или антитела, полученные из Fab, Fab2, scFv или фрагментов тяжелой цепи верблюжьего антитела, специфичные в отношении маркеров клеточной поверхности, включают без ограничения 5T4, AOC3, ALK, AXL, C242, C4.4a, CA-125, CCL11, CCR 5, CD2, CD3, CD4, CD5, CD15, CA15-3, CD18, CD19, CA19-9, CDH6, CD20, CD22, CD23, CD25, CD28, CD30, CD31, CD33, CD37, CD38, CD40, CD41, CD44, CD44 v6, CD51, CD52, CD54, CD56, CD62E, CD62P, CD62L, CD70, CD74, CD79-B, CD80, CD125, CD138, CD141, CD147, CD152, CD 154, CD326, CEA, CEACAM-5, фактор слипания, CTLA-4, CXCR2, EGFR (HER1), ErbB1, ErbB2, ErbB3, EpCAM, EPHA2, EPHB2, EPHB4, FGFR (т. е. FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4), FLT3, рецептор фолиевой кислоты, FAP, GD2, GD3, GPNMB, GCC (GUCY2C), HGF, HER2, HER3, HMI.24, ICAM, ICOS-L, рецептор IGF-1, VEGFR1, EphA2, TRPV1, CFTR, gpNMB, CA9, Cripto, c-KIT, c-

MET, ACE, APP, адренергический рецептор-бета 2, клаудин 3, LIV1, LY6E, мезотелин, MUC1, MUC13, NaPi2b, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, RON, ROR1, PD-L1, PD-L2, PTK7, B7-H3, B7-B4, рецептор IL-2, рецептор IL-4, рецептор IL-13, TROP-2, frizzled-7, интегрин (включающие интегрин α_4 , $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$, $\alpha_1\beta_4$, $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_4\beta_7$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_6\beta_4$, $\alpha_{IIIb}\beta_3$), IFN- α , IFN- γ , IgE, IgE, рецептор IGF-1, IL-1, IL-12, IL-23, IL-13, IL-22, IL-4, IL-5, IL-6, рецептор интерферона, ITGB2 (CD18), LFA-1 (CD11a), L-селектин (CD62L), муцин, миостатин, NCA-90, NGF, PDGFR α , фосфатидилсерин, клетку карциномы предстательной железы, *Pseudomonas aeruginosa*, вирус бешенства, RANKL, респираторно-синцитиальный вирус, резус-фактор, SLAMF7, сфингозин-1-фосфат, TAG-72, рецептор Т-клеток, тенаascin C, TGF-1, TGF- β 2, TGF- β , TNF- α , TRAIL-R1, TRAIL-R2, опухолевый антиген СТАА16.88, VEGF-A, VEGFR2, виментин и т. п.

[00594] В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином антитела или сконструированное с цистеином антитело, полученное из Fab, Fab2, scFv или фрагментов тяжелой цепи верблюжьего антитела, специфичные в отношении маркеров клеточной поверхности, включают CA-125, C242, CD3, CD19, CD22, CD25, CD30, CD31, CD33, CD37, CD40, CD44, CD51, CD54, CD56, CD62E, CD62P, CD62L, CD70, CD138, CD141, CD326, CEA, CTLA-4, EGFR (HER1), ErbB2, ErbB3, FAP, рецептор фолиевой кислоты, рецептор IGF-1, GD3, GPNMB, HGF, HER2, VEGF-A, VEGFR2, VEGFR1, EphA2, EpCAM, 5T4, TAG-72, тенаascin C, TRPV1, CFTR, gpNMB, CA9, Cripto, ACE, APP, PDGFR α , фосфатидилсерин, клетки карциномы предстательной железы, адренергический рецептор-бета 2, клаудин 3, муцин, MUC1, NaPi2b, B7H3, B7H4, C4.4a, CEACAM-5, MUC13, TROP-2, frizzled-7, мезотелин, рецептор IL-2, рецептор IL-4, рецептор IL-13 и интегрин (включающие интегрин $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$, $\alpha_1\beta_4$, $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_6\beta_4$), тенаascin C, TRAIL-R2 и виментин.

[00595] Иллюстративные сконструированные с цистеином антитела включают 3F8, абаговомаб, абциксимаб (REOPRO[®]), адалимумаб (HUMIRA[®]), адекатумумаб, афелимомаб, афутузумаб, алацизумаб, ALD518, алемтузумаб (CAMPATH[®]), альтумомаб, аматуксимаб, анатумомаб, анрукинзумаб, аполизумаб, арцитумомаб (CEA-SCAN), аселизумаб, атлизумаб (тоцилизумаб, Actemra, RoActemra), аторолимумаб, бапинеузумаб, базиликсимаб (Simulect), бавитуксимаб, бектумомаб (LYMPHOSCAN[®]), белимумаб (BENLYSTA[®]), бенрализумаб, бертилимумаб, безилесомаб (SCINITIMUN[®]), бевацизумаб (AVASTIN[®]), бициромаб (FIBRISCINT[®]), биватузумаб, блинатумомаб, брентуксимаб, бриакинумаб, канакинумаб (ILARIS), кантузумаб, капромаб, катумаксаб (REMOVAB[®]), CC49, цеделизумаб, цертолизумаб, цетуксимаб (ERBITUX[®]), цитатузумаб, цитуксумумаб, кленоликсимаб, кливатузумаб, конатумумаб, CR6261, дацетузумаб, даклизумаб (ZENAPAX[®]), даратумумаб, деносумаб (PROLIA[®]), детумомаб, дорлимомаб, дорликсизумаб, экромексимаб, экулизумаб (SOLIRIS), эдобакомаб, эдреколомаб (PANOREX[®]), эфализумаб (RAPTIVA[®]), эфунгомаб (MYCOGRAB[®]), элотузумаб, эльсилимомаб, энлимомаб, эпитумомаб, эпратузумаб, эрлизумаб, эртумаксаб (REXOMUN[®]), этарацизумаб (ABEGRIN[®]), эксбивирумаб, фанолесомаб

(NEUTROSPEC[®]), фаралимомаб, фарлетузумаб, фелвизумаб, фезакинумаб, фигитумумаб, фонтолизумаб (HuZAF), форавирумаб, фрезолимумаб, галиксимаб, гантенерумаб, гавилимомаб, гемтузумаб, гирентуксимаб, глембатумумаб, голимумаб (SIMPONI[®]), гомиликсимаб, ибализумаб, ибритумомаб, иговомаб (INDIMACIS-125), имциромаб (MYOSCINT[®]), инфликсимаб (REMICADE[®]), интетумумаб, инолимомаб, инотузумаб, ипилимумаб, иратумумаб, келиксимаб, лабетузумаб (CEA-CIDE), лебрикизумаб, лемалесомаб, лерделимумаб, лексатумумаб, либивирумаб, линтузумаб, лукатумумаб, люмиликсимаб, мапатумумаб, маслимомаб, матузумаб, меполизумаб (BOSATRIA[®]), метелимумаб, милатузумаб, минретумомаб, митумомаб, моролимумаб, мотавизумаб (NUMAX), муромонаб-CD3 (ORTHOCLONE OKT3), наколомаб, наптумомаб, натализумаб (TYSABRI[®]), небакумаб, нецитумумаб, нерелимомаб, нимотузумаб (THERACIM[®]), нофетумомаб, окрелизумаб, одулимомаб, офатумумаб (ARZERRA[®]), оларатумаб, омализумаб (XOLAIR[®]), онтецизумаб, опортузумаб, ореговомаб (OVAREX[®]), отеликсизумаб, пагибаксимаб, паливизумаб (SYNAGIS[®]), панитумумаб (VECTIBIX), панобакумаб, пасколизумаб, пемтумомаб (THERAGYN[®]), пертузумаб (OMNITARG[®]), пекселизумаб, пинтумомаб, приликсимаб, притумумаб, PRO 140, рафивирумаб, рамуцирумаб, ранибизумаб (LUCENTIS[®]), раксибакумаб, регавирумаб, реслизумаб, рилотумумаб, ритуксимаб (RITUXAN[®]), робатумумаб, ронтализумаб, ровелизумаб (LEUKARREST[®]), руплизумаб (ANTOVA[®]), сатумомаб пендетид, севирумаб, сибротузумаб, сифалимумаб, силтуксимаб, сиплизумаб, соланезумаб, сонепцизумаб, сонтузумаб, стамулумаб, сулесомаб (LEUKOSCAN[®]), такатузумаб (AFP-CIDE[®]), тетраксетан, тадоцизумаб, тализумаб, танезумаб, таплитумомаб паптокс, тефибазумаб (AUREXIS[®]), телимомаб, тенатумомаб, тенеликсимаб, теплизумаб, TGN1412, тицилимумаб (тремелимумаб), тигатузумаб, TNX-650, тоцилизумаб (атлизумаб, АСТЕМРА[®]), торализумаб, тозитумомаб (BEXXAR[®]), трастузумаб (HERCEPTIN[®]), тремелимумаб, тукотузумаб, тувирумаб, уртоксазумаб, устекинумаб (STELARA[®]), вапаликсимаб, ведолизумаб, велтузумаб, вепалимомаб, визилизумаб (NUVION[®]), волоциксимаб (HUMASPECT[®]), вотумумаб, залутумумаб (HuMEX-EGFr), занолимумаб (HuMAX-CD4), зиралимумаб и золимомаб.

[00596] В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином антитела направлены на маркеры клеточной поверхности для 5T4, CA-125, CEA, CDH6, CD3, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD40, CD44, CD51, CTLA-4, CEACAM5, EpcAM, HER2, EGFR (HER1), FAP, рецептора фолиевой кислоты, GCC (GUCY2C), HGF, интегрин $\alpha_v\beta_3$, интегрин $\alpha_5\beta_1$, рецептора IGF-1, GD3, GPNMB, муцина, LIV1, LY6E, мезотелина, MUC1, MUC13, PTK7, фосфатидилсерина, клеток карциномы предстательной железы, PDGFR α , TAG-72, тенасцина С, TRAIL-R2, VEGF-A и VEGFR2. В данном варианте осуществления антитела представляют собой абаговомаб, адекватумумаб, алацизумаб, альтумомаб, анатумомаб, арцитумомаб, бавитуксимаб, бевацизумаб (AVASTIN[®]), биватузумаб, блинатумомаб, брентуксимаб, кантузумаб, катумаксомаб, капромаб, цетуксимаб, цитатузумаб, кливатузумаб, конатумумаб, дацетузумаб,

эдреколомаб, эпратузумаб, эртумаксомаб, этарацизумаб, фарлетузумаб, фигитумумаб, гемтузумаб, глембатумумаб, ибритумомаб, иговомаб, интетумумаб, инотузумаб, лабетузумаб, лексатумумаб, линтузумаб, лукатумумаб, матузумаб, митумомаб, наптумомаб эстафенатокс, нецитумумаб, опортузумаб, ореговомаб, панитумумаб, пемтумомаб, пертузумаб, притумумаб, ритуксимаб (RITUXAN[®]), рилотумумаб, робатумумаб, сатумомаб, сибротузумаб, таплитумомаб, тенатумомаб, тенатумомаб, тицилимумаб (тремелимумаб), тигатузумаб, трастузумаб (HERCEPTIN[®]), тозитумомаб, тремелимумаб, тукотузумаб целмолейкин, волоциксимаб и залутумумаб.

[00597] В конкретных вариантах осуществления сконструированные с цистеином антитела, направленные на маркеры клеточной поверхности, для HER2 представляют собой пертузумаб или трастузумаб, и антитело для EGFR (HER1) представляет собой цетуксимаб или панитумумаб; и антитело для CD20 представляет собой ритуксимаб, и антитело для VEGF-A представляет собой бевацизумаб, и антитело для CD-22 представляет собой эпратузумаб или велтузумаб, и антитело для СЕА представляет собой лабетузумаб.

[00598] Иллюстративные сконструированные с цистеином пептиды или миметики пептидов включают пептиды, нацеливающиеся на интегрин (пептиды RGD), пептиды, нацеливающиеся на рецептор LHRH, пептиды, нацеливающиеся на рецептор ErbB2 (HER2), пептиды, нацеливающиеся на простатспецифический мембранный антиген (PSMA), пептиды, нацеливающиеся на липопротеиновый рецептор LRP1, пептиды-производные белка АроЕ, пептиды белка АроА, пептиды, нацеливающиеся на рецептор соматостатина, пептиды-производные хлортоксина и бомбезин.

[00599] В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином пептиды или миметики пептидов представляют собой пептиды, нацеливающиеся на рецептор LHRH, и пептиды, нацеливающиеся на рецептор ErbB2 (HER2).

[00600] Иллюстративные сконструированные с цистеином белки включают инсулин, трансферрин, фрагмент фибриногена-гамма, тромбоспондин, клаудин, апополипротеин Е, молекулы аффитела, такие как, например, АВУ-025, белки с анкириновым повтором, белки с анкириноподобными повторами и синтетические пептиды.

[00601] В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином конъюгаты белок-лекарственное средство включают цитотоксины широкого спектра в комбинации с маркерами клеточной поверхности для HER2, такими как, например, пертузумаб или трастузумаб; для EGFR - такими как цетуксимаб и панитумумаб; для СЕА - таким как лабетузумаб; для CD20 - таким как ритуксимаб; для VEGF-A - таким как бевацизумаб; или для CD-22 - такими как эпратузумаб или велтузумаб.

[00602] В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином конъюгаты белок-лекарственное средство или сконструированные с цистеином белковые конъюгаты, применяемые в настоящем изобретении, содержат комбинации из двух или более сконструированных с цистеином распознающих молекул на основе белка, такие как,

например, комбинация биспецифических антител, направленная на рецептор EGF (EGFR) на опухолевых клетках и на CD3 и CD28 на Т-клетках; комбинации антител или антитела, полученных из Fab, Fab2, scFv или фрагментов тяжелой цепи верблюжьего антитела и пептидов или миметиков пептидов; комбинации антител или антитела, полученных из Fab, Fab2, scFv или фрагментов тяжелой цепи верблюжьего антитела и белков; комбинации двух биспецифических антител, таких как биспецифические антитела CD3-CD19 плюс CD28-CD22.

[00603] В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином конъюгаты белок-лекарственное средство или сконструированные с цистеином белковые конъюгаты, применяемые в настоящем изобретении, содержащие распознающие молекулы на основе белка, представляют собой антитела к антигенам, такие как, например, трастузумаб, цетуксимаб, ритуксимаб, бевацизумаб, эпрутузумаб, велтузумаб, лабетузумаб, B7-H4, B7-H3, CA125, CDH6, CD33, CXCR2, CEACAM5, EGFR, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, GCC (GUCY2C), HER2, LIV1, LY6E, NaPi2b, c-Met, мезотелин, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, PD-L1, PTK7, c-Kit, MUC1, MUC13. и 5T4.

[00604] В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином конъюгаты белок-лекарственное средство или сконструированные с цистеином белковые конъюгаты по настоящему изобретению содержат распознающие молекулы на основе белка, которые представляют собой антитела к 5T4, такие как, например, гуманизированное антитело scFvFc к 5T4.

[00605] Примеры подходящих лигандов или иммуноглобулинов, нацеливающихся на 5T4, включают таковые, которые являются коммерчески доступными, или были описаны в патентной или не относящейся к патентной литературе, *например*, US 8044178, US 8309094, US 7514546, EP1036091 (коммерчески доступный как TroVax™, Oxford Biomedica), EP2368914A1, WO 2013041687 A1 (Amgen), US 2010/0173382 и P. Sarga, et al., Mol. Cancer Ther. 2013, 12:38-47. Антитело к 5T4 раскрыто в предварительной заявке на патент США № 61/877439, поданной 13 сентября 2013 года, и предварительной заявке на патент США № 61/835858, поданной 17 июня 2013 года. Содержание каждого из патентных документов и научных публикаций включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[00606] Используемый в данном документе термин «5T4-антигенсвязывающая часть» относится к полипептидной последовательности, обладающей способностью селективно связываться с антигеном 5T4. В составе иллюстративных конъюгатов 5T4-антигенсвязывающая часть, как правило, содержит одноцепочечную форму scFv-Fc, сконструированную из антитела к 5T4. Одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv-Fc) представляет собой слитый белок из вариабельных областей тяжелой (VH) и легкой цепей (VL) иммуноглобулина, соединенный с линкерным пептидом и дополнительно присоединенный к Fc-области, содержащей шарнирную область и области CH2 и CH3 антитела (любые такие комбинации частей антитела друг с другом или с другими пептидными последовательностями иногда упоминаются в данном документе как

«иммунослитые» молекулы). В такой молекуле scFvFc часть scFv посредством С-конца может быть связана с N-концом Fc-части с помощью линкерного пептида.

[00607] В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином конъюгаты белок-лекарственное средство или сконструированные с цистеином белковые конъюгаты по настоящему изобретению содержат распознающие молекулы на основе белка, которые представляют собой антитело Her-2 или NaPi2b.

[00608] Например, сконструированное с цистеином антитело Her-2, подходящее для конъюгата или каркаса по настоящему изобретению, содержит переменную область, определяющую комплементарность, тяжелой цепи 1 (CDRH1), содержащую аминокислотную последовательность FTFSSYSMN (SEQ ID NO: 25); переменную область, определяющую комплементарность, тяжелой цепи 2 (CDRH2), содержащую аминокислотную последовательность YISSSSSTIYYADSVKG (SEQ ID NO: 26); переменную область, определяющую комплементарность, тяжелой цепи 3 (CDRH3), содержащую аминокислотную последовательность GGHGYFDL (SEQ ID NO: 27); переменную область, определяющую комплементарность, легкой цепи 1 (CDRL1), содержащую аминокислотную последовательность RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 28); переменную область, определяющую комплементарность, легкой цепи 2 (CDRL2), содержащую аминокислотную последовательность GASSRAT (SEQ ID NO: 21); и переменную область, определяющую комплементарность, легкой цепи 3 (CDRL3), содержащую аминокислотную последовательность QQYHHSPLT (SEQ ID NO: 29) (см., например, US 9738720, выданного 22 августа 2107 года).

[00609] В некоторых вариантах осуществления сконструированное с цистеином антитело NaPi2b, подходящее для конъюгата или каркаса по настоящему изобретению, содержит переменную область, определяющую комплементарность, легкой цепи 1 (CDRL1), содержащую аминокислотную последовательность SASQDIGNFLN (SEQ ID NO: 8); переменную область, определяющую комплементарность, легкой цепи 2 (CDRL2) содержащую аминокислотную последовательность YTSSLYS (SEQ ID NO: 9); переменную область, определяющую комплементарность, легкой цепи 3 (CDRL3), содержащую аминокислотную последовательность QQYSKLPLT (SEQ ID NO: 10); переменную область, определяющую комплементарность, тяжелой цепи 1 (CDRH1), содержащую аминокислотную последовательность GYTFTGYNIH (SEQ ID NO: 5); переменную область, определяющую комплементарность, тяжелой цепи 2 (CDRH2), содержащую аминокислотную последовательность AIYPGNGDTSYKQKFRG (SEQ ID NO: 6); и переменную область, определяющую комплементарность, тяжелой цепи 3 (CDRH3), содержащую аминокислотную последовательность GETARATFAY (SEQ ID NO: 7) (см., например, также находящуюся на стадии рассмотрения заявку на патент US 15/457574, поданную 13 марта 2017 года).

Сконструированные с цистеином конъюгаты PBRM-лекарственное средство

[00610] В некоторых вариантах осуществления конъюгаты по настоящему изобретению содержат одну или более точек местонахождения D, где D представляет

собой терапевтическое средство, например, лекарственное средство, где одна или более точек местонахождения D может быть одинаковой или отличной.

[00611] В некоторых вариантах осуществления одна или более точек местонахождения сконструированного цистеина из сконструированной с цистеином PBRM (например, в положении V205C легкой цепи) являются присоединенными к фрагменту линкер-лекарственное средство, где одна или более точек местонахождения сконструированной с цистеином PBRM может быть одинаковой или отличной. В некоторых вариантах осуществления один или более фрагментов линкер-лекарственное средство, которые содержат одну или более точек местонахождения D, присоединены к одной сконструированной с цистеином PBRM (например, сконструированным с цистеином антителом).

[00612] В некоторых вариантах осуществления D представляет собой (a) соединение ауристатина; (b) соединение калихеамицина; (c) соединение дуокармицина; (d) SN38; (e) пирролобензодиазепин; (f) соединение, полученное из барвинка; (g) соединение тубулизина; (h) не встречающееся в природе соединение камптотецина; (i) соединение майтанзиноида; (j) лекарственное средство, связывающее ДНК; (k) ингибитор киназы; (l) ингибитор MEK; (m) ингибитор KSP; (n) ингибитор топоизомеразы; (o) лекарственное средство, алкилирующее ДНК; (p) РНК-полимеразу; (q) ингибитор PARP; (r) ингибитор NAMPT; (s) ингибитор топоизомеразы; (t) ингибитор синтеза белка; (u) лекарственное средство, связывающее ДНК; (v) лекарственное средство, интеркалирующее ДНК; или (w) иммуномодулирующее соединение.

[00613] В некоторых вариантах осуществления D представляет собой (a) соединение ауристатина; (b) соединение калихеамицина; (c) соединение дуокармицина; (d) ингибитор топоизомеразы; (e) соединение пирролобензодиазефина; (f) соединение, полученное из барвинка; (g) ингибитор синтеза белка; (h) ингибитор РНК-полимеразы; (i) соединение, связывающее тубулин; или (j) ингибитор NAMPT, или их аналог.

[00614] В некоторых вариантах осуществления D представляет собой (a) соединение ауристатина; (b) соединение калихеамицина; (c) соединение дуокармицина; (d) соединение камптотецина; (e) соединение пирролобензодиазефина; или (f) соединение, полученное барвинка или их аналог.

[00615] В некоторых вариантах осуществления соединение ауристатина представляет собой ауристатин, доластатин, монометилауристатин E (ММАЕ), монометилауристатин F (ММАF), ауристатин F, AF-НРА, ММА- НРА или фенилендиамин (AFP).

[00616] В некоторых вариантах осуществления дуокармицин или его аналог представляет собой дуокармицин А, дуокармицин В1, дуокармицин В2, дуокармицин С1, дуокармицин С2, дуокармицин D, дуокармицин SA, СС-1065, адозелезин, бизелезин или карзелезин.

[00617] В некоторых вариантах осуществления соединение камптотецина представляет собой камптотецин, СРТ-11 (иринотекан), SN-38 или топотекан.

[00618] В некоторых вариантах осуществления соединение пирролобензодиазепина представляет собой мономер пирролобензодиазепина, симметричный димер пирролобензодиазепина или несимметричный димер пирролобензодиазепина.

[00619] Конъюгат PBRM-лекарственное средство по настоящему изобретению содержит сконструированную с цистеином PBRM, которая имеет молекулярную массу, составляющую приблизительно 40 кДа или более (например, приблизительно 60 кДа или более; приблизительно 80 кДа или более; приблизительно 100 кДа или более; приблизительно 120 кДа или более; приблизительно 140 кДа или более; приблизительно 160 кДа или более; приблизительно 180 кДа или более, или приблизительно 200 кДа или более, или приблизительно 40-200 кДа, приблизительно 40-180 кДа, приблизительно 40-140 кДа, приблизительно 60-200 кДа, приблизительно 60-180 кДа, приблизительно 60-140 кДа, приблизительно 80-200 кДа, приблизительно 80-180 кДа, приблизительно 80-140 кДа, приблизительно 100-200 кДа, приблизительно 100-180 кДа или приблизительно 100-140 кДа).

[00620] В некоторых вариантах осуществления сконструированная с цистеином PBRM имеет молекулярную массу, составляющую приблизительно 40 кДа или более (например, приблизительно 60 кДа или более; приблизительно 80 кДа или более; приблизительно 100 кДа или более; приблизительно 120 кДа или более; приблизительно 140 кДа или более; приблизительно 160 кДа или более; приблизительно 180 кДа или более, или приблизительно 200 кДа или более; или приблизительно 40-200 кДа, приблизительно 40-180 кДа, приблизительно 40-140 кДа, приблизительно 60-200 кДа, приблизительно 60-180 кДа, приблизительно 60-140 кДа, приблизительно 80-200 кДа, приблизительно 80-180 кДа, приблизительно 80-140 кДа, приблизительно 100-200 кДа, приблизительно 100-180 кДа или приблизительно 100-140 кДа), и содержит сульфгидрильную (т. е. -SH или тиольную) группу.

[00621] В некоторых вариантах осуществления общее количество сульфидных связей, образованных между фрагментами линкер-лекарственное средство и сконструированной с цистеином PBRM (или общее количество точек присоединения), равно 10 или менее (например, 2 или менее).

[00622] В некоторых вариантах осуществления для конъюгации с одним или более фрагментами линкер-лекарственное средство сконструированная с цистеином PBRM имеет молекулярную массу, составляющую приблизительно 40 кДа или более (например, приблизительно 60 кДа или более, приблизительно 80 кДа или более, приблизительно 100 кДа или более, приблизительно 120 кДа или более, приблизительно 140 кДа или более, приблизительно 160 кДа или более, или приблизительно 180 кДа или более; или приблизительно 40-200 кДа, приблизительно 40-180 кДа, приблизительно 40-140 кДа, приблизительно 60-200 кДа, приблизительно 60-180 кДа, приблизительно 60-140 кДа, приблизительно 80-200 кДа, приблизительно 80-180 кДа, приблизительно 80-140 кДа, приблизительно 100-200 кДа, приблизительно 100-180 кДа или приблизительно 100-140 кДа).

[00623] В некоторых вариантах осуществления для конъюгации с одним или более фрагментами линкер-лекарственное средство сконструированная с цистеином PBRM имеет молекулярную массу, составляющую приблизительно от 40 кДа до приблизительно 200 кДа.

[00624] В некоторых вариантах осуществления для конъюгации с одним или более фрагментами линкер-лекарственное средство сконструированная с цистеином PBRM имеет молекулярную массу, составляющую приблизительно от 40 кДа до приблизительно 80 кДа.

[00625] В некоторых вариантах осуществления для конъюгации с одним или более фрагментами линкер-лекарственное средство сконструированная с цистеином PBRM имеет молекулярную массу, составляющую от 40 кДа до 200 кДа.

[00626] В некоторых вариантах осуществления для конъюгации с одним или более фрагментами линкер-лекарственное средство PBRM имеет молекулярную массу, составляющую от 40 кДа до 80 кДа.

[00627] В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином PBRM в данном диапазоне молекулярной массы включают без ограничения, например, фрагменты антитела, такие как, например, Fab.

[00628] В некоторых вариантах осуществления для конъюгации с одним или более фрагментами линкер-лекарственное средство сконструированная с цистеином PBRM имеет молекулярную массу, составляющую приблизительно от 60 кДа до приблизительно 120 кДа.

[00629] В некоторых вариантах осуществления для конъюгации с одним или более фрагментами линкер-лекарственное средство сконструированная с цистеином PBRM имеет молекулярную массу, составляющую от 60 кДа до 120 кДа.

[00630] В некоторых вариантах осуществления PBRM в данном диапазоне молекулярной массы включают без ограничения, например, антитела верблюдовых, Fab2, scFvFc и т. п.

[00631] В некоторых вариантах осуществления для конъюгации с одним или более фрагментами линкер-лекарственное средство сконструированная с цистеином PBRM имеет молекулярную массу, составляющую приблизительно от 140 кДа до приблизительно 180 кДа.

[00632] В некоторых вариантах осуществления для конъюгации с одним или более фрагментами линкер-лекарственное средство сконструированная с цистеином PBRM имеет молекулярную массу, составляющую от 140 кДа до 180 кДа.

[00633] В некоторых вариантах осуществления PBRM в данном диапазоне молекулярной массы включают без ограничения, например, полноразмерные антитела, такие как IgG, IgM.

[00634] В некоторых вариантах осуществления такие сконструированные с цистеином нацеливающие лиганды, линкеры и фрагменты лекарственного средства или пролекарства, описанные в данном документе, могут быть собраны в конъюгат или каркас

по настоящему изобретению, например, в соответствии с раскрытыми методиками и способами. Терапевтические и нацеливающие конъюгаты по настоящему изобретению и способы их получения описаны ниже с помощью неограничивающего примера.

[00635] В некоторых вариантах осуществления общее количество сульфидных связей, образованных между фрагментом линкер-лекарственное средство и сконструированной с цистеином PBRM (или общее количество точек присоединения), равно 2 или менее.

[00636] В некоторых вариантах осуществления общее количество сульфидных связей, образованных между фрагментом линкер-лекарственное средство и сконструированной с цистеином PBRM (или общее количество точек присоединения), равно 2.

[00637] В некоторых вариантах осуществления общее количество сульфидных связей, образованных между фрагментом линкер-лекарственное средство и сконструированной с цистеином PBRM (или общее количество точек присоединения), равно 1.

[00638] В некоторых вариантах осуществления общее количество сульфидных связей, образованных между фрагментом линкер-лекарственное средство и сконструированной с цистеином PBRM (или общее количество точек присоединения), равно 4 или менее.

[00639] В некоторых вариантах осуществления общее количество сульфидных связей, образованных между фрагментом линкер-лекарственное средство и сконструированной с цистеином PBRM (или общее количество точек присоединения), равно 4.

[00640] В некоторых вариантах осуществления общее количество сульфидных связей, образованных между фрагментом линкер-лекарственное средство и сконструированной с цистеином PBRM (или общее количество точек присоединения), равно 3.

[00641] В некоторых вариантах осуществления общее количество сульфидных связей, образованных между фрагментом линкер-лекарственное средство и сконструированной с цистеином PBRM (или общее количество точек присоединения), равно 6 или менее.

[00642] В некоторых вариантах осуществления общее количество сульфидных связей, образованных между фрагментом линкер-лекарственное средство и сконструированной с цистеином PBRM (или общее количество точек присоединения), равно 6.

[00643] В некоторых вариантах осуществления общее количество сульфидных связей, образованных между фрагментом линкер-лекарственное средство и сконструированной с цистеином PBRM (или общее количество точек присоединения), равно 5.

[00644] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-

лекарственное средство к PBRM составляет от приблизительно 1:1 до приблизительно 2:1.

[00645] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к PBRM составляет от приблизительно 1:1 до приблизительно 4:1.

[00646] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к PBRM составляет от приблизительно 1:1 до приблизительно 6:1.

[00647] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к PBRM составляет от приблизительно 2:1 до приблизительно 4:1.

[00648] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к PBRM составляет от приблизительно 2:1 до приблизительно 6:1.

[00649] В некоторых вариантах осуществления отношение фрагмента линкер-лекарственное средство к PBRM составляет от приблизительно 4:1 до приблизительно 6:1.

[00650] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение также относится к фрагменту линкер-лекарственное средство, содержащему по меньшей мере два фрагмента, где каждый фрагмент обладает способностью к конъюгации с тиольной группой в положении V205C легкой цепи в PBRM таким образом, чтобы образовывать сконструированный с цистеином конъюгат белок-линкер-лекарственное средство.

[00651] В некоторых вариантах осуществления одну или более тиольных групп из одного или более сконструированных цистеинов из PBRM получают посредством восстановления белка. Одна или более тиольных групп из одного или более сконструированных цистеинов PBRM могут затем вступать в реакцию с одним или более фрагментами линкер-лекарственное средство, которые обладают способностью к конъюгации с тиольной группой из сконструированного цистеина таким образом, чтобы конъюгировать сконструированную с цистеином PBRM с фрагментом линкер-лекарственное средство. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два фрагмента, присоединенные к сконструированной с цистеином PBRM, представляют собой малеимидные группы.

[00652] В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином антитела могут быть активированы для конъюгации с фрагментом линкер-лекарственное средство с помощью обработки восстановителем, таким как DTT (реактив Келланда, дитиотреитол) или TCEP (гидрохлорид трис(2-карбоксиил)фосфина). В некоторых вариантах осуществления полноразмерные сконструированные с цистеином моноклональные антитела могут быть восстановлены с помощью избытка TCEP для восстановления дисульфидных связей (например, между недавно введенным сконструированным цистеином и цистеином, присутствующим в соответствующих исходных антителах) с получением восстановленной формы антитела. Межцепочечные дисульфидные связи между парными цистеиновыми остатками могут быть повторно образованы в условиях частичного окисления, например, разбавленного водного сульфата меди (CuSO_4) или других окислителей, известных из уровня техники. Такая стадия мягкого частичного повторного окисления может обеспечивать условия для образования внутрицепочечных дисульфидов, характеризующегося эффективностью и высоким

качеством. Недавно введенный и неспаренный сконструированный цистеин может сохранять доступность для осуществления реакции с фрагментом линкер-лекарственное средство с образованием конъюгатов на основе антитела по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления добавляют избыток фрагмента линкер-лекарственное средство для осуществления конъюгации и образования сконструированного с цистеином конъюгата антитело-лекарственное средство, и очищают смесь для конъюгации с целью удаления избытка промежуточного соединения линкер-лекарственное средство и других примесей.

[00653] В некоторых вариантах осуществления свободные тиольные группы сконструированного цистеина в сконструированной с цистеином PBRM, которые используют для конъюгации, получают из цистеиновых остатков в положении V205C легкой цепи (в соответствии с системой нумерации по Kabat) природного белка.

[00654] В некоторых вариантах осуществления для конъюгации фрагмента линкер-лекарственное средство сконструированная с цистеином PBRM имеет молекулярную массу, составляющую 40 кДа или более (например, 60 кДа или более; 80 кДа или более; или 100 кДа или более; 120 кДа или более; 140 кДа или более; 160 кДа или более, или 180 кДа или более). В некоторых вариантах осуществления отношение сконструированной с цистеином PBRM к фрагменту линкер-лекарственное средство составляет от приблизительно 1:1 до приблизительно 1:6; от приблизительно 1:1 до приблизительно 1:5; от приблизительно 1:1 до приблизительно 1:4; от приблизительно 1:1 до приблизительно 1:3 или от приблизительно 1:1 до приблизительно 1:2.

[00655] PBRM в данном диапазоне молекулярной массы включают без ограничения, например, полноразмерные антитела, такие как IgG, IgM.

[00656] В некоторых вариантах осуществления для конъюгации с одним или более фрагментами линкер-лекарственное средство сконструированная с цистеином PBRM имеет молекулярную массу, составляющую от 60 кДа до 120 кДа. В некоторых вариантах осуществления отношение PBRM к фрагменту линкер-лекарственное средство составляет от приблизительно 1:1 до приблизительно 1:6; от приблизительно 1:1 до приблизительно 1:5 от приблизительно 1:1 до приблизительно 1:4 от приблизительно 1:1 до приблизительно 1:3 или от приблизительно 1:1 до приблизительно 1:2.

[00657] Сконструированные с цистеином PBRM в данном диапазоне молекулярной массы включают без ограничения, например, фрагменты антитела, такие как, например, Fab2, scFcFv и антитела верблюдовых.

[00658] В некоторых вариантах осуществления для конъюгации с одним или более фрагментами линкер-лекарственное средство PBRM имеет молекулярную массу, составляющую от 40 кДа до 80 кДа. В некоторых вариантах осуществления отношение PBRM к фрагменту линкер-лекарственное средство составляет от приблизительно 1:1 до приблизительно 1:6; от приблизительно 1:1 до приблизительно 1:5; от 1:1 до приблизительно 1:4; от приблизительно 1:1 до приблизительно 1:3, или от приблизительно 1:1 до приблизительно 1:2.

[00659] В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином PBRM в данном диапазоне молекулярной массы включают без ограничения например, фрагменты антитела, такие как Fab.

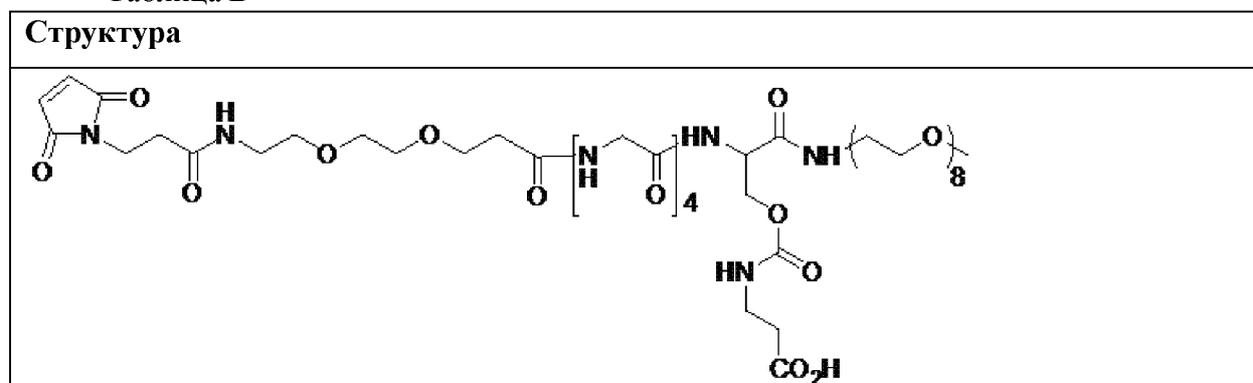
[00660] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение представляет каркас, применимый для конъюгации с любым или обоими из сконструированной с цистеином распознающей молекулы на основе белка (PBRM) и терапевтического средства (D), например, каркас любой из формул (II)-(XXIX), раскрытых в данном документе.

[00661] В некоторых вариантах осуществления каждый из каркасов, несущих лекарственное средство (т. е. без связи со сконструированной с цистеином PBRM), описанных в данном документе, как правило, имеет коэффициент полидисперсности (PDI), равный 1.

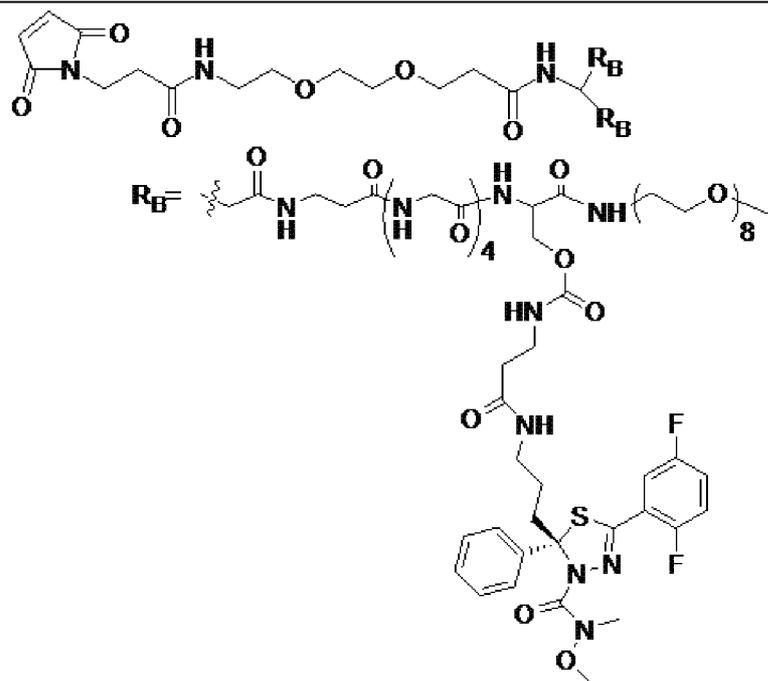
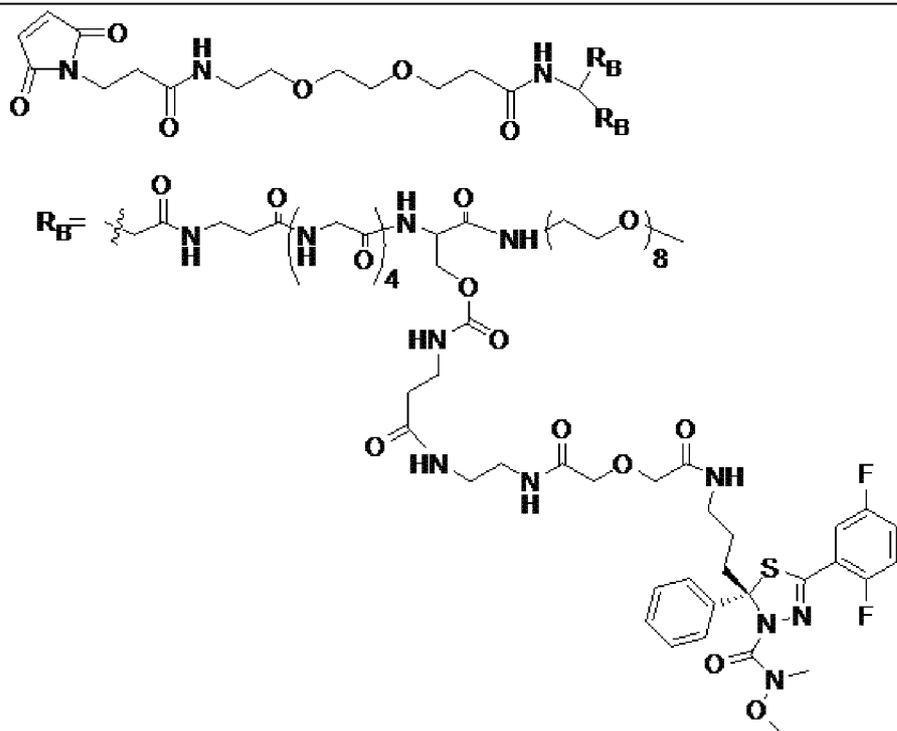
[00662] Конъюгаты и каркасы, раскрытые в данном документе, могут быть очищены (т. е. может быть осуществлено удаление любых исходных веществ) посредством экстенсивной диафильтрации. При необходимости может быть проведена дополнительная очистка посредством эксклюзионной хроматографии для удаления любых агрегированных конъюгатов. В целом, конъюгаты в очищенном виде, как правило, содержат менее чем 5% (например, <2% вес/вес) агрегированных конъюгатов, как определено посредством SEC; менее чем 0,5% (например, <0,1% вес/вес) свободного (неконъюгированного) лекарственного средства, как определено посредством RP-HPLC; менее чем 1% пептидсодержащих каркасов, несущих лекарственное средство, как определено посредством SEC, и менее чем 2% (например, <1% вес/вес) неконъюгированной сконструированной с цистеином PBRM, как определено посредством HIC-HPLC.

[00663] В таблицах В и С ниже представлены примеры пептидсодержащих каркасов, несущих лекарственное средство, и конъюгатов по настоящему изобретению соответственно.

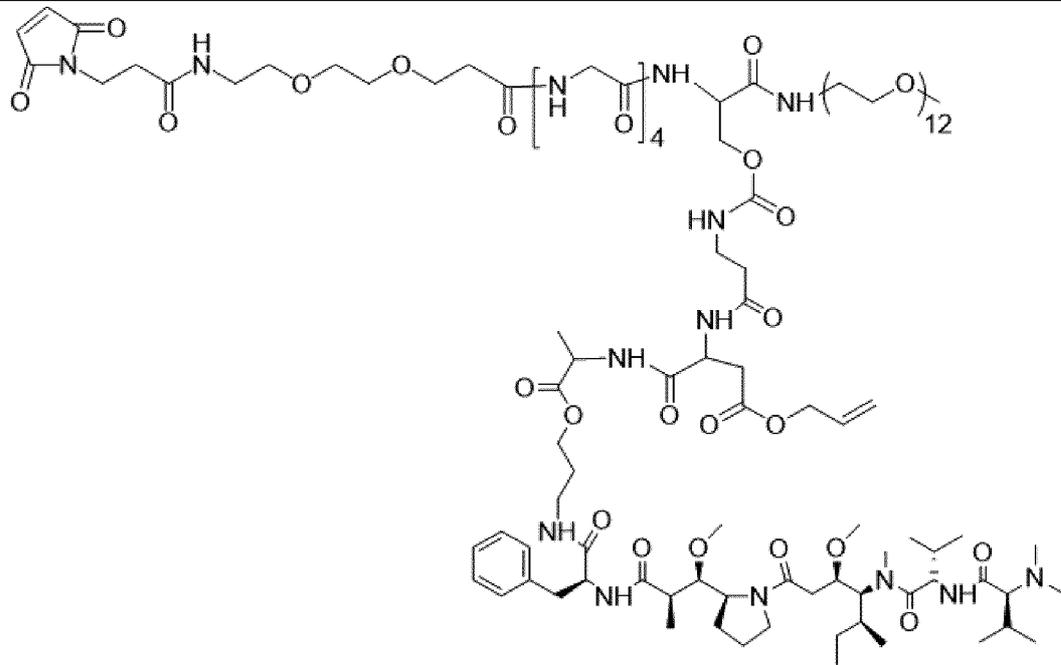
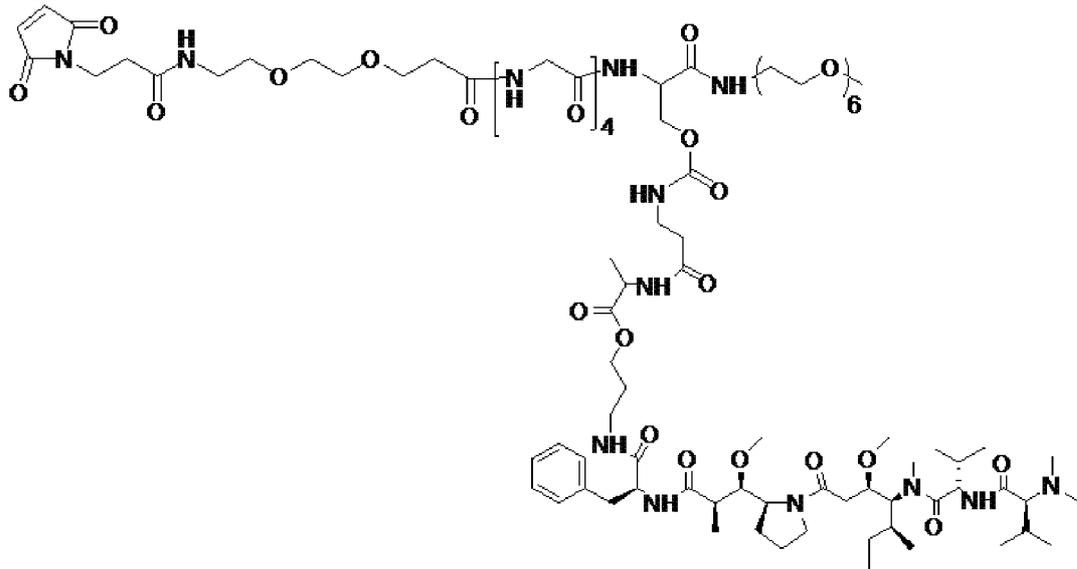
Таблица В



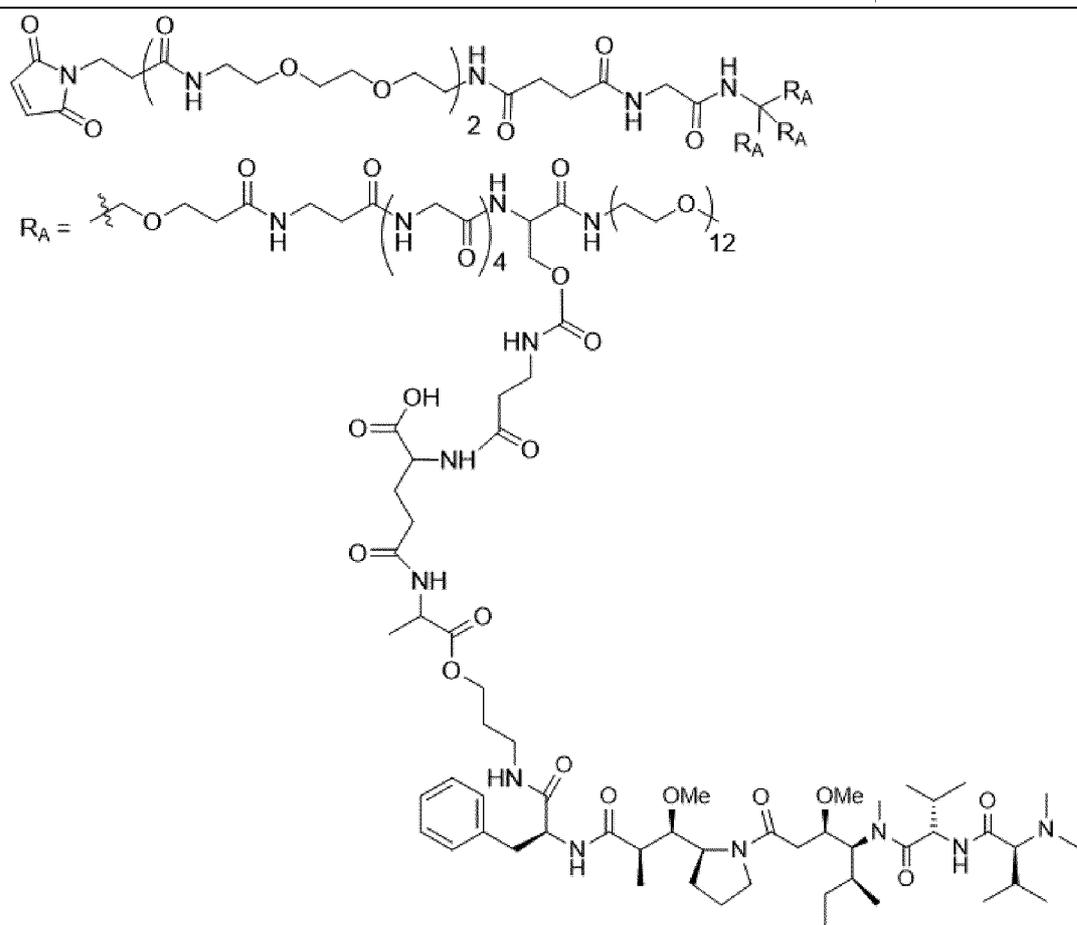
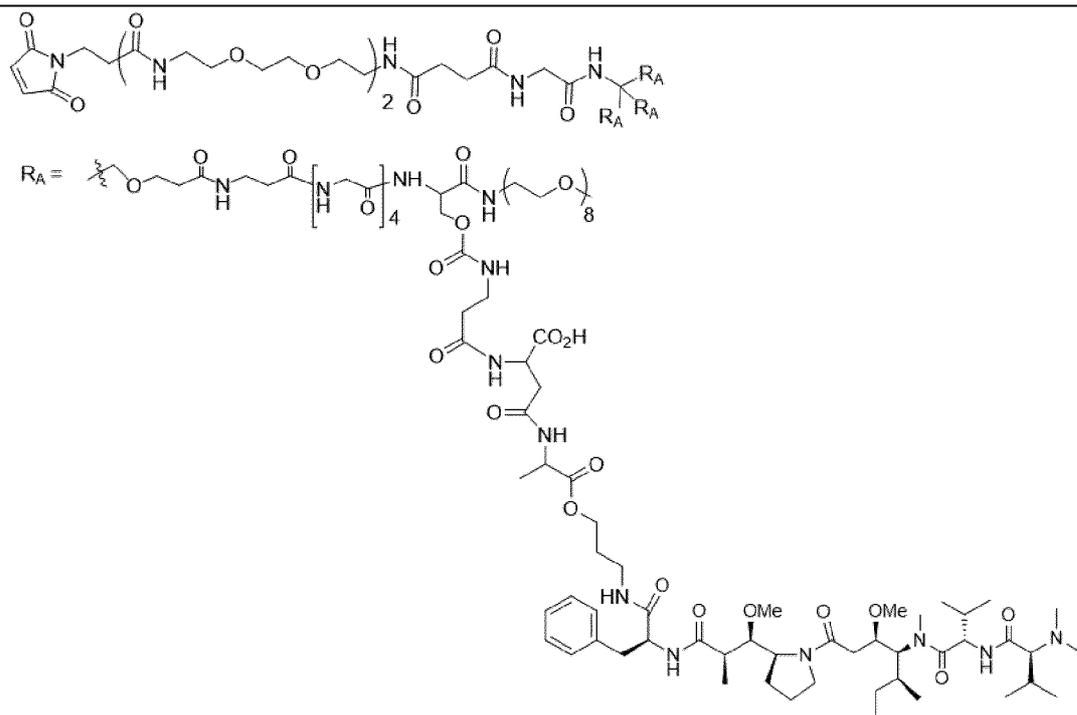
Структура



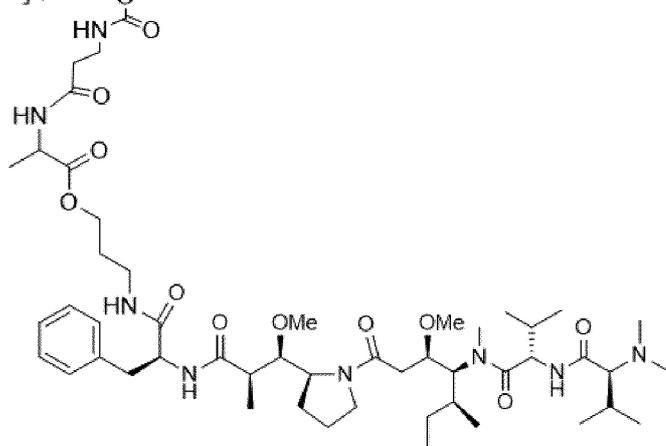
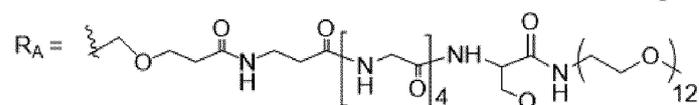
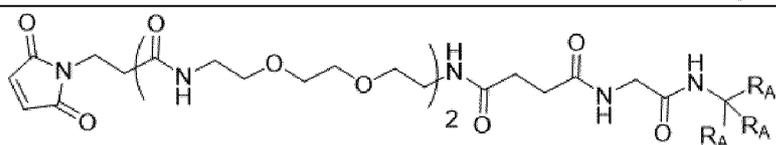
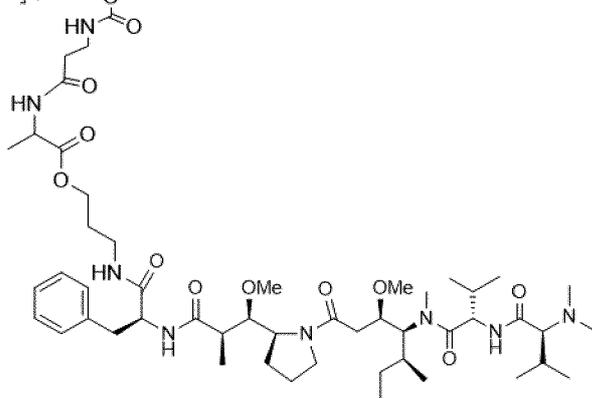
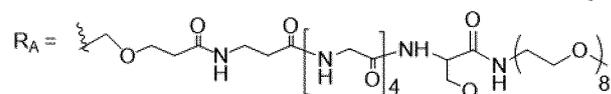
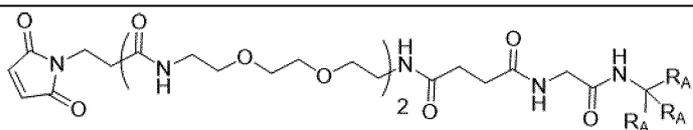
Структура



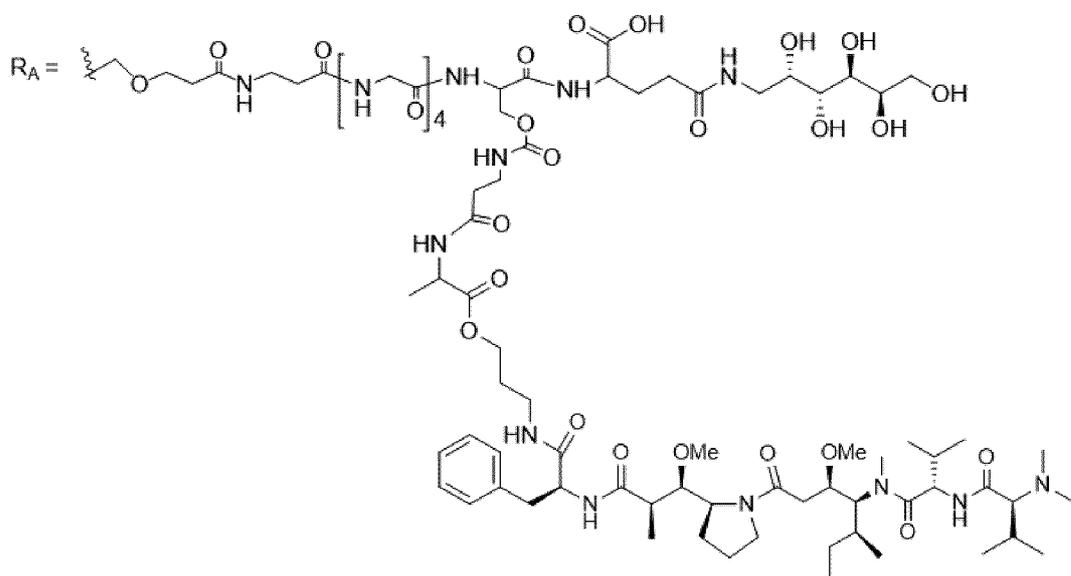
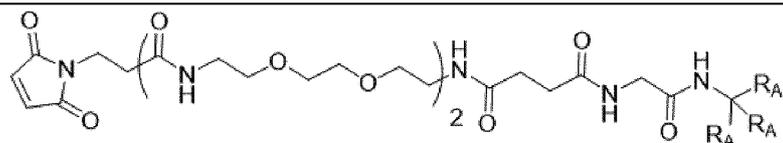
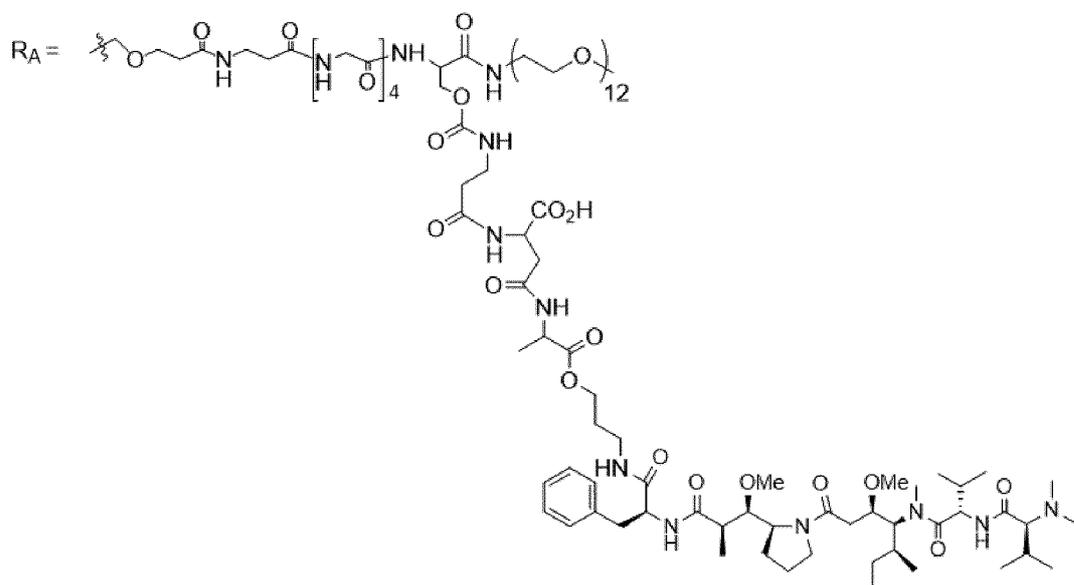
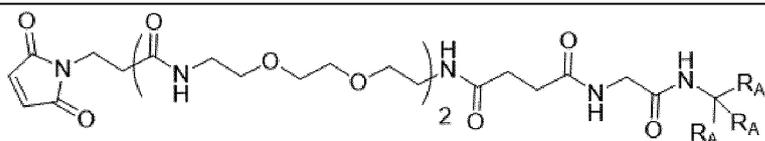
Структура



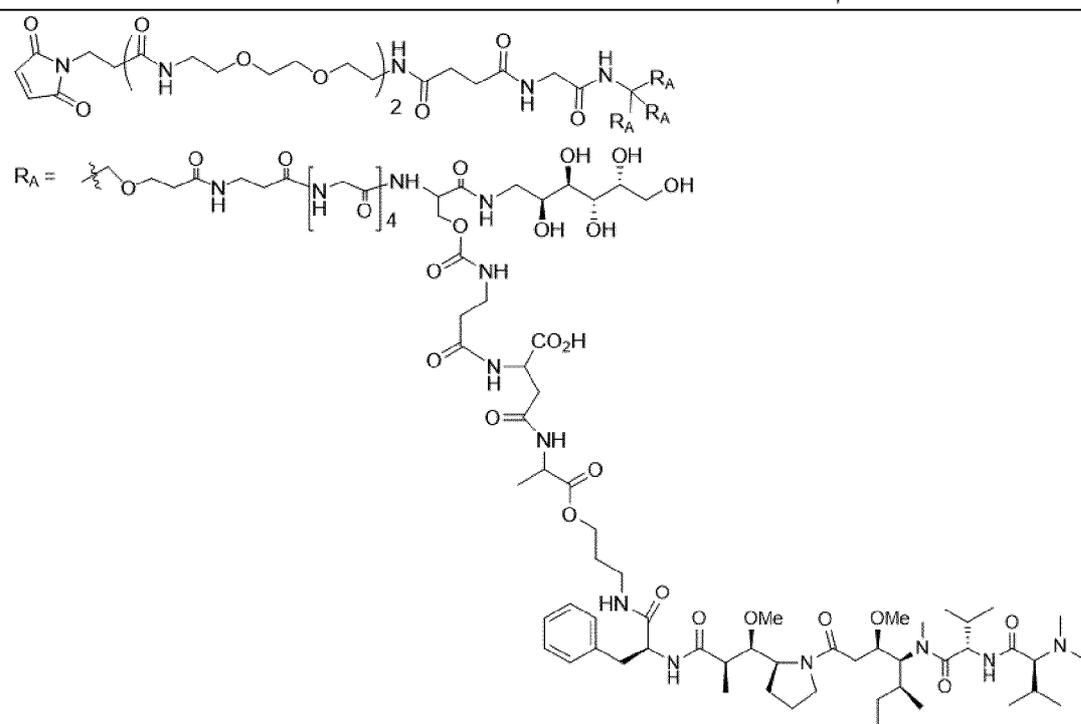
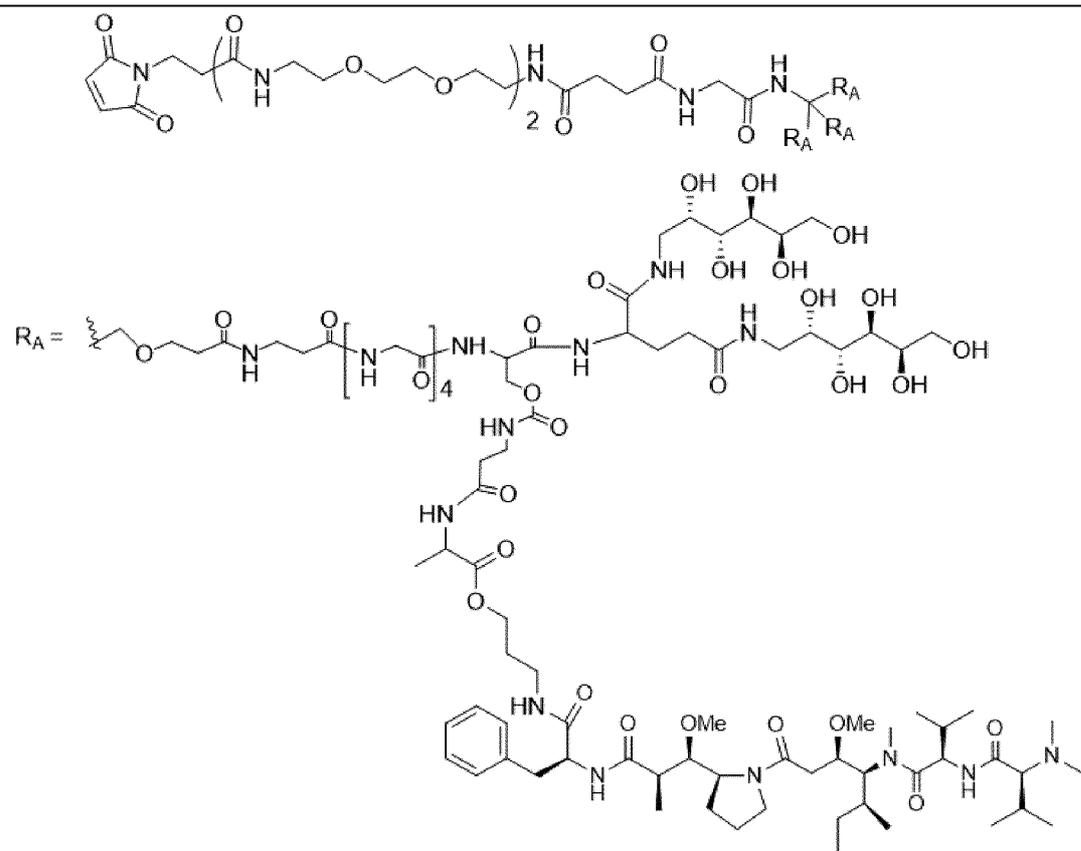
Структура



Структура



Структура



Структура

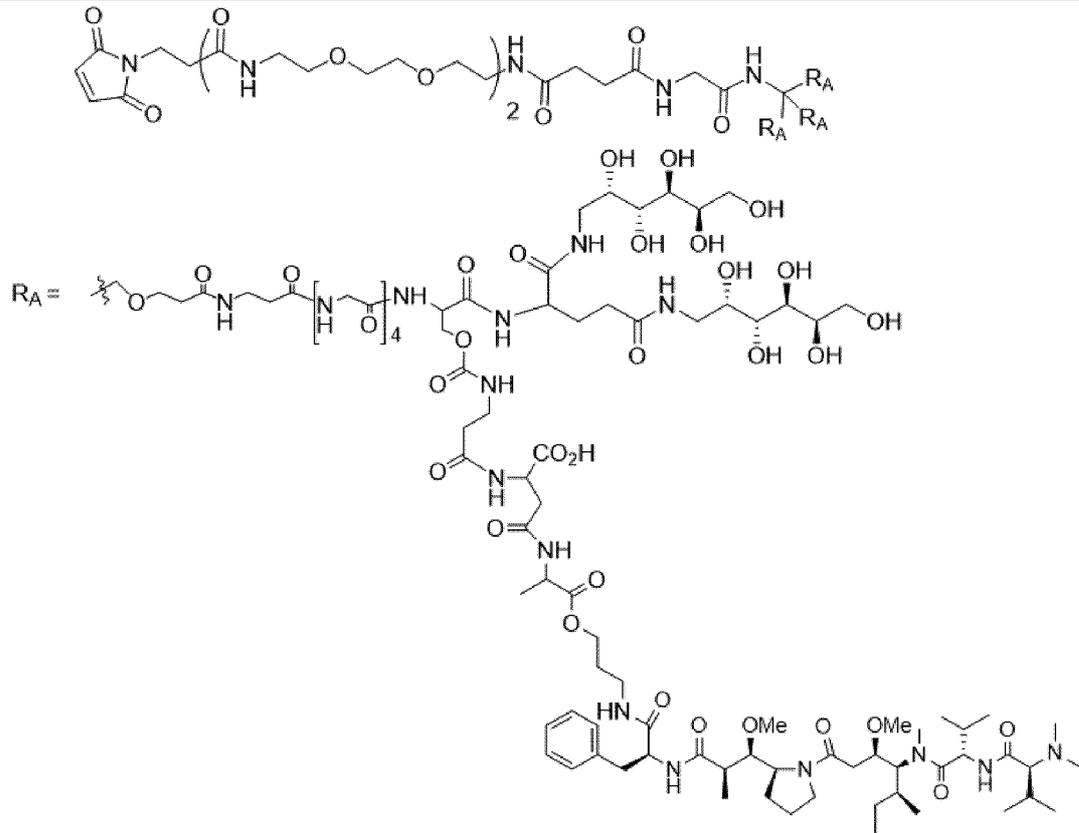
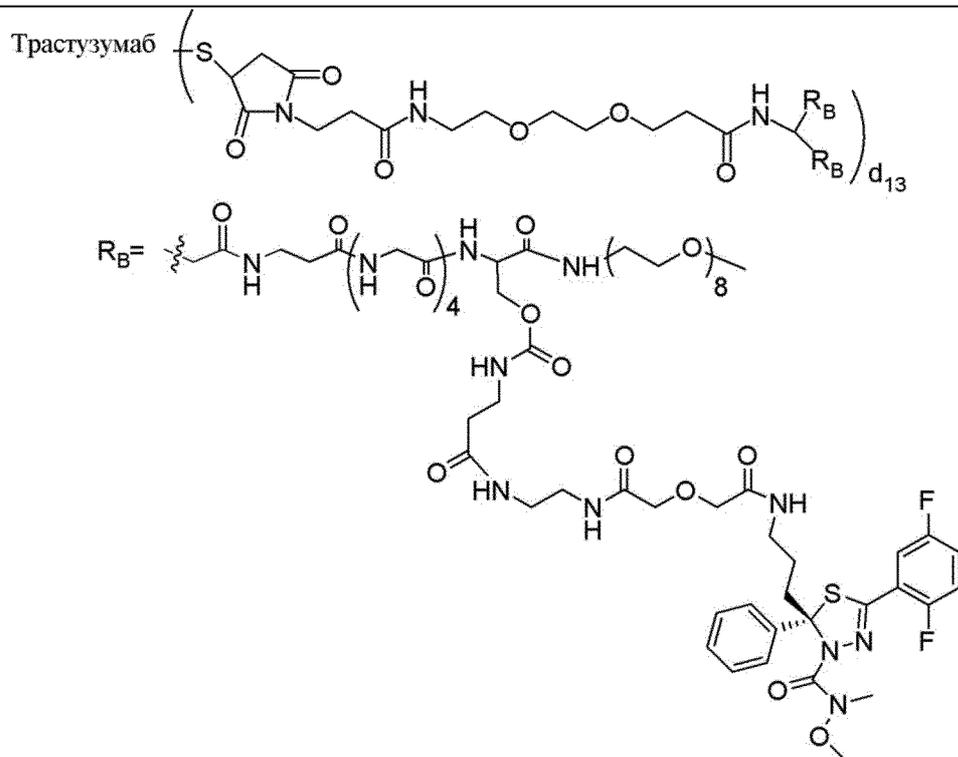
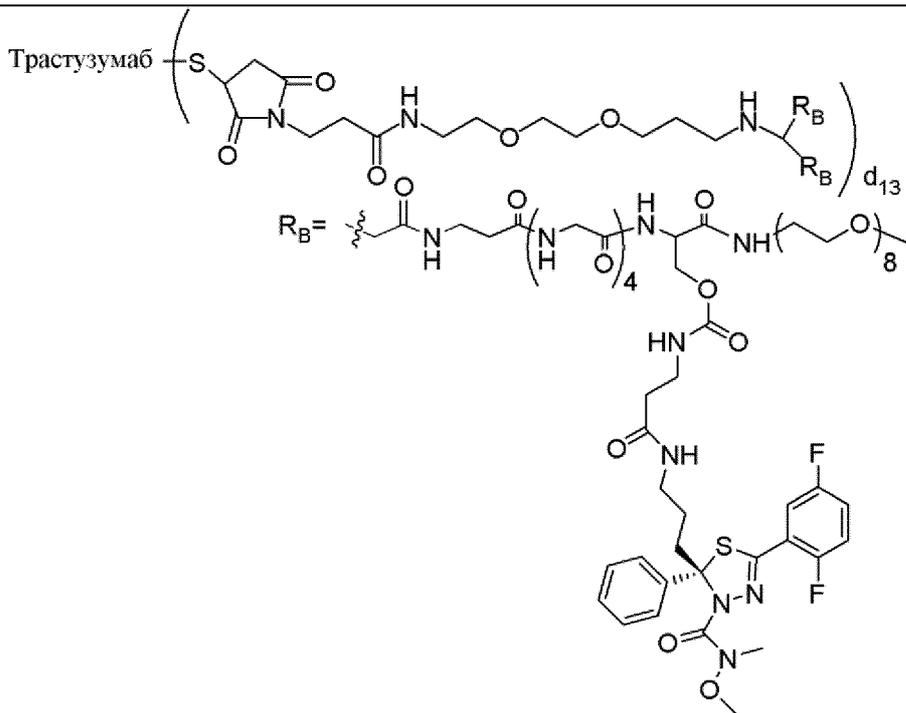
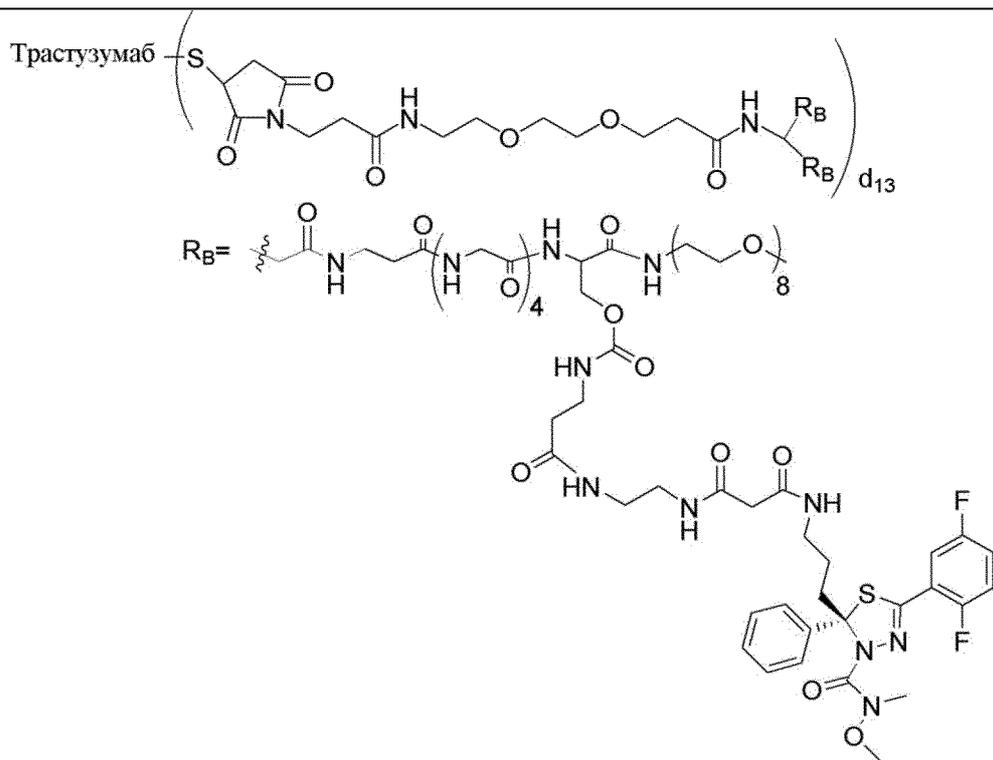


Таблица С

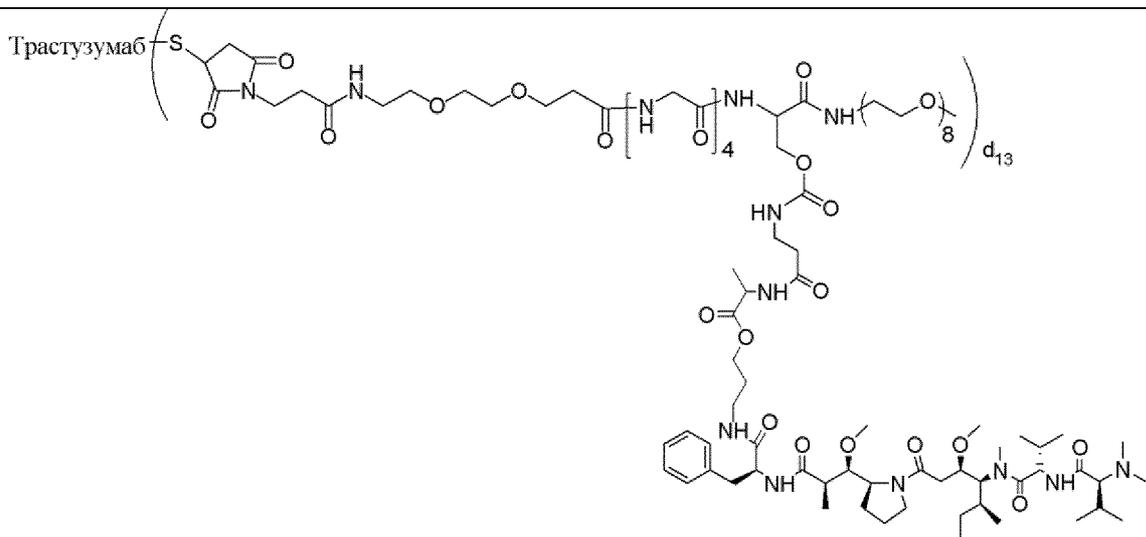
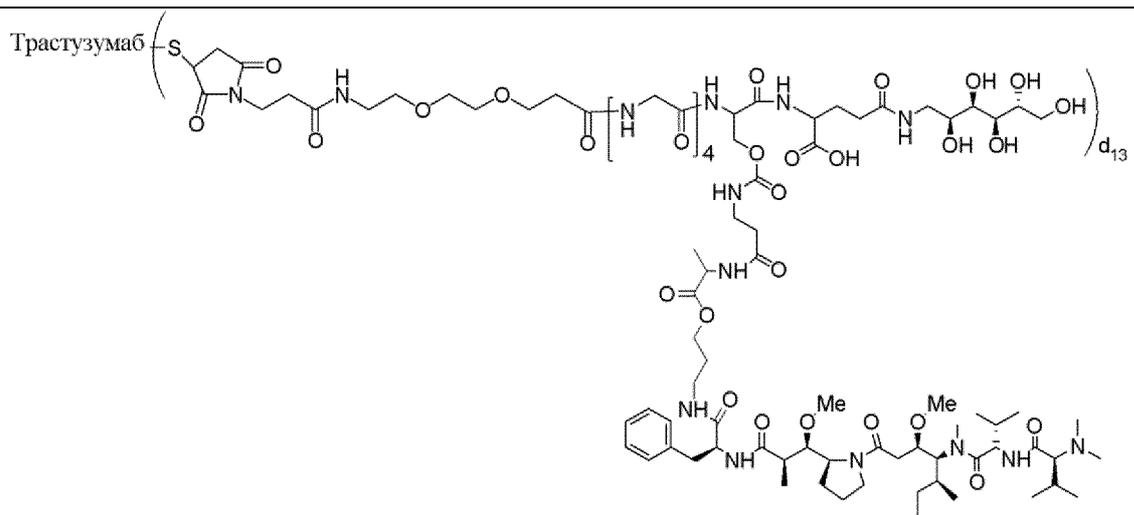
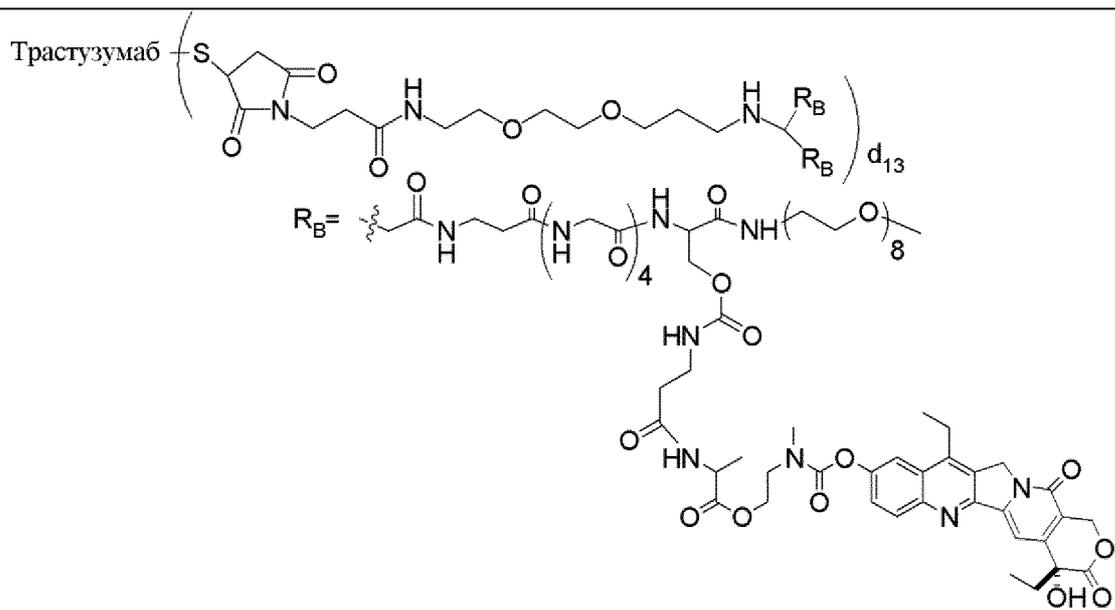
Структура



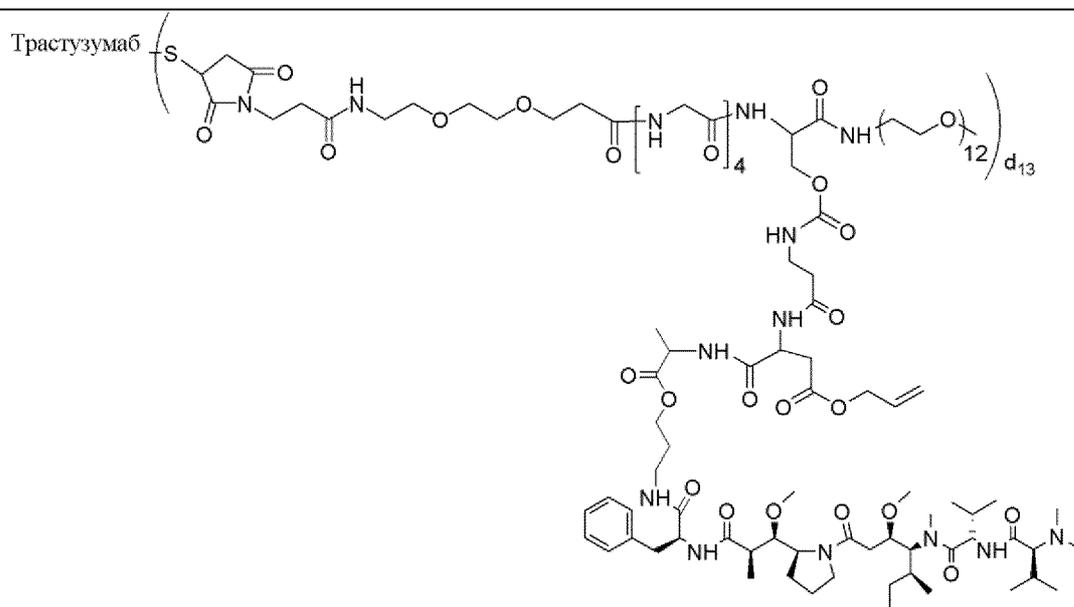
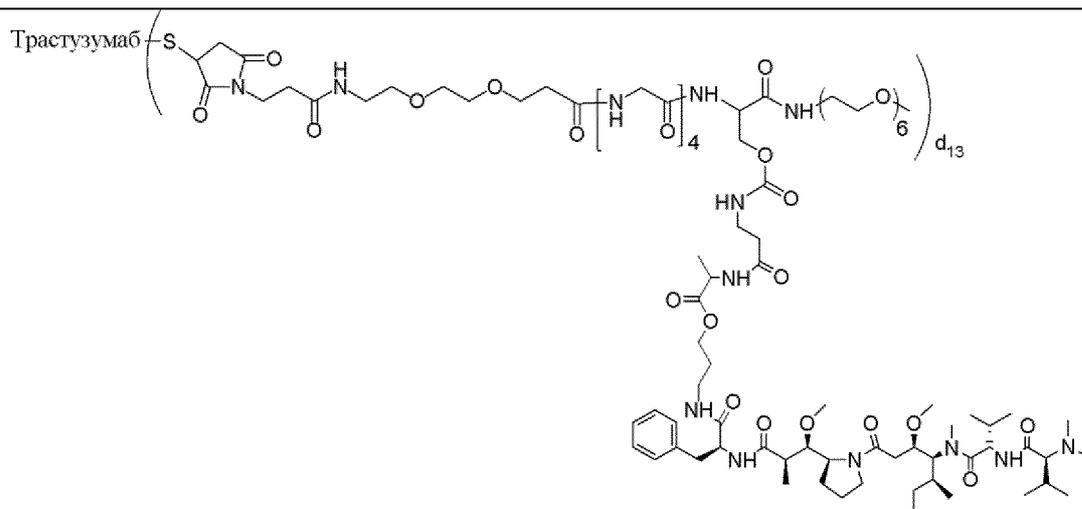
Структура



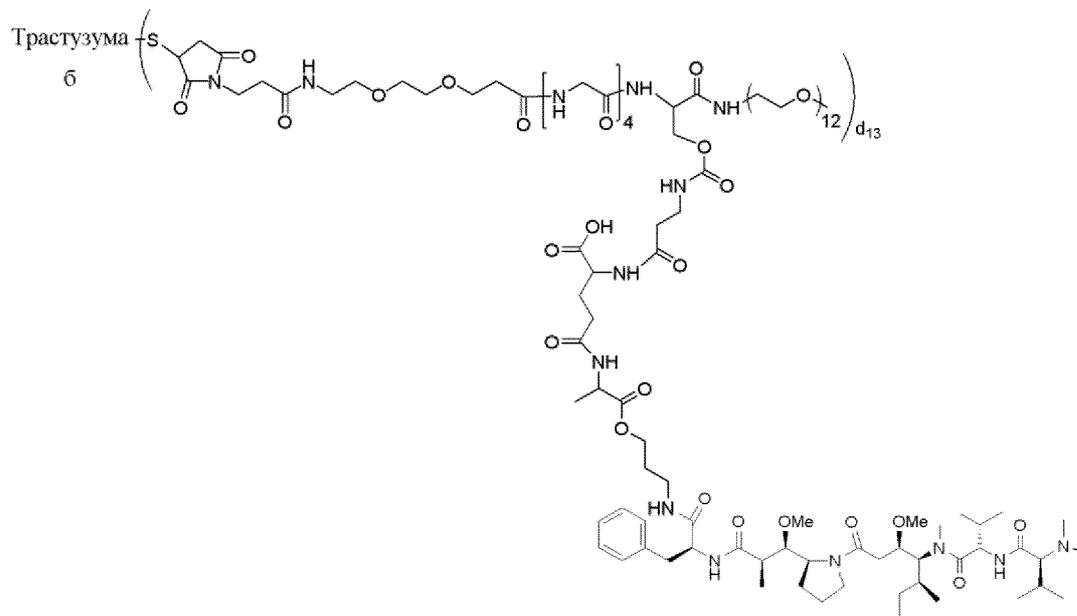
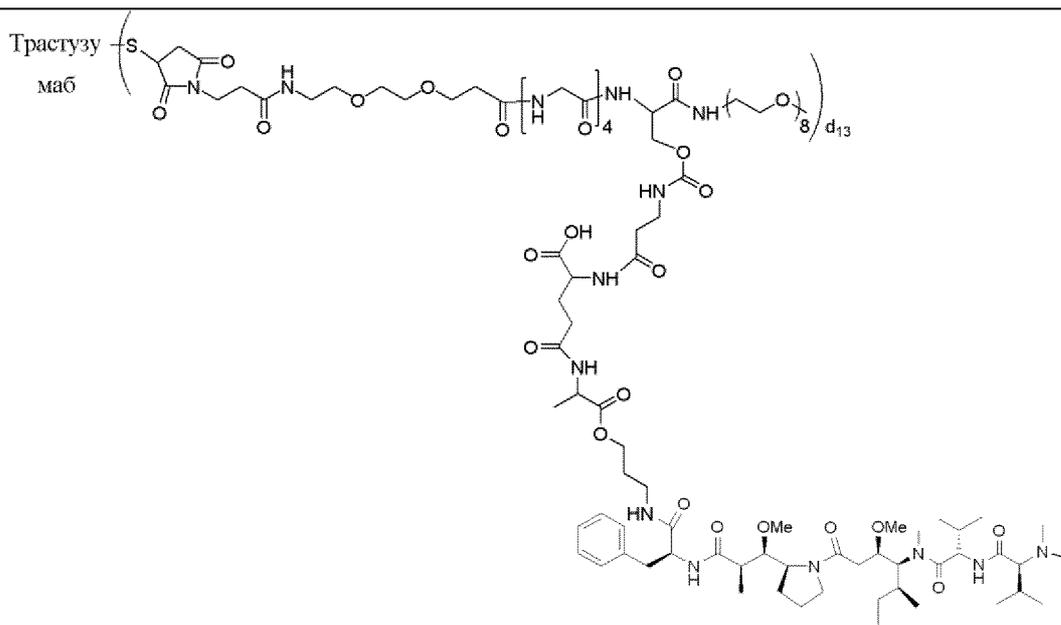
Структура



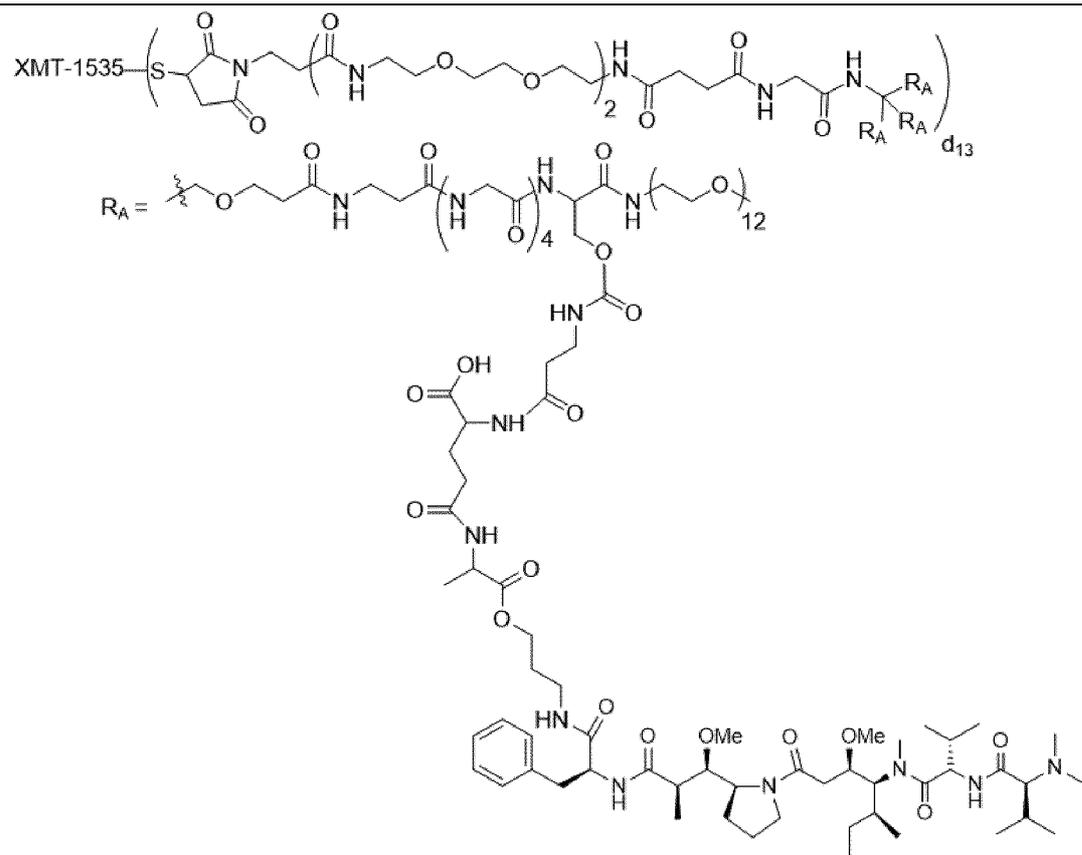
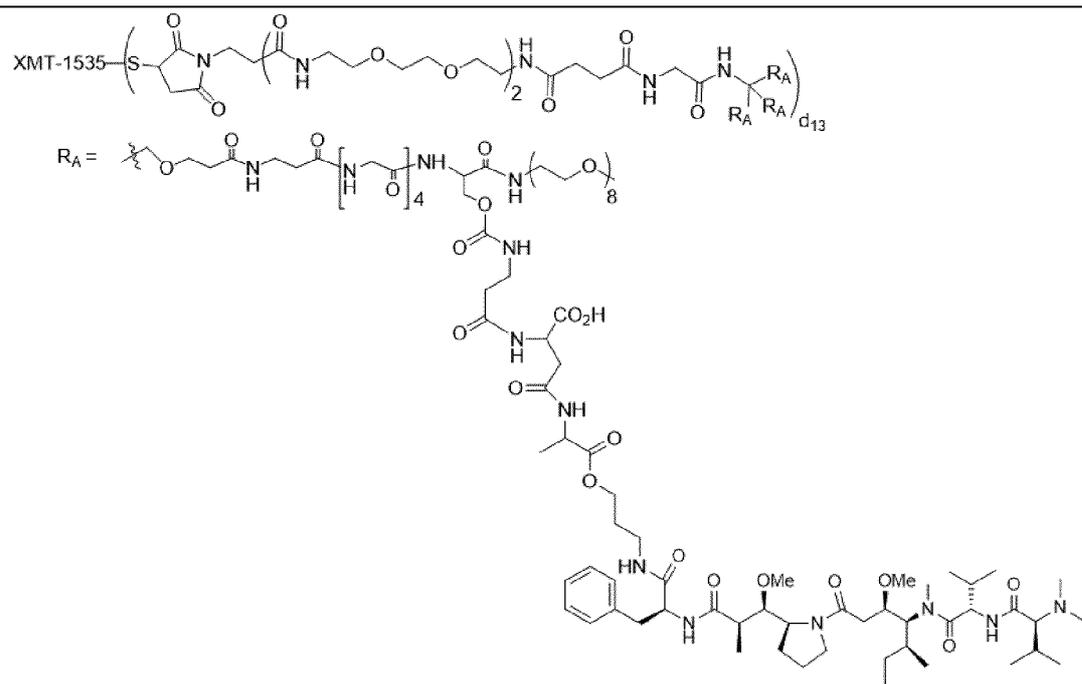
Структура



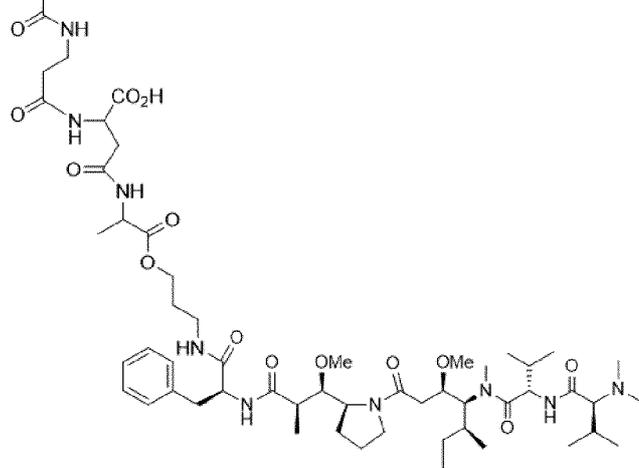
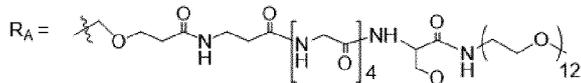
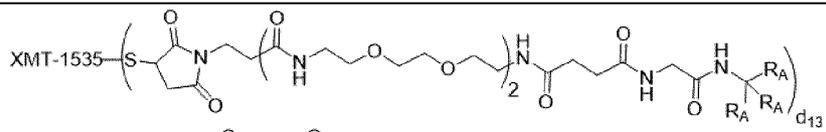
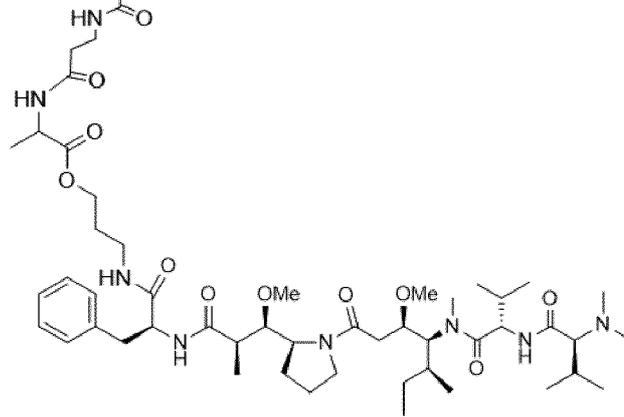
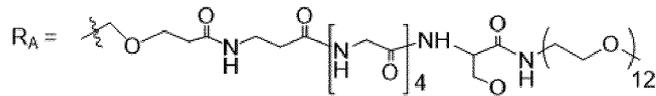
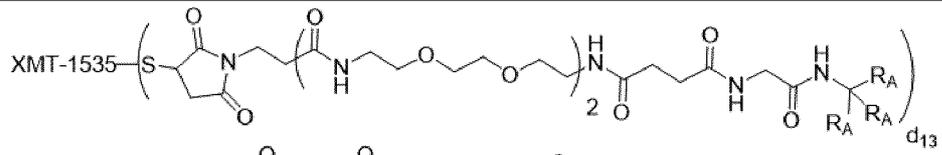
Структура



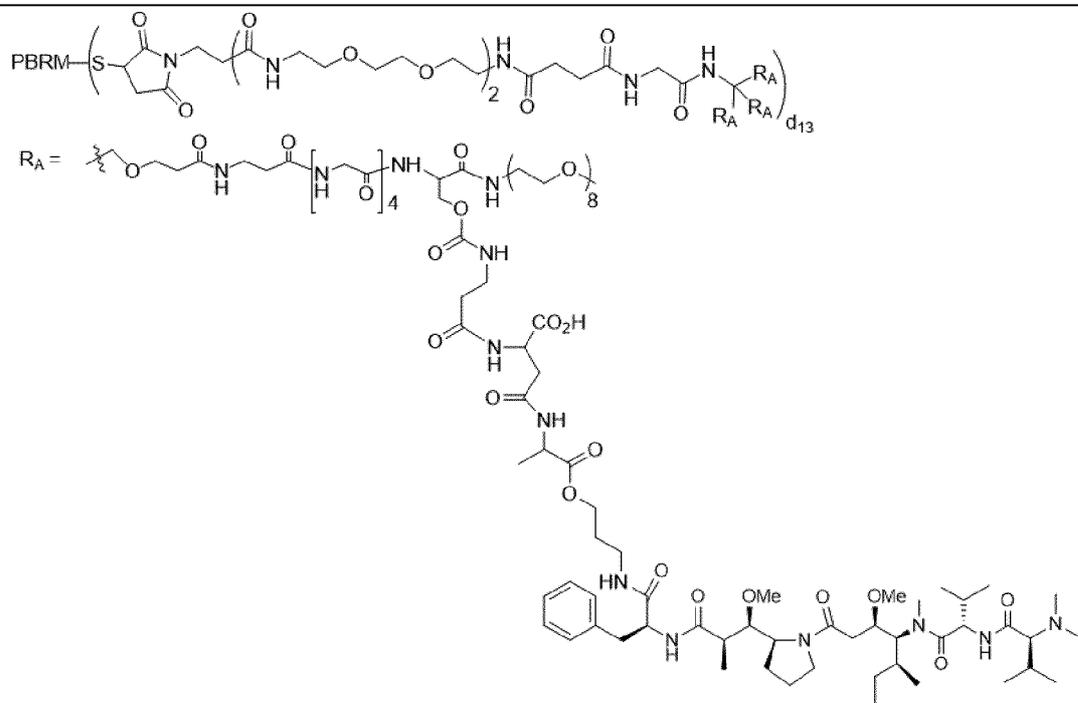
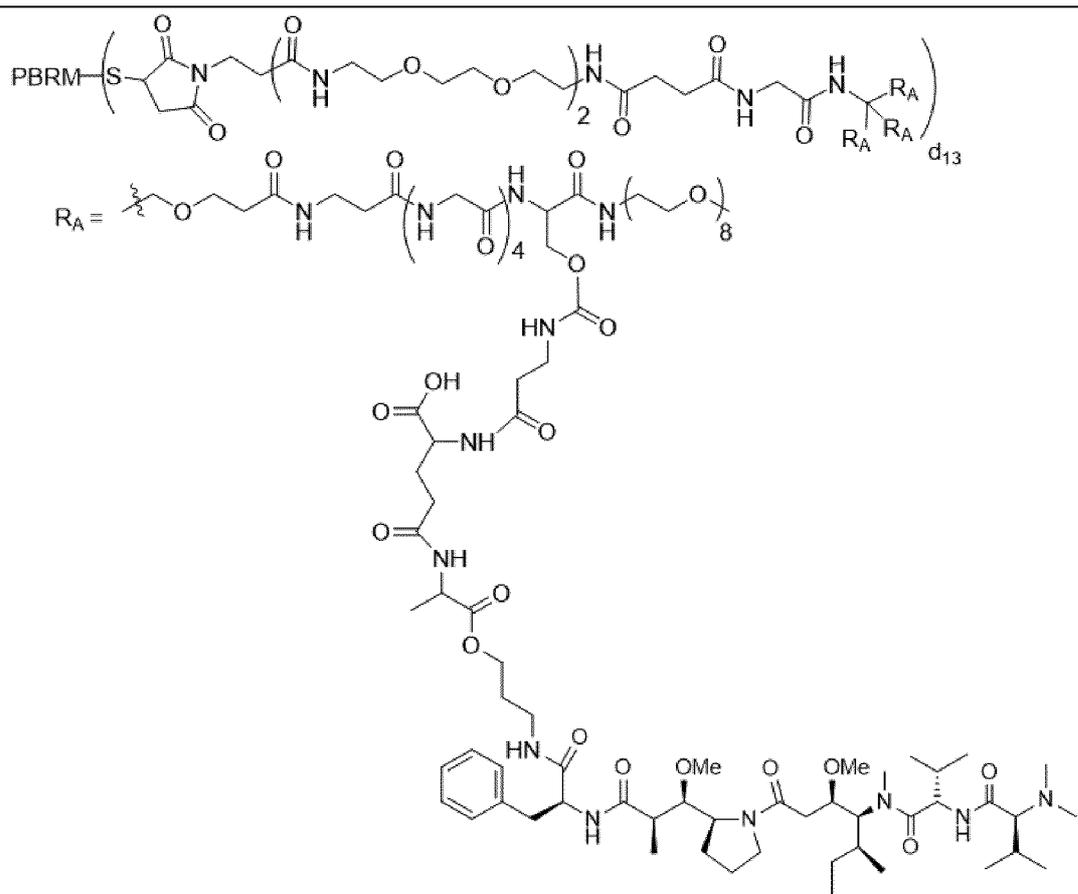
Структура



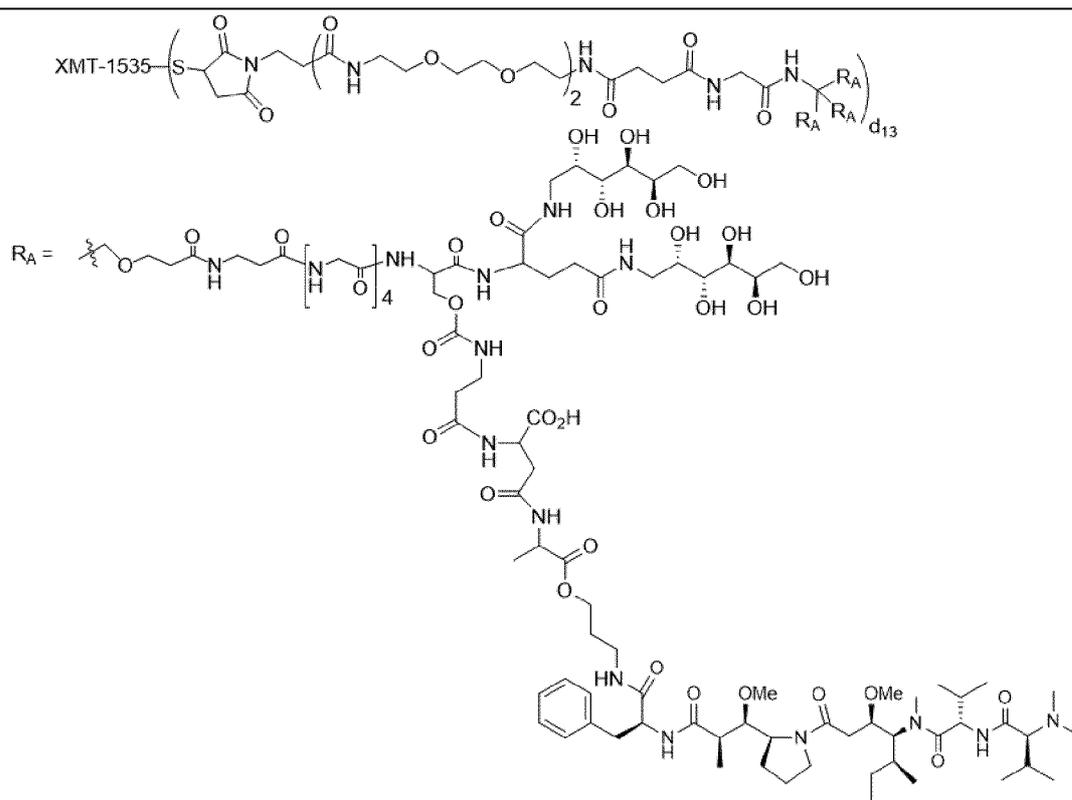
Структура



Структура



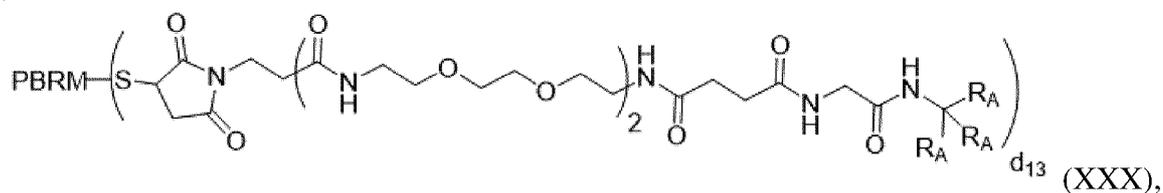
Структура



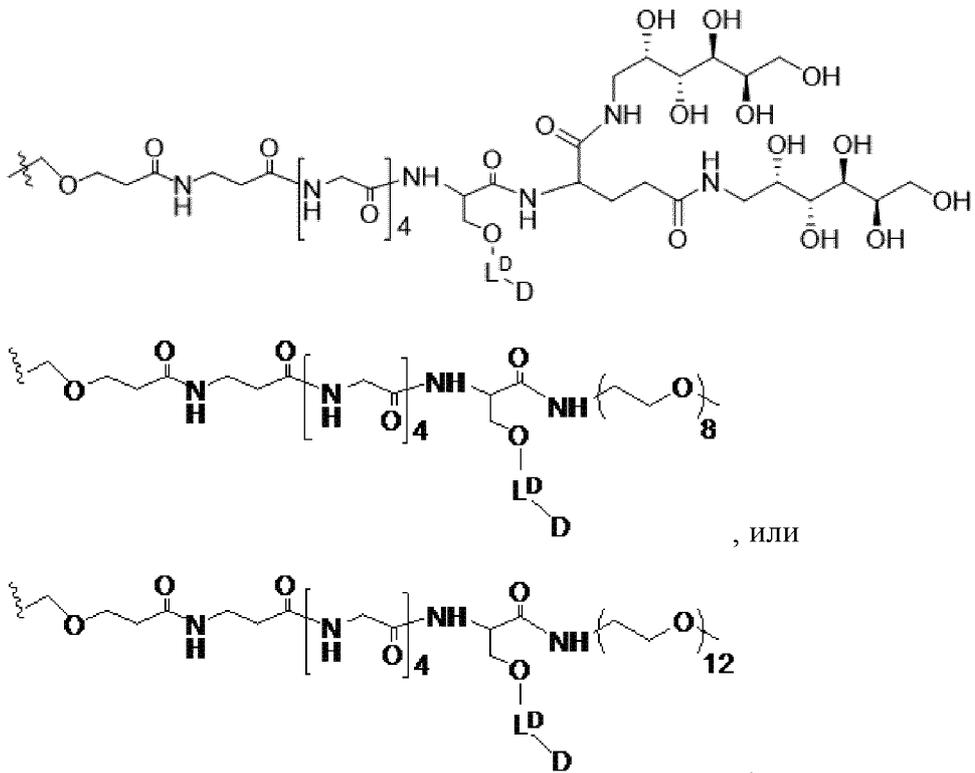
[00664] Следует понимать, что последовательность и структура XMT-1535 может быть найдена в заявке согласно PCT № PCT/US2017/022155 и заявке на патент США № 15/457574, полное содержание которых включено в данный документ посредством ссылки.

[00665] В некоторых вариантах осуществления PBRM представляет собой трастузумаб. В некоторых вариантах осуществления PBRM представляет собой XMT-1535.

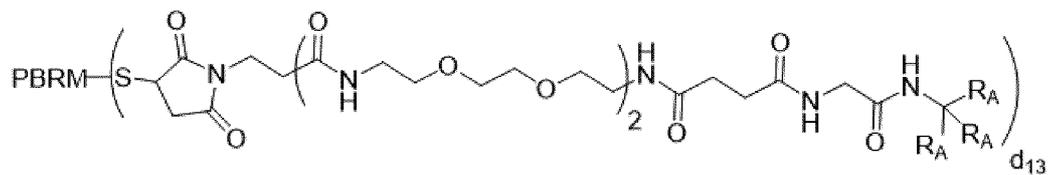
[00666] В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином конъюгаты белок-лекарственное средство представляют собой конъюгаты формулы (XXX),



где каждый R_A представляет собой

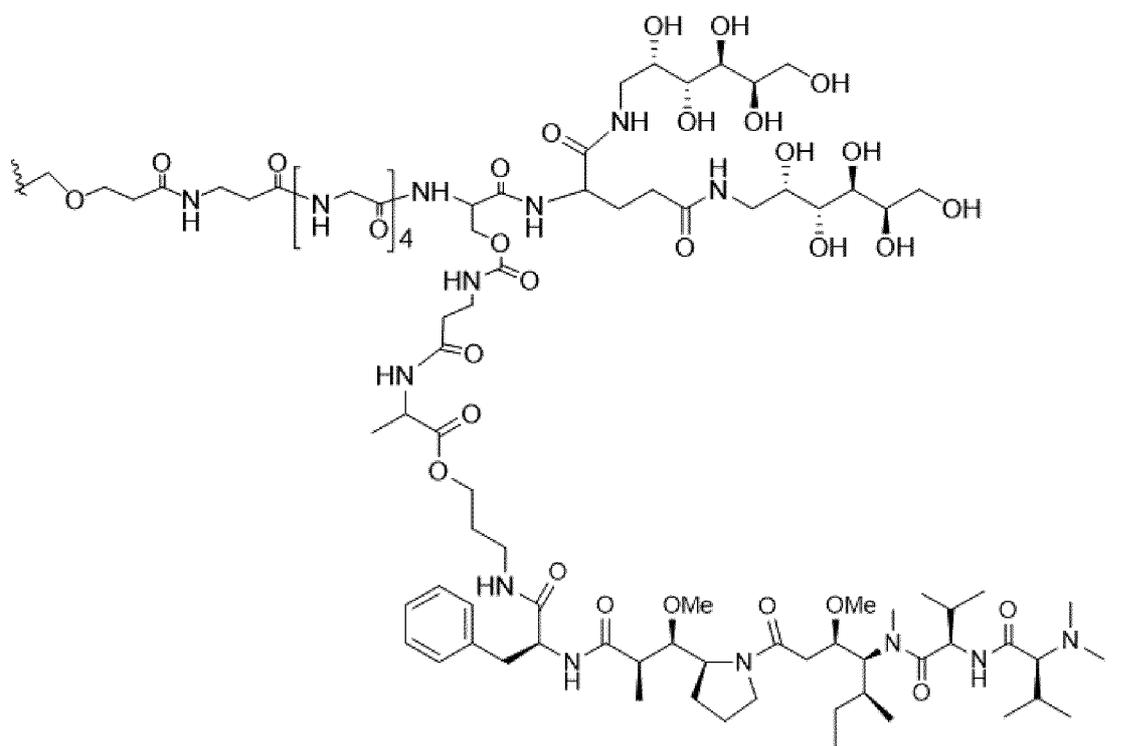
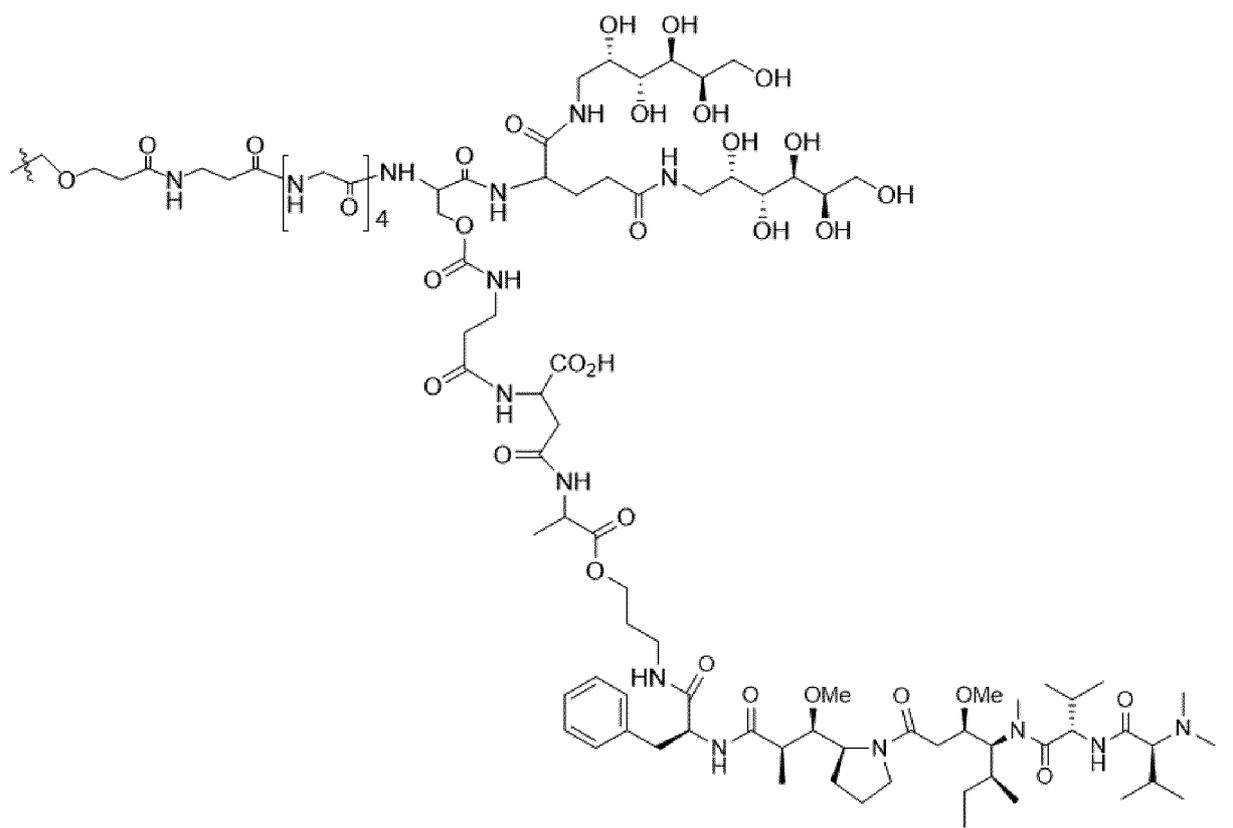


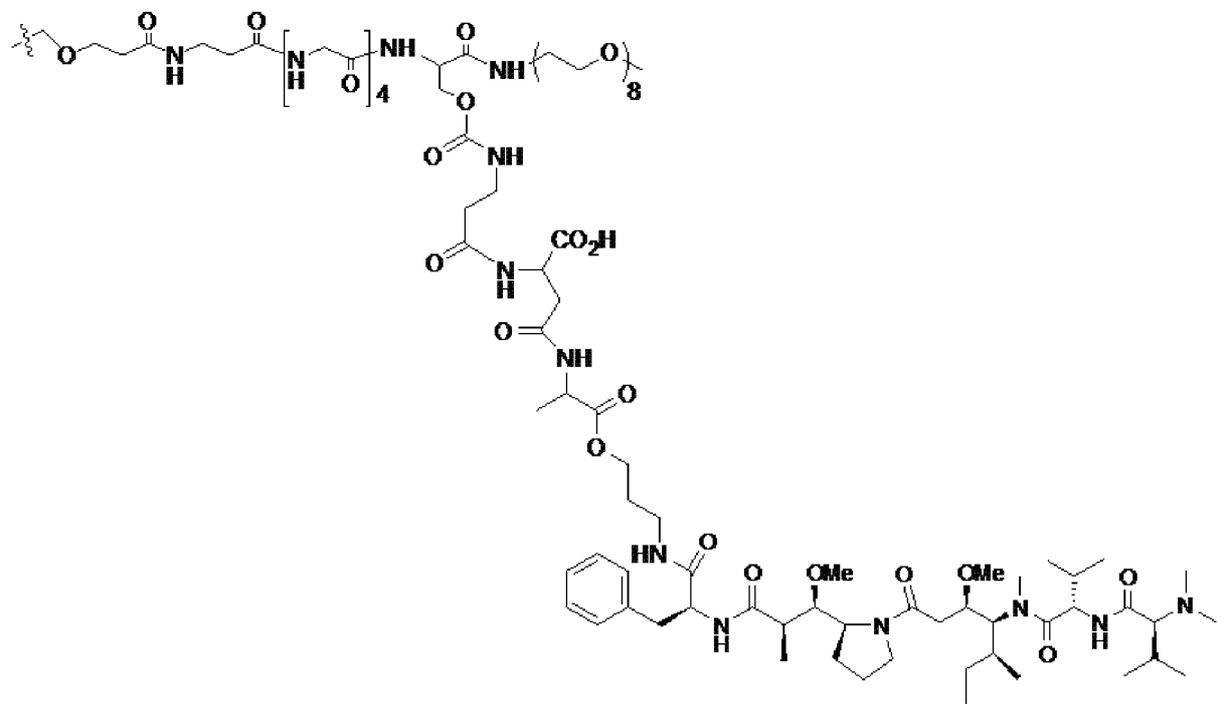
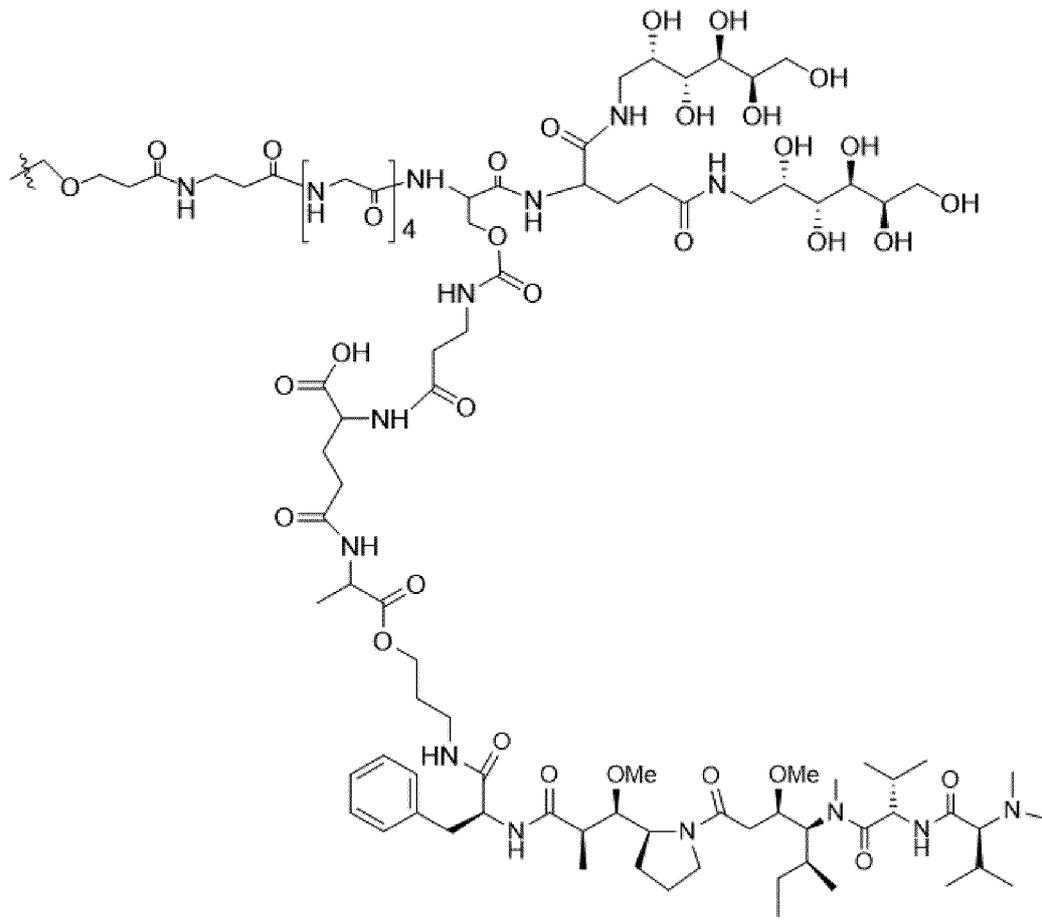
[00667] В других вариантах осуществления сконструированные с цистеином конъюгаты белок-лекарственное средство представляют собой конъюгаты формулы (XXX),

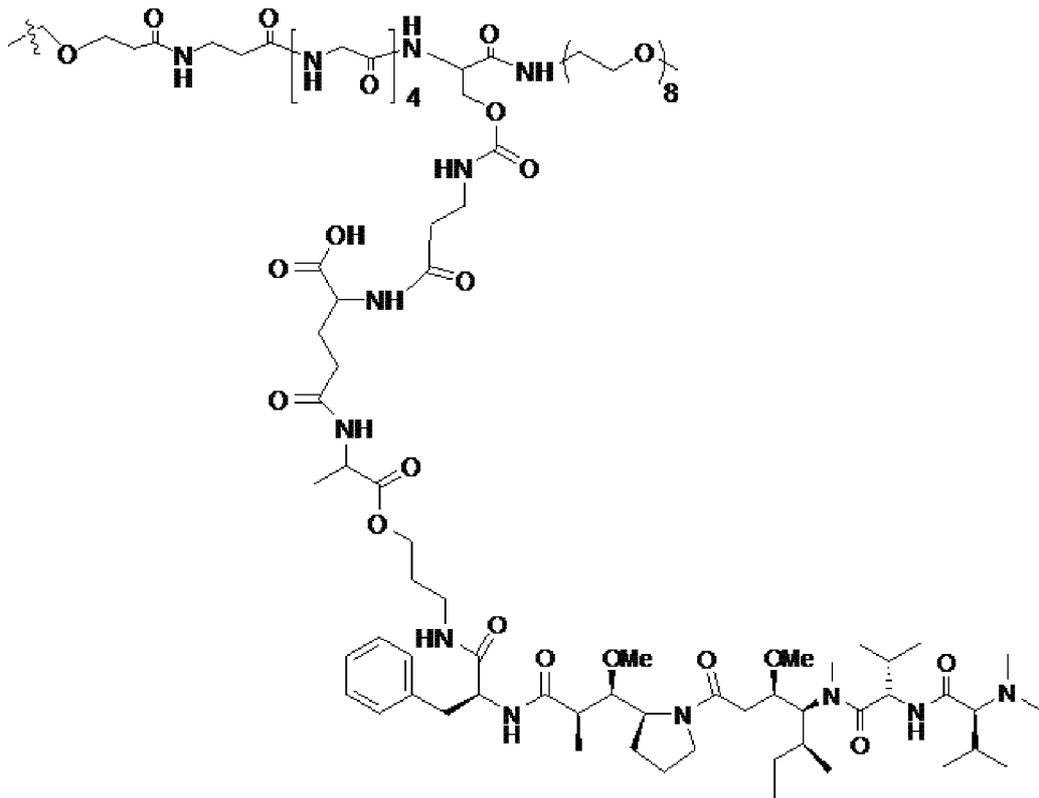
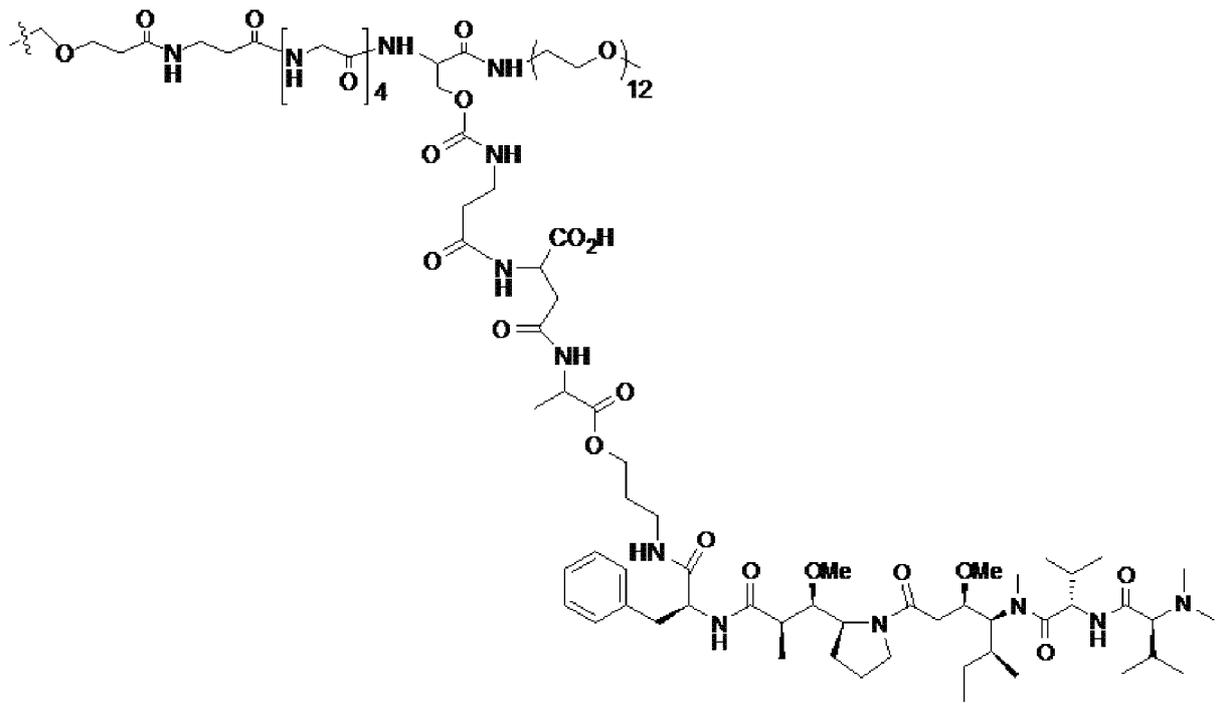


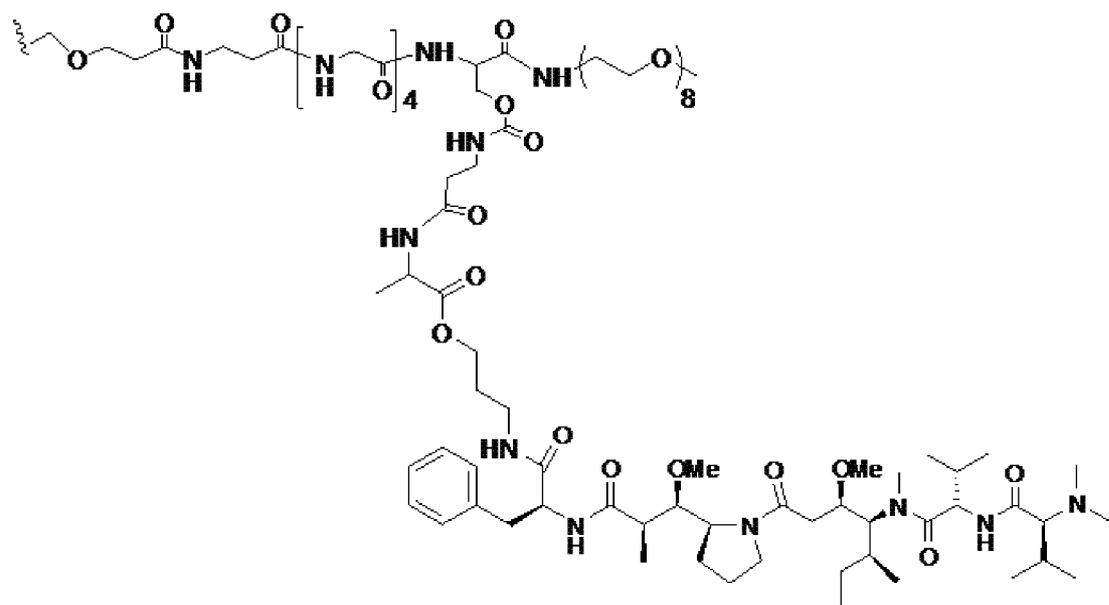
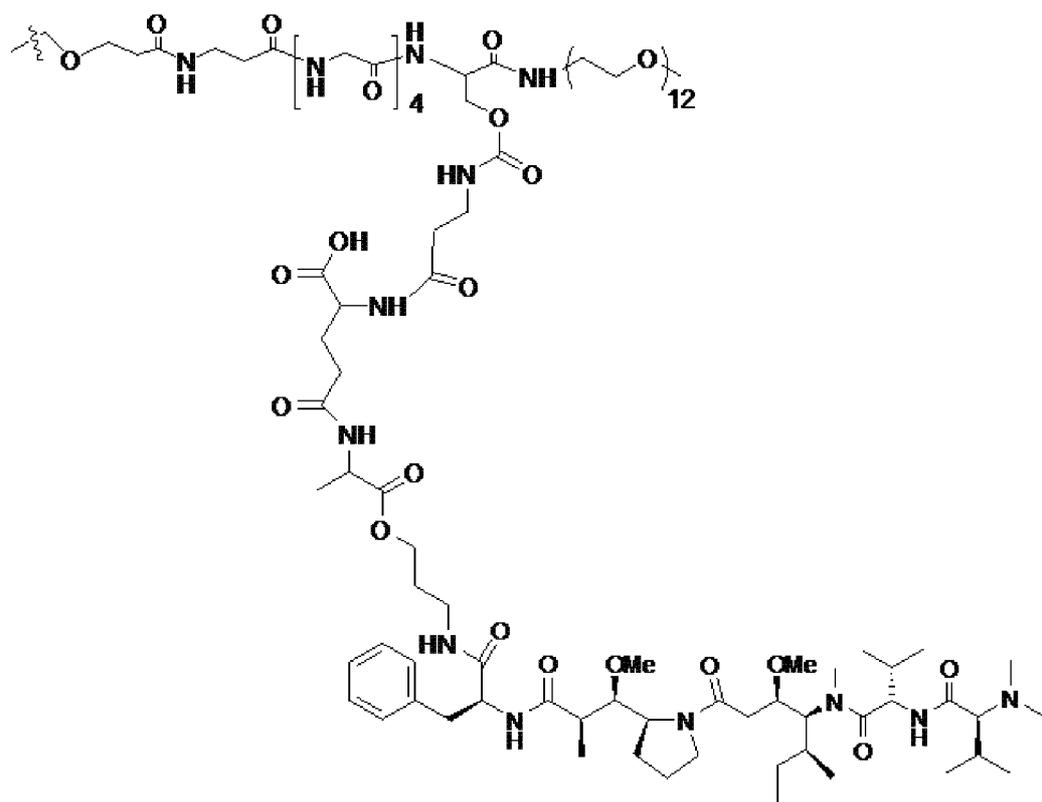
(XXX),

где каждый R_A представляет собой

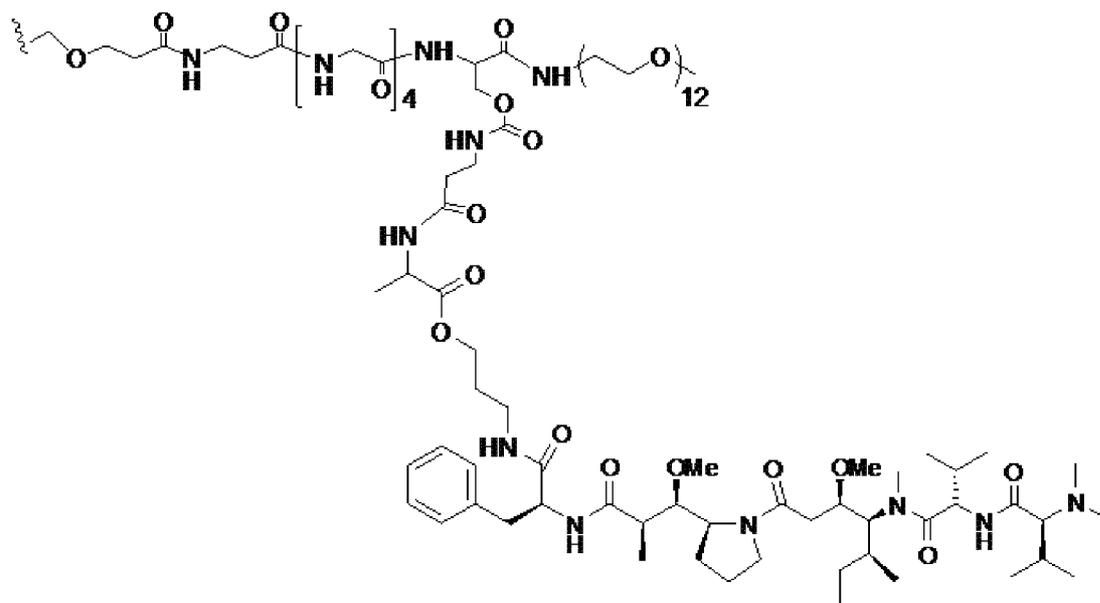




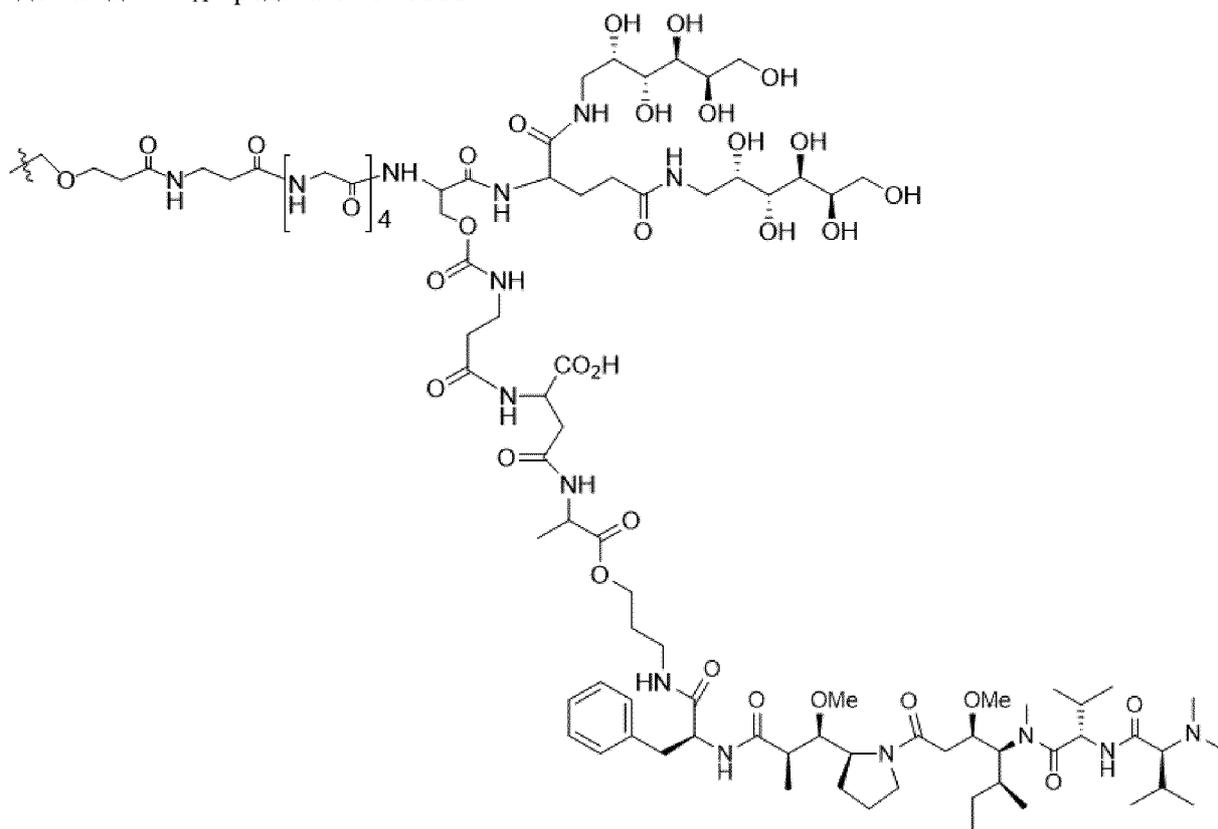




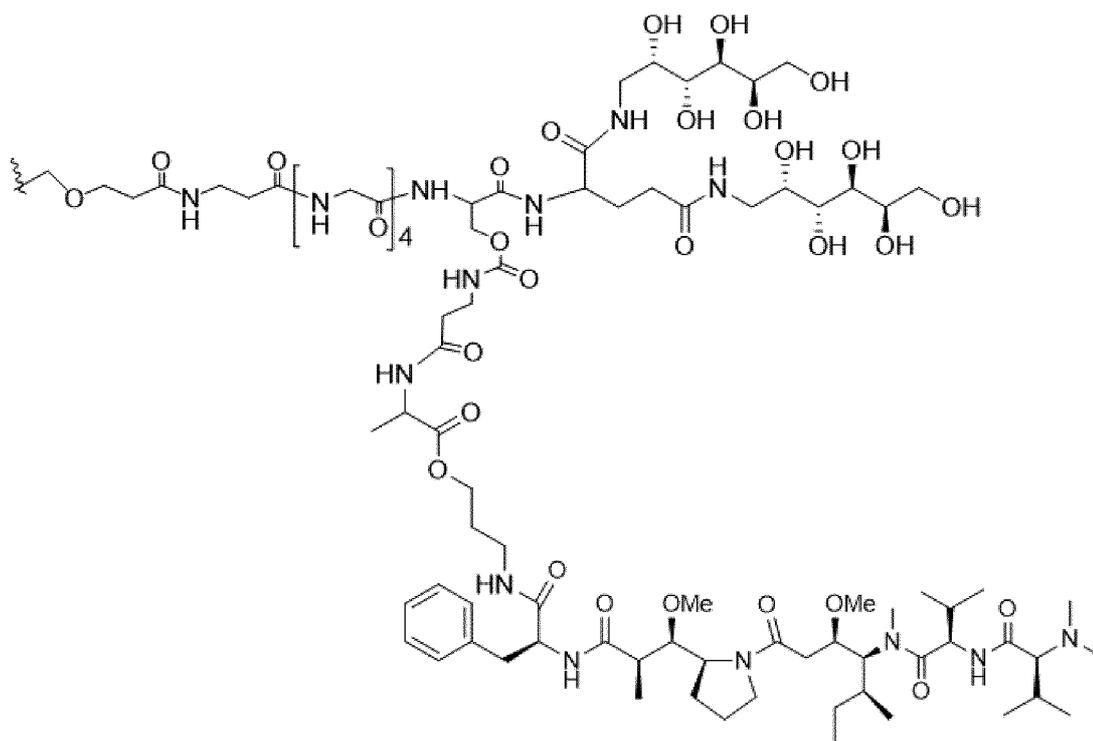
, или



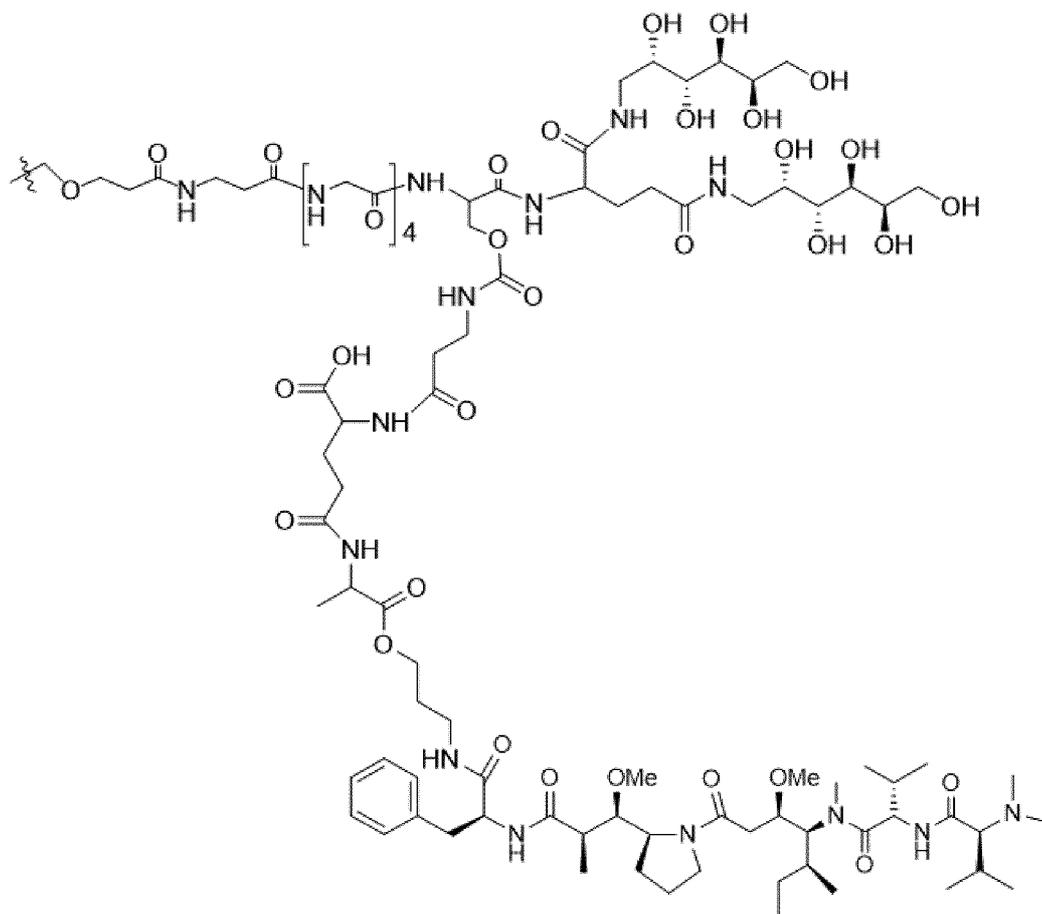
[00668] В некоторых вариантах осуществления сконструированный с цистеином конъюгат белок-лекарственное средство представляет собой конъюгат формулы (XXX), где каждый R_A представляет собой



[00669] В некоторых вариантах осуществления конъюгат белок-лекарственное средство представляет собой конъюгат формулы (XXX), где каждый R_A представляет собой

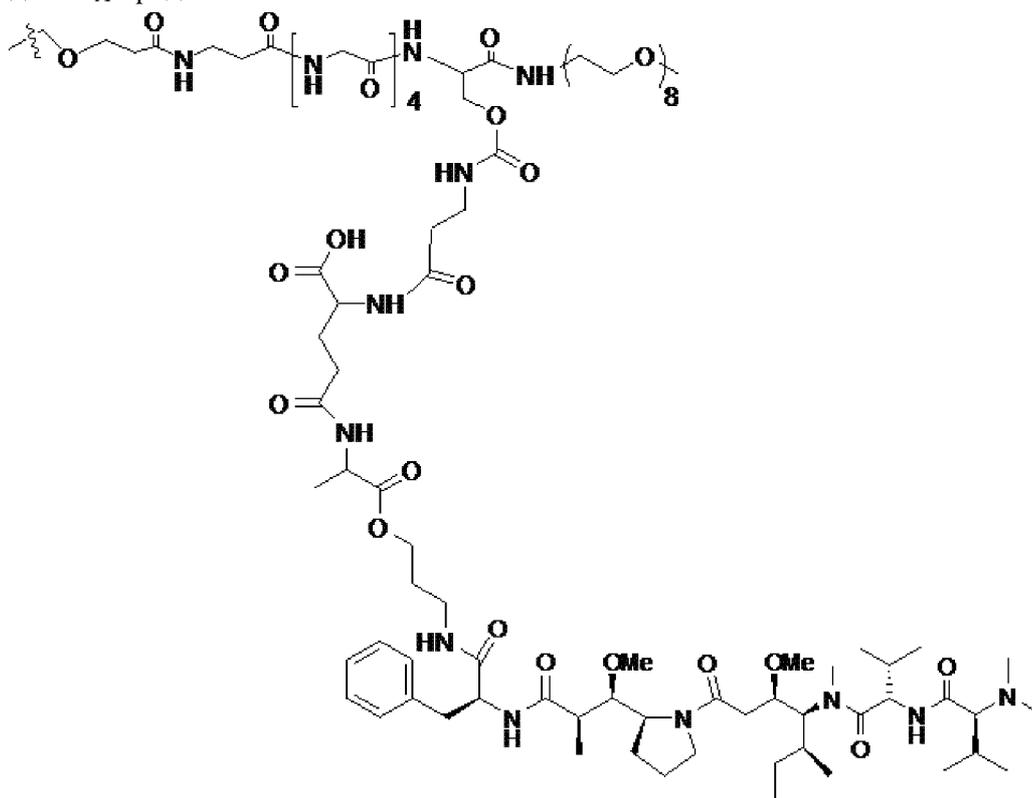


[00670] В некоторых вариантах осуществления конъюгат белок-лекарственное средство представляет собой конъюгат формулы (XXX), где каждый R_A представляет собой

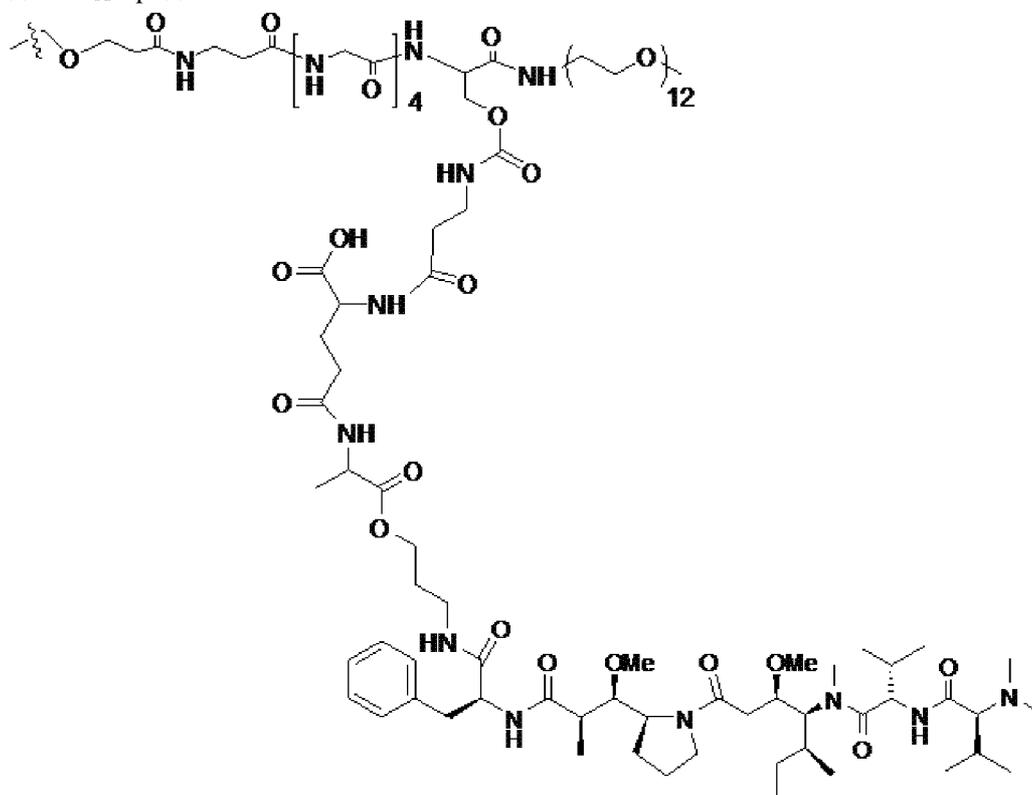


[00671] В некоторых вариантах осуществления сконструированный с цистеином

конъюгат белок-лекарственное средство представляет собой конъюгат формулы (XXX), где каждый R_A представляет собой

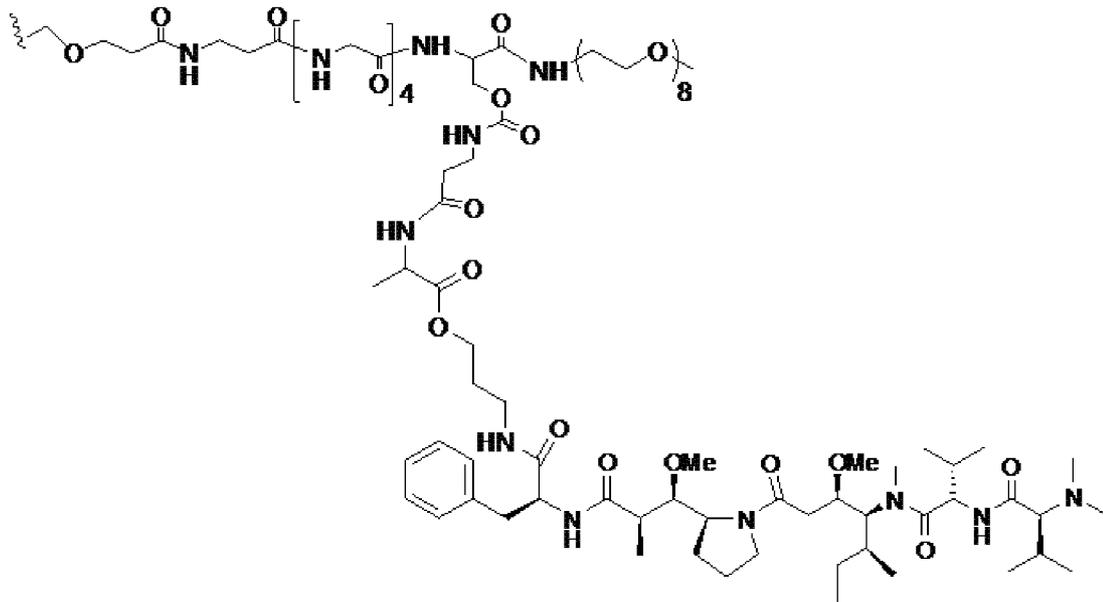


[00672] В некоторых вариантах осуществления сконструированный с цистеином конъюгат белок-лекарственное средство представляет собой конъюгат формулы (XXX), где каждый R_A представляет собой

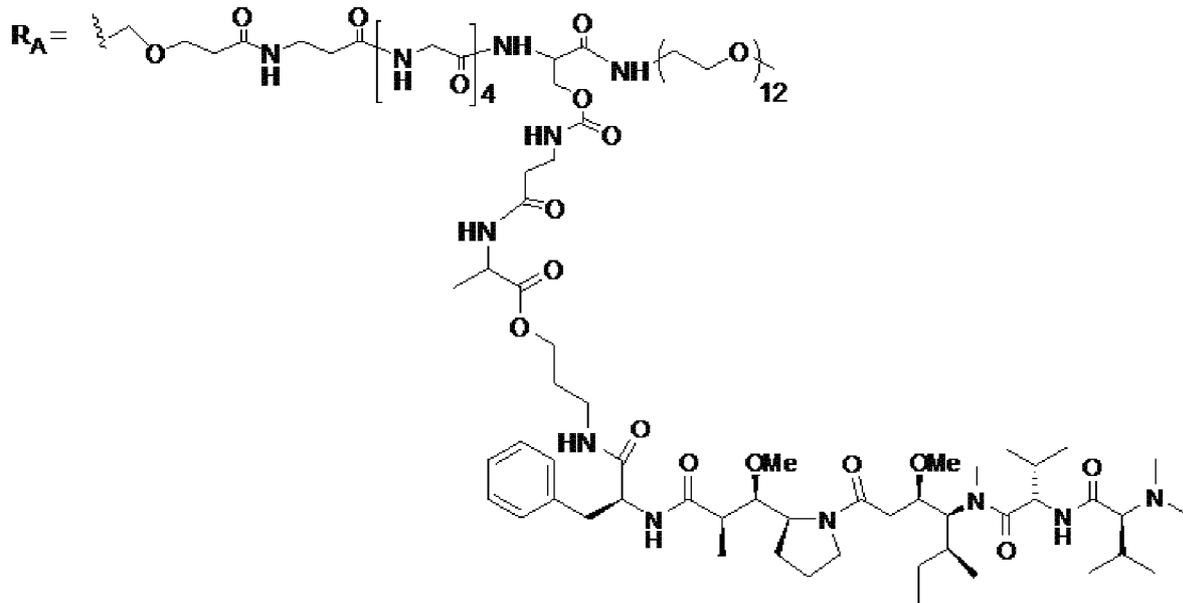


[00673] В некоторых вариантах осуществления сконструированный с цистеином

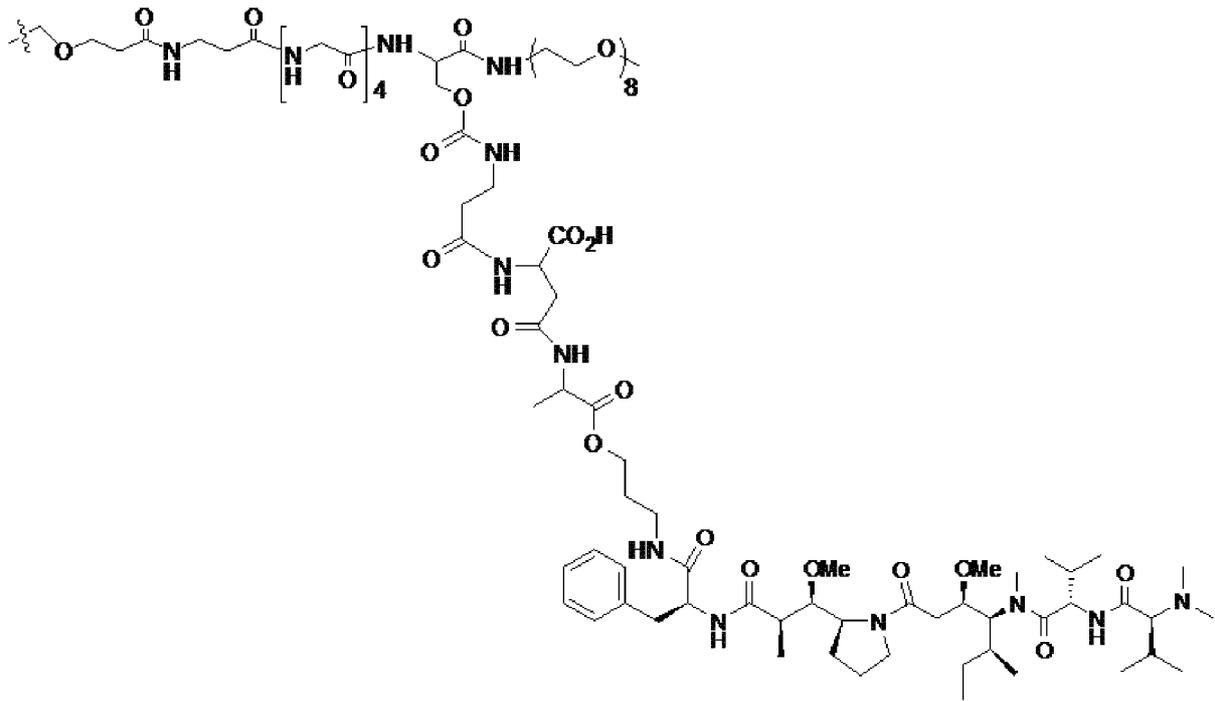
конъюгат белок-лекарственное средство представляет собой конъюгат формулы (XXX), где каждый R_A представляет собой



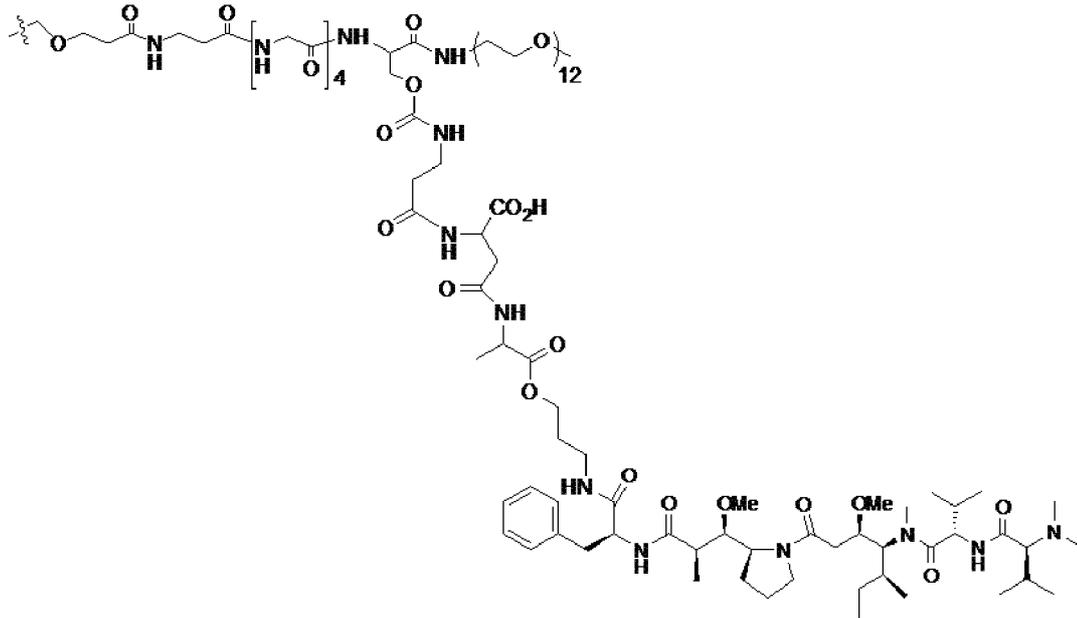
[00674] В некоторых вариантах осуществления сконструированный с цистеином конъюгат белок-лекарственное средство представляет собой конъюгат формулы (XXX), где каждый R_A представляет собой



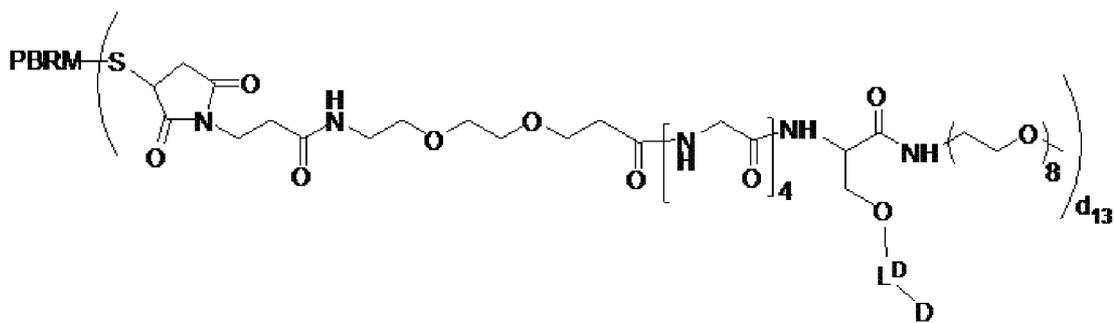
[00675] В некоторых вариантах осуществления сконструированный с цистеином конъюгат белок-лекарственное средство представляет собой конъюгат формулы (XXX), где каждый R_A представляет собой



[00676] В некоторых вариантах осуществления сконструированный с цистеином конъюгат белок-лекарственное средство представляет собой конъюгат формулы (XXX), где каждый R_A представляет собой

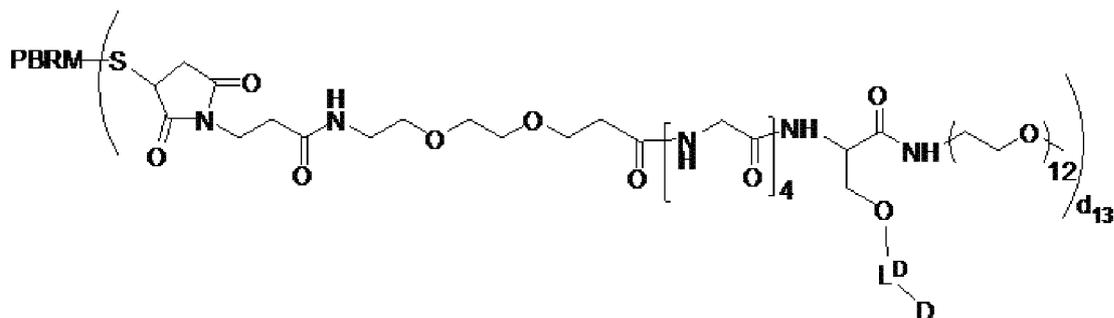


[00677] В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином конъюгаты белок-лекарственное средство представляют собой конъюгаты формул (XXXI-1), (XXXI-2), (XXXI-3) или (XXXI-4):

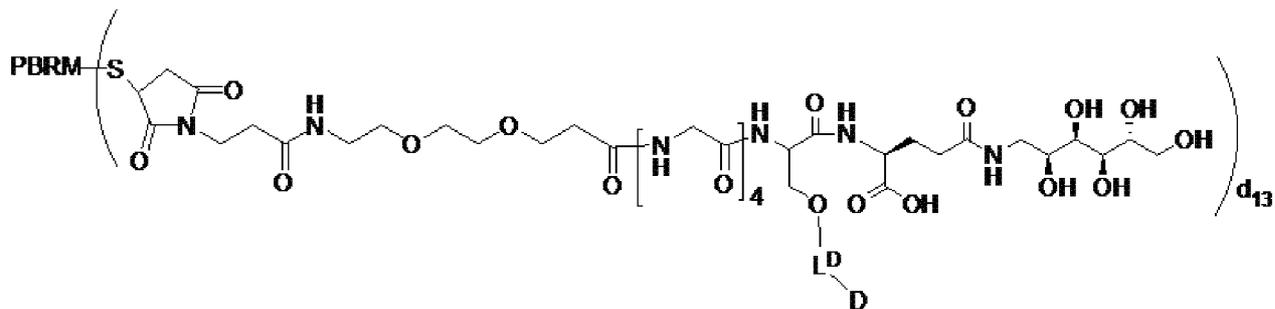


[00678]

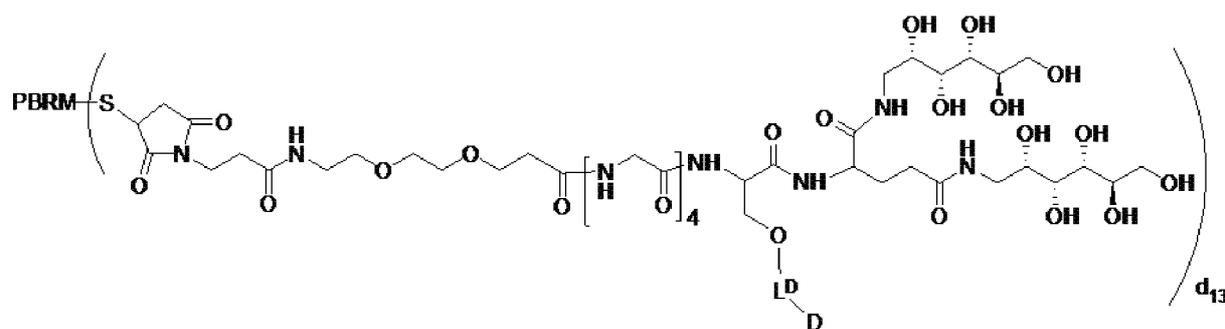
(XXXI-1),



(XXXI-2),

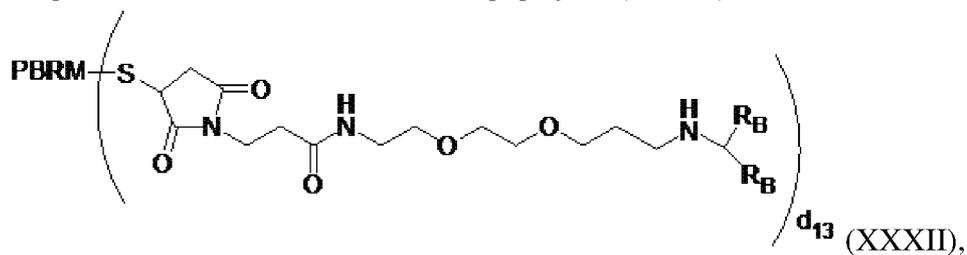


(XXXI-3) или

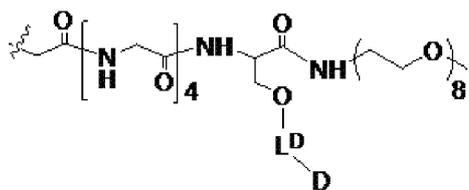
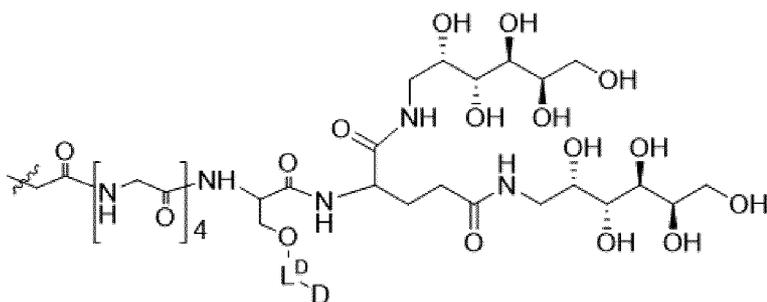
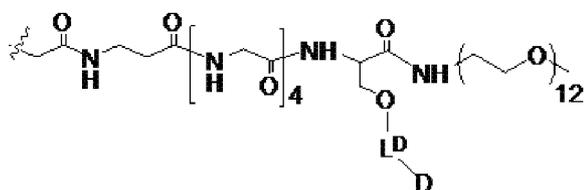
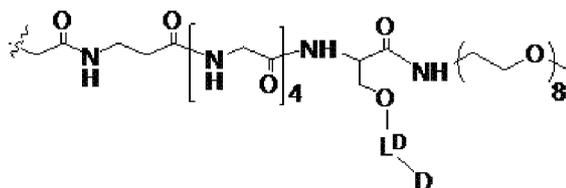
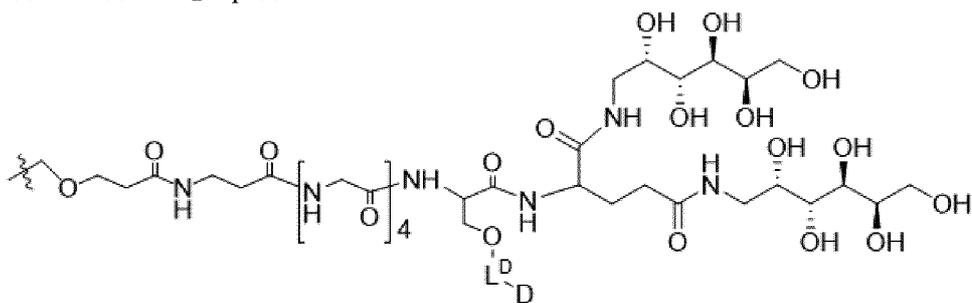


(XXXI-4).

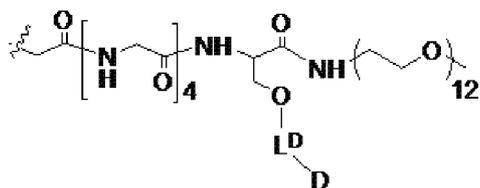
[00679] В некоторых вариантах осуществления конъюгаты белок-лекарственное средство представляют собой конъюгаты формулы (XXXII),



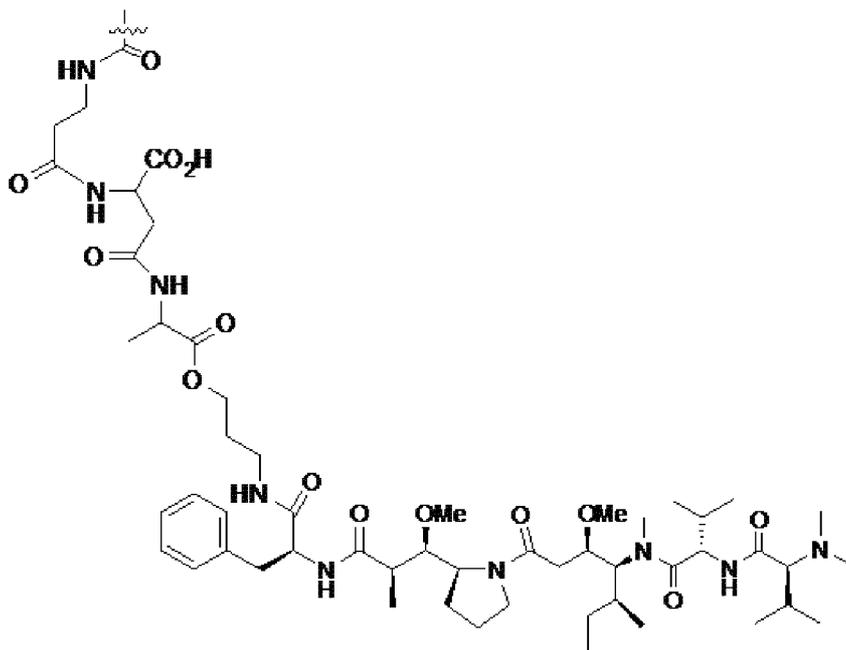
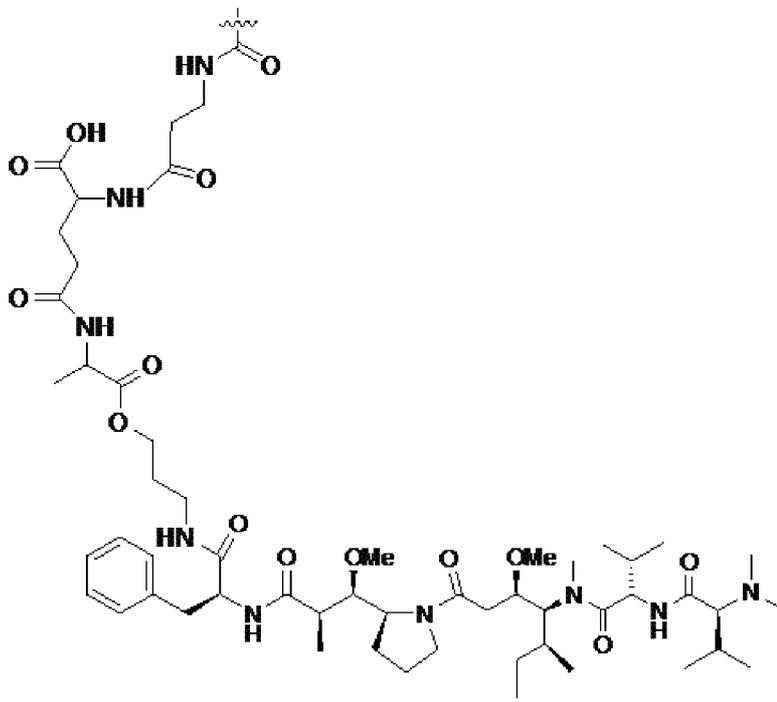
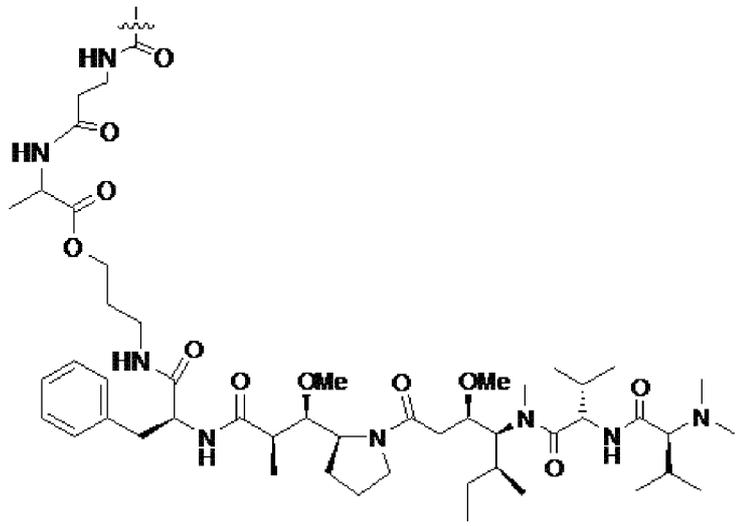
где каждый R_B представляет собой

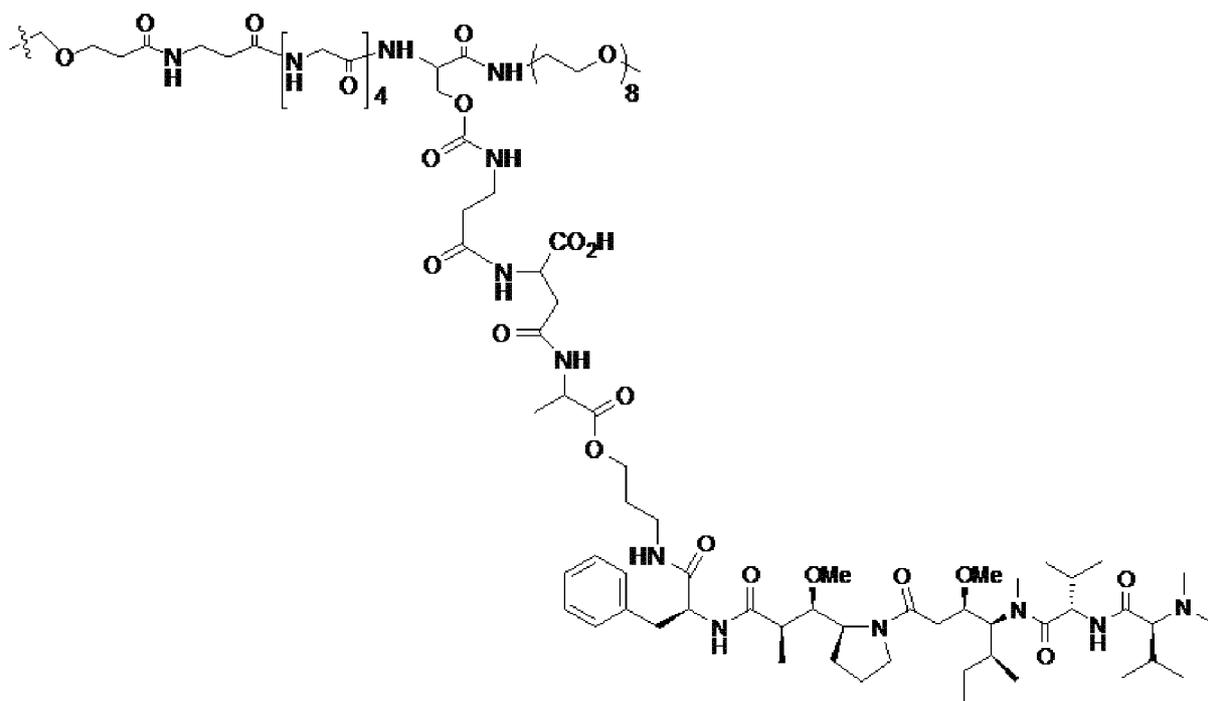


, или

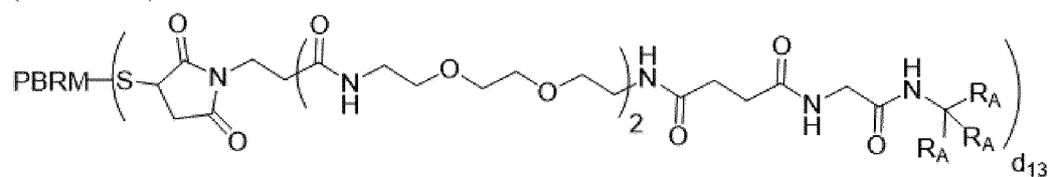
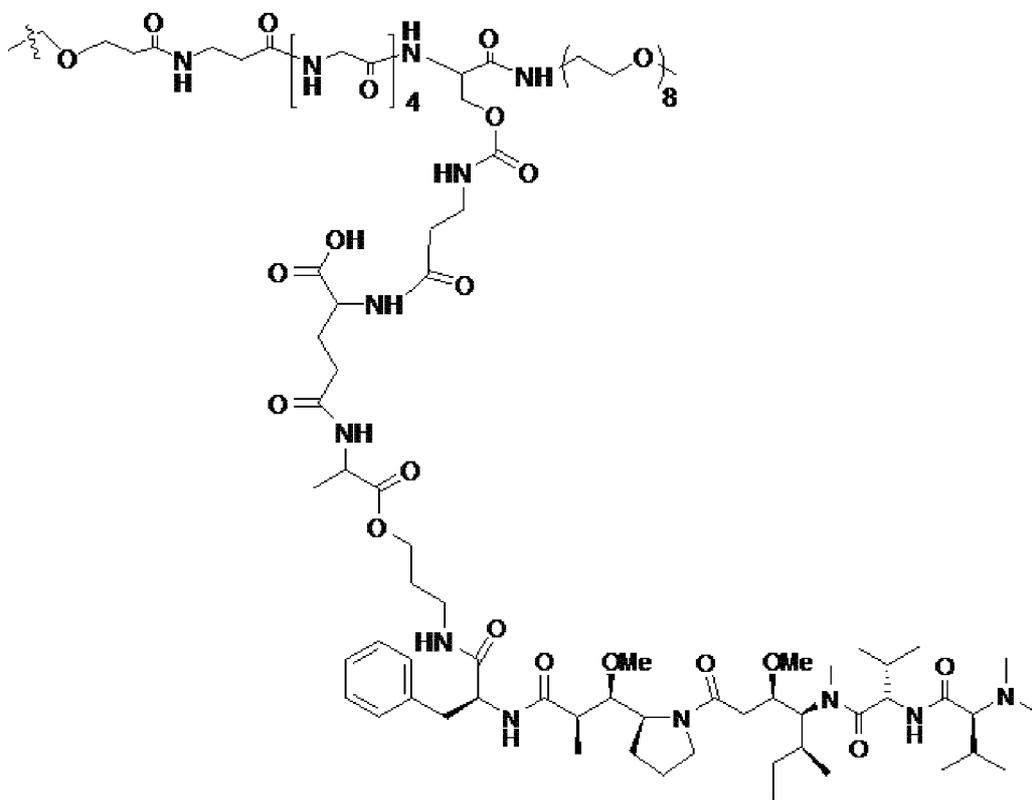


[00680] В некоторых вариантах осуществления конъюгаты белок-лекарственное средство представляют собой конъюгаты формул (XXXI-1), (XXXI-2), (XXXI-3), (XXXI-4) или (XXXII), переменный $-L^D-D$ представляет собой



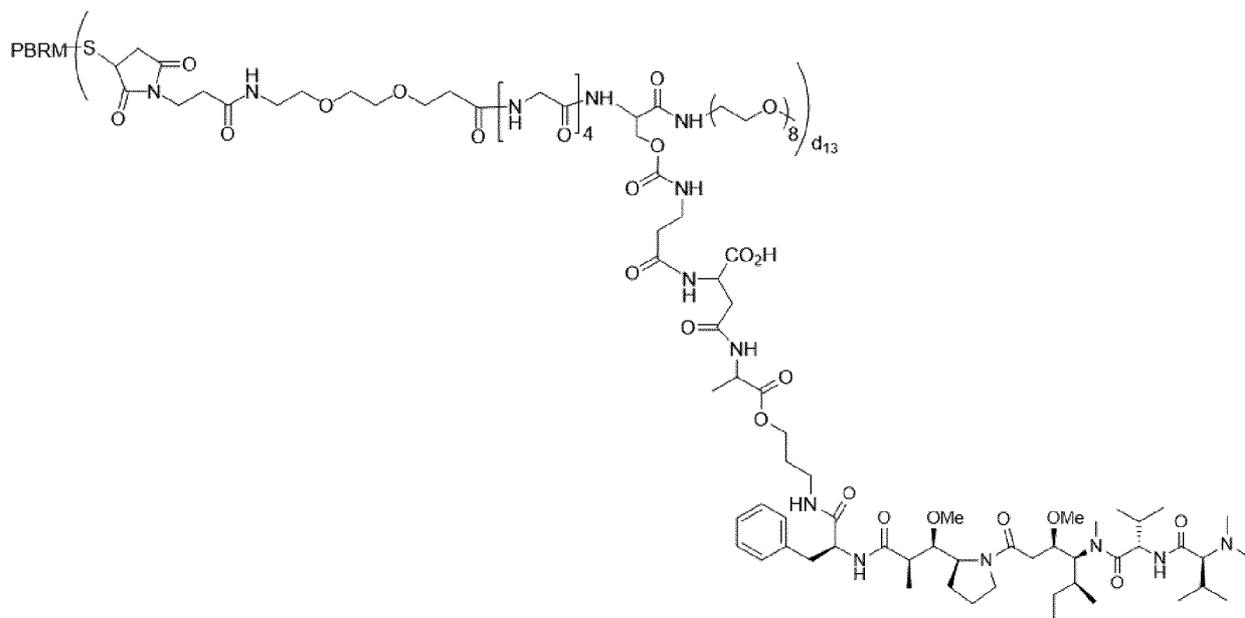


(XXXIII-2)

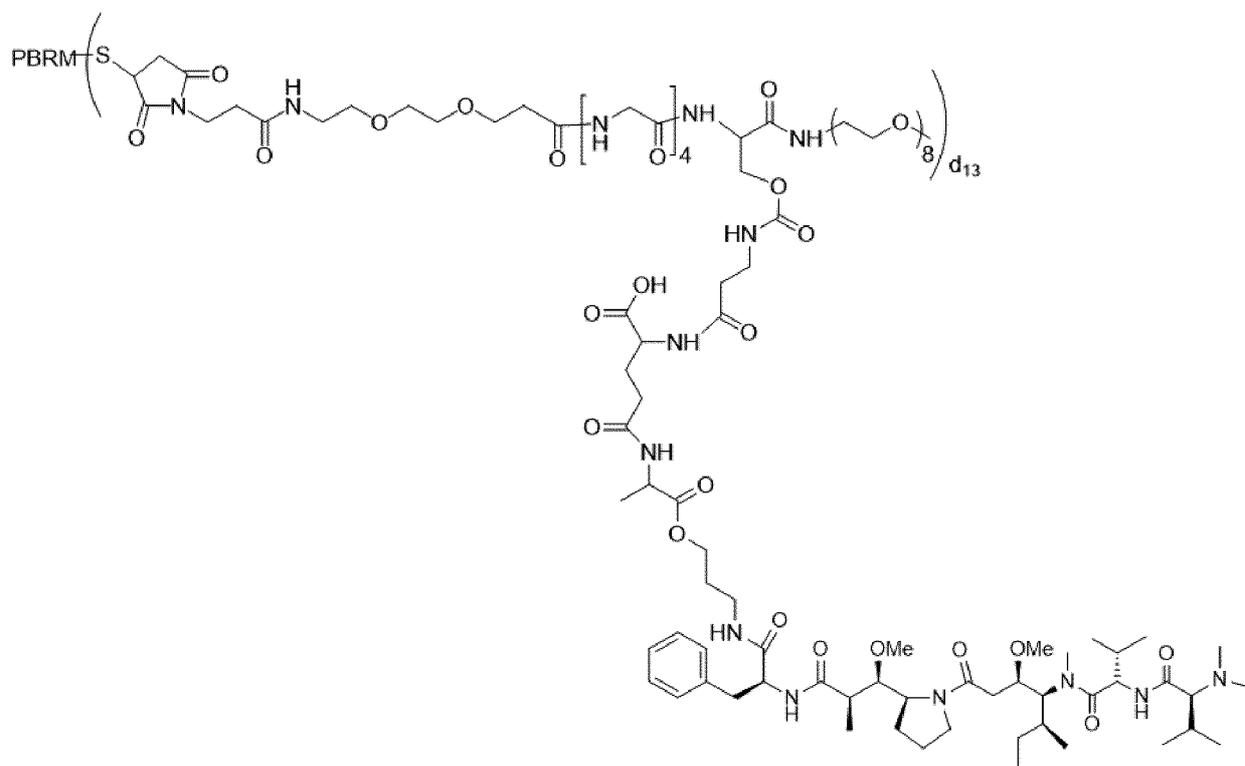
 $R_A =$ 

, или

(XXXIII-3)

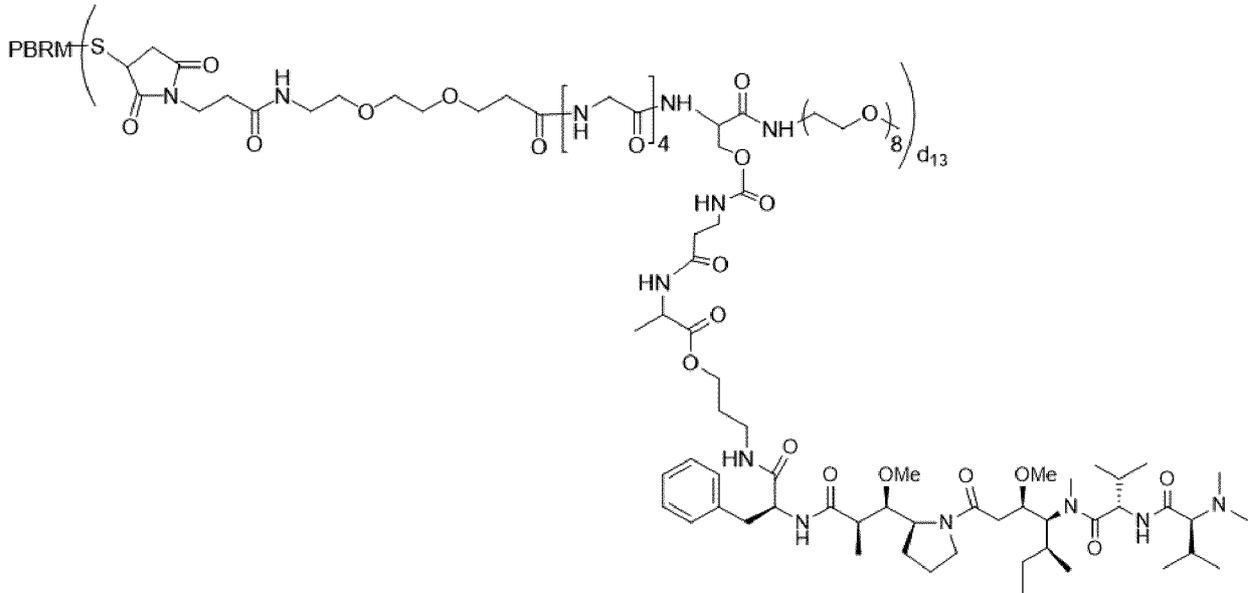


(XXXIII-7)



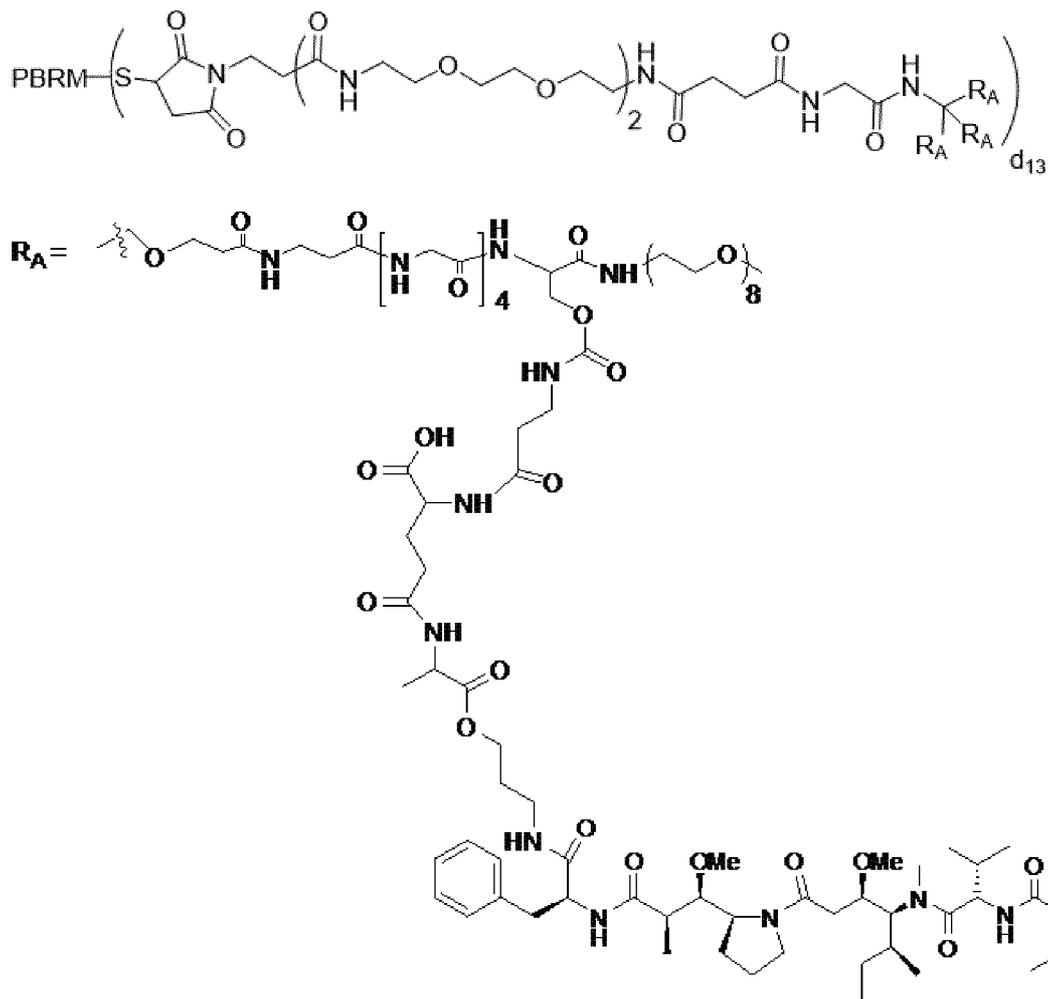
(XXXIII-8)

или



(XXXIII-9).

[00683] В некоторых вариантах осуществления сконструированные с цистеином конъюгаты белок-лекарственное средство представляют собой конъюгаты формулы (XXXIII-5),



(XXXIII-5)

где PBRM представляет собой сконструированную с цистеином PBRM,и d_{13}

является таким, как определено в данном документе.

Фармацевтические композиции

[00684] Также включены фармацевтические композиции, содержащие один или более конъюгатов, раскрытых в данном документе, в приемлемом носителе, таком как стабилизатор, буфер и т. п. Конъюгаты могут вводиться и вноситься в организм субъекта с помощью стандартных средств, со стабилизаторами, буферами и т. п., образующими фармацевтическую композицию, или без них. Введение может быть местным (включая внутриглазное и нанесение на слизистые оболочки, включая вагинальную и ректальную доставку), внутрилегочным, например, с помощью ингаляции или инсуффляции порошков или аэрозолей, включая введение с помощью небулайзера; внутритрахеальным, интраназальным, кожным и трансдермальным, пероральным или парентеральным введением, включая внутривенную, внутриартериальную, подкожную, внутрибрюшинную или внутримышечную инъекцию или инфузию, или внутричерепное, например, интратекальное или интравентрикулярное введение. Конъюгаты могут быть составлены и могут применяться в виде стерильных растворов и/или суспензий для инъекционного введения; лиофилизированных порошков для растворения перед осуществлением инъекции/инфузии; композиций для местного применения; в виде таблеток, капсул или настоек для перорального введения или суппозитория для ректального введения и других композиций, известных из уровня техники.

[00685] Термин фармакологическая композиция или состав относится к композиции или составу в форме, подходящей для введения, например, системного введения в клетку или в организм субъекта, включая, например, человека. Подходящие формы частично зависят от применения или пути введения, например, перорального, путем вдыхания, трансдермального или с помощью инъекции/инфузии. Такие формы не должны препятствовать достижению композицией или составом клетки-мишени (т. е. клетки, доставка лекарственного средства к которой является желательной). В некоторых вариантах осуществления фармакологические композиции, подлежащие введению посредством инъекции в кровоток, должны являться растворимыми. Другие факторы известны из уровня техники и включают факторы, которые необходимо принимать во внимание, такие как токсичность и формы, которые препятствуют оказанию эффекта композицией или составом.

[00686] Термином «системный путь введения» обозначают системную абсорбцию или накопление конъюгата в кровотоке *in vivo* с последующим распределением по всему организму. Пути введения, которые приводят к системной абсорбции, включают без ограничения внутривенный, подкожный, внутрибрюшинный, ингаляционный, пероральный, внутрилегочный и внутримышечный. Каждый из этих путей введения обеспечивает воздействие конъюгатов на доступную ткань, пораженную заболеванием. Было показано, что скорость попадания активного средства в кровоток представляет собой функцию молекулярной массы или размера. Применение конъюгата по настоящему изобретению может ограничить распространение лекарственного средства доставкой к

определенным клеткам, таким как раковые клетки, посредством специфичности PBRM.

[00687] Термин «фармацевтически приемлемый состав» обозначает композицию или состав, которые обеспечивают возможность для эффективного распределения конъюгатов в физическом местоположении, наиболее подходящем для их требуемой активности. В некоторых вариантах осуществления эффективная доставка происходит перед выведением с помощью ретикулоэндотелиальной системы или получением нецелевого связывания, которое может приводить к снижению эффективности или токсичности. Неограничивающие примеры средств, подходящих для составления с конъюгатами, включают ингибиторы Р-гликопротеина (такие как Pluronic P85), которые могут увеличивать проникновение активных средств в CNS; биоразлагаемые полимеры, такие как микросферы поли-(DL-лактид-когликолид) для замедленного высвобождения после интрацеребральной имплантации; и несущие наночастицы, такие как наночастицы, полученные из полибутилцианоакрилата, которые способны доставлять активные средства через гематоэнцефалический барьер и способны изменять механизмы поглощения в нейронах.

[00688] Также в данный документ включены фармацевтические композиции, полученные для хранения или введения, которые содержат фармацевтически эффективное количество требуемых конъюгатов в фармацевтически приемлемом носителе или разбавителе. Приемлемые носители, разбавители и/или вспомогательные вещества для терапевтического применения широко известны в области фармацевтики. В некоторых вариантах осуществления могут быть предусмотрены буферы, консерванты, объемообразующие средства, диспергирующие средства, стабилизаторы, красители. Кроме того, могут применяться антиоксиданты и суспендирующие средства. Примеры подходящих носителей, разбавителей и/или вспомогательных веществ включают без ограничения (1) фосфатно-солевой буфер Дульбекко с рН приблизительно 6,5, который содержит приблизительно от 1 мг/мл до 25 мг/мл человеческого сывороточного альбумина, (2) 0,9% солевой раствор (0,9% вес/об. NaCl) и (3) 5% (вес/об.) декстрозу.

[00689] Термин «фармацевтически эффективное количество», используемый в данном документе, относится к количеству фармацевтического средства, требуемому для лечения, облегчения или предупреждения определенного заболевания или состояния, или для демонстрации выявляемого терапевтического или подавляющего эффекта. Эффект может быть выявлен с помощью любого аналитического способа, известного из уровня техники. Точное эффективное количество, требуемое для субъекта, зависит от веса, размера тела и состояния здоровья субъекта; природы и степени тяжести состояния; а также терапевтического средства или комбинации терапевтических средств, выбранных для введения. Фармацевтически эффективные количества для данной ситуации могут быть определены путем проведения обычного эксперимента, который находится в пределах компетенции лечащего врача. В предпочтительном аспекте лечение заболевания или состояния может осуществляться с помощью сайленсинга генов.

[00690] Что касается любого конъюгата, то фармацевтически эффективное

количество может быть изначально определено либо в ходе проведения анализов с использованием культуры клеток, *например*, опухолевых клеток, или на животных моделях, обычно на крысах, мышах, кроликах, собаках или свиньях. Животная модель может также использоваться для определения подходящего диапазона концентраций и пути введения. Затем такая информация может использоваться для определения применимых доз и путей введения у людей. Терапевтическая и/или профилактическая эффективность и токсичность могут быть определены с использованием стандартных фармацевтических процедур на культурах клеток или экспериментальных животных, *например*, ED₅₀ (доза, обладающая терапевтической эффективностью у 50% популяции) и LD₅₀ (доза, летальная для 50% популяции). Соотношение между эффектами токсичности и терапевтическими эффектами для дозы представляет собой терапевтический индекс, и он может быть выражен в виде соотношения LD₅₀/ED₅₀. Фармацевтические композиции, которые демонстрируют высокий терапевтический индекс, являются предпочтительными. Доза может изменяться в пределах данного диапазона в зависимости от используемой лекарственной формы, чувствительности пациента и используемого пути введения.

[00691] В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство или его производные, конъюгаты на основе лекарственного средства или конъюгаты PBRM-лекарственное средство могут быть оценены в отношении их способности подавлять рост опухоли в нескольких клеточных линиях с применением CellTiter-Glo. Кривые доза-эффект могут быть получены с использованием программного обеспечения SoftMax Pro, и значения IC₅₀ могут быть определены с помощью подбора четырехпараметрической кривой. Используемые клеточные линии могут включать клеточные линии, которые являются целевыми по отношению к PBRM, и контрольную клеточную линию, которая не является целевой по отношению к PBRM, содержащиеся в тестируемых конъюгатах.

[00692] В некоторых вариантах осуществления конъюгаты составлены для парентерального введения с помощью инъекции, включающего применение традиционных методик катетеризации или инфузии. Составы для инъекционного введения могут быть представлены в виде стандартной лекарственной формы, например, в ампулах или многодозовых контейнерах, с добавлением консерванта. Конъюгаты могут вводиться парентеральным путем в стерильной среде. В зависимости от используемого вида носителя и концентрации используемый конъюгат может быть либо суспендирован, либо растворен в носителе. Предпочтительно, вспомогательные средства, такие как местные анестетики, консерванты и буферные средства, могут быть растворены в носителе. Термин «парентеральный» используемый в данном документе, включает чрескожную, подкожную, внутрисосудистую (например, внутривенную), внутримышечную или интратекальную методики проведения инъекции или инфузии и т. п. Кроме того, предусмотрен фармацевтический состав, содержащий конъюгаты и фармацевтически приемлемый носитель. Один или более конъюгатов могут присутствовать в ассоциации с одним или более нетоксичными фармацевтически приемлемыми носителями, и/или разбавителями, и/или вспомогательными средствами, и

при необходимости другими активными ингредиентами.

[00693] Стерильные препараты для инъекционного введения могут также представлять собой стерильный раствор или суспензию для инъекционного введения в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, например, в виде раствора в 1,3-бутандиоле. Приемлемые носители и растворители, которые могут использоваться, включают воду, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, в качестве растворителя или среды для суспендирования обычно используются стерильные нелетучие масла. С данной целью может использоваться мягкое нелетучее масло, включающее синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, жирные кислоты, такие как олеиновая кислота, находят применение в получении средств для инъекционного введения.

[00694] Конъюгаты и композиции, описанные в данном документе, могут вводиться в подходящей форме, предпочтительно парентеральным путем, более предпочтительно внутривенным путем. Конъюгаты или композиции для парентерального введения могут представлять собой водные или неводные стерильные растворы, суспензии или эмульсии. Пропиленгликоль, растительные масла и органические сложные эфиры для инъекционного введения, такие как этилолеат, могут использоваться в качестве растворителя или носителя. Композиции могут также содержать вспомогательные средства, эмульгаторы или диспергирующие средства.

[00695] Уровни дозирования порядка от приблизительно 0,001 мг до приблизительно 140 мг/кг веса тела в день являются применимыми для лечения вышеуказанных состояний (от приблизительно 0,05 мг до приблизительно 7 г субъекта в день). В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет от приблизительно 0,001 мг/кг до приблизительно 100 мг/кг веса тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 15 мг/кг веса тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 15 мг/кг веса тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг веса тела 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 веса тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления вводимая доза составляет от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 15 мг/кг веса тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления вводимая доза составляет от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг веса тела субъекта. Количество конъюгата, которое может быть объединено с материалами носителя для получения единичной дозированной лекарственной формы, варьирует в зависимости от хозяина, подлежащего лечению, и определенного режима введения. Дозированные лекарственные формы могут, как правило, содержать от приблизительно 0,001 мг до приблизительно 100 мг; от приблизительно 0,01 мг до приблизительно 75 мг; или от приблизительно 0,01 мг до

приблизительно 50 мг; или от приблизительно 0,01 мг до приблизительно 25 мг конъюгата.

[00696] Уровни дозирования для внутривенного введения могут содержать диапазоны, описанные в предыдущих абзацах, или от приблизительно 0,01 мг до приблизительно 200 мг конъюгата на кг веса тела животного. В одном аспекте композиция может включать от приблизительно 1 мг до приблизительно 100 мг конъюгата на кг веса тела животного. В некоторых аспектах вводимое количество соединения находится в диапазоне от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг веса тела.

[00697] В некоторых вариантах осуществления конъюгаты могут вводиться следующим образом. Конъюгаты могут вводиться ежедневно в течение приблизительно 5 дней либо в виде *i.v.* болюсной инфузии в течение приблизительно 5 дней, либо в виде непрерывной инфузии в течение приблизительно 5 дней.

[00698] В качестве альтернативы конъюгаты могут вводиться один раз в неделю в течение шести недель или больше. В качестве другой альтернативы конъюгаты могут вводиться один раз каждые две или три недели. Болюсные дозы вводят в количестве, составляющем от приблизительно 50 мл до приблизительно 400 мл нормального солевого раствора, к которому может быть добавлено от приблизительно 5 мл до приблизительно 10 мл человеческого сывороточного альбумина. Дозы в виде непрерывных инфузий вводят в количестве, составляющем от приблизительно 250 мл до приблизительно 500 мл нормального солевого раствора, к которому может быть добавлено от приблизительно 25 мл до приблизительно 50 мл человеческого сывороточного альбумина в расчете на 24-часовой период времени.

[00699] В некоторых вариантах осуществления в период от приблизительно одной до приблизительно четырех недель после лечения пациент может получить второй курс лечения. Конкретные клинические протоколы, относящиеся к способу введения, вспомогательным средствам, разбавителям, дозам и времени, могут быть определены специалистом в данной области, как того требует клиническая ситуация.

[00700] В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество может быть обеспечено согласно другой стандартной схеме, *т. е.* ежедневно, еженедельно, ежемесячно или ежегодно или согласно нестандартной схеме с варьирующими днями, неделями, месяцами введения и т. д. В качестве альтернативы вводимое терапевтически эффективное количество можно варьировать. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество для первой дозы выше, чем терапевтически эффективное количество для одной или более последующих доз. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество для первой дозы ниже, чем терапевтически эффективное количество для одной или более последующих доз. Эквивалентные дозы могут вводиться в течение варьирующих промежутков времени, включающих без ограничения приблизительно каждые 2 часа, приблизительно каждые 6 часов, приблизительно каждые 8 часов, приблизительно каждые

12 часов, приблизительно каждые 24 часа, приблизительно каждые 36 часов, приблизительно каждые 48 часов, приблизительно каждые 72 часа, приблизительно каждую неделю, приблизительно каждые две недели, приблизительно каждые три недели, приблизительно каждый месяц и приблизительно каждые два месяца. Число и частота введения доз, соответствующие завершению курса терапии, определяют в соответствии с рекомендациями соответствующих регуляторных органов и мнением практикующего врача. Терапевтически эффективные количества, описанные в данном документе, относятся к общим количествам, введенным в течение указанного периода времени; т. е. если вводят более чем один из различных конъюгатов, описанных в данном документе, - терапевтически эффективные количества соответствуют общему введенному количеству. Следует понимать, что конкретный уровень дозы для определенного субъекта зависит от разнообразных факторов, включая активность конкретного конъюгата, возраст, вес тела, общее состояние здоровья, пол, рацион питания, время введения, путь введения и скорость выведения, комбинацию с другими активными средствами и тяжесть конкретного заболевания, подвергаемого терапии.

[00701] В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество конъюгата, раскрытого в данном документе, как правило, относится к количеству, необходимому для достижения терапевтической цели. Как отмечено выше, она может представлять собой взаимодействие связывания между антителом и его целевым антигеном, который в определенных случаях препятствует функционированию мишени. Кроме того, подлежащее введению количество будет зависеть от аффинности связывания антитела по отношению к его специфичному антигену, и будет также зависеть от скорости, при которой введенное антитело расходуется из свободного объема другого субъекта, которому его вводят. Общие диапазоны для терапевтически эффективного введения доз конъюгатов, раскрытых в данном документе, могут составлять, в качестве неограничивающего примера, от приблизительно 0,1 мг/кг веса тела до приблизительно 50 мг/кг веса тела, от приблизительно 0,1 мг/кг веса тела до приблизительно 100 мг/кг веса тела или от приблизительно 0,1 мг/кг веса тела до приблизительно 150 мг/кг веса тела. Общая частота введения доз может находиться в диапазоне, например, от двух раз в день до одного раза в месяц (например, один раз в день, один раз в неделю; один раз в две недели; один раз в 3 недели или один раз в месяц). В некоторых вариантах осуществления конъюгаты, раскрытые в данном документе, можно вводить (например, в виде однократной дозы один раз в неделю, каждые 2 недели, каждые 3 недели или каждый месяц) в дозе, составляющей от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг (например, 0,2 мг/кг, 0,5 мг/кг, 0,67 мг/кг, 1 мг/кг, 2 мг/кг, 3 мг/кг, 4 мг/кг, 5 мг/кг, 6 мг/кг, 7 мг/кг, 8 мг/кг, 9 мг/кг, 10 мг/кг, 11 мг/кг, 12 мг/кг, 13 мг/кг, 14 мг/кг, 15 мг/кг, 16 мг/кг, 17 мг/кг, 18 мг/кг, 19 мг/кг или 20 мг/кг). В некоторых вариантах осуществления конъюгаты, раскрытые в данном документе, можно вводить (например, в виде однократной дозы один раз в неделю, каждые 2 недели, каждые 3 недели или каждый месяц) в дозе, составляющей от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг

(например, 0,2 мг/кг, 0,5 мг/кг, 0,67 мг/кг, 1 мг/кг, 2 мг/кг, 3 мг/кг, 4 мг/кг, 5 мг/кг, 6 мг/кг, 7 мг/кг, 8 мг/кг, 9 мг/кг, 10 мг/кг, 11 мг/кг, 12 мг/кг, 13 мг/кг, 14 мг/кг, 15 мг/кг, 16 мг/кг, 17 мг/кг, 18 мг/кг, 19 мг/кг, 19 мг/кг или 20 мг/кг), для лечения рака.

[00702] Для введения животным, отличным от человека, конъюгаты можно также добавлять в корм или питьевую воду для животных. Может быть удобным составлять корм или питьевую воду для животных таким образом, чтобы животное принимало терапевтически подходящее количество конъюгатов вместе с его рационом. Также может быть удобно представлять конъюгаты в виде готовой смеси для добавления в корм или питьевую воду.

[00703] Конъюгаты также можно вводить субъекту в комбинации с другими терапевтическими соединениями для повышения совокупного терапевтического эффекта. Применение нескольких соединений для лечения состояния согласно показаниям может повышать количество благоприятных эффектов и одновременно снижать количество присутствующих побочных эффектов. В некоторых вариантах осуществления конъюгаты применяют в комбинации с химиотерапевтическими средствами, такими как химиотерапевтические средства, раскрытые в патенте США № 7303749. В других вариантах осуществления химиотерапевтические средства включают без ограничения летрозол, оксалиплатин, доцетаксел, 5-FU, лапатиниб, капецитабин, лейковорин, эрлотиниб, пертузумаб, бевацизумаб и гемцитабин. Настоящее изобретение также предусматривает фармацевтические наборы, содержащие один или более контейнеров, наполненных одним или более конъюгатами и/или композициями по настоящему изобретению, включая одно или более химиотерапевтических средств. Такие наборы могут также включать, например, другие соединения и/или композиции, устройство(-а) для введения соединений и/или композиций, и письменные инструкции в форме, предписанной государственным органом, контролирующим производство, применение или продажу фармацевтических или биологических продуктов. Композиции, описанные в данном документе, могут быть упакованы в виде однократной дозы, или для непрерывного введения, или периодического введения с перерывами. Упаковка или набор для непрерывного введения могут содержать конъюгаты в каждой единице дозирования (например, в растворе или другой форме, описанной выше или используемой для доставки лекарственного средства) и необязательно инструкции по введению доз ежедневно, еженедельно или ежемесячно в течение предварительно определенного промежутка времени или согласно предписаниям. Если требуется варьирование концентрации композиции, компонентов композиции или соответствующих соотношений конъюгатов или средств в составе композиции с течением времени, то упаковка или набор могут содержать последовательность единиц дозирования, которая обеспечивает требуемую вариабельность.

[00704] Количество упаковок или наборов известны из уровня техники для фасовки фармацевтических средств для периодического перорального применения. В некоторых вариантах осуществления упаковка содержит обозначения для каждого периода. В

некоторых вариантах осуществления упаковка представляет собой блистерную упаковку с этикеткой, упаковку в виде диспенсера с делениями или бутылку. Сами упаковочные материалы из набора могут быть предназначены для осуществления введения, такие как шприц, пипетка, капельный дозатор для глаз или другое подобное устройство, с помощью которого состав может быть нанесен на пораженную область тела, инъецирован субъекту или даже добавлен и смешан с другими компонентами набора.

Способы применения

Способы лечения

[00705] В некоторых вариантах осуществления конъюгат белок-лекарственное средство по настоящему изобретению применяют в способах лечения животных. В некоторых вариантах осуществления конъюгат белок-лекарственное средство по настоящему изобретению применяют в способах лечения млекопитающих. В некоторых вариантах осуществления конъюгат белок-лекарственное средство по настоящему изобретению применяют в способах лечения людей (например, мужчин, женщин, младенцев, детей или взрослых). В некоторых вариантах осуществления конъюгаты по настоящему изобретению могут применяться в способе лечения животных, который включает введение животному биоразлагаемого биологически совместимого конъюгата по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления конъюгаты по настоящему изобретению могут вводиться в форме растворимых линейных полимеров, сополимеров, конъюгатов, коллоидов, частиц, гелей, твердых веществ, волокон, пленок и т. д. Биоразлагаемые биологически совместимые конъюгаты, раскрытые в данном документе, могут применяться в качестве носителей лекарственного средства и компонентов носителя лекарственного средства, в составе систем регулируемого высвобождения лекарственного средства, препаратов для малоинвазивных хирургических операций и т. д. Фармацевтические составы могут быть инъецируемыми, имплантируемыми и т. д.

[00706] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ лечения заболевания или нарушения у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту эффективного количества по меньшей мере одного конъюгата по настоящему изобретению; где указанный конъюгат высвобождает одно или более терапевтических средств при биоразложении.

[00707] В некоторых вариантах осуществления конкретные типы рака, которые можно подвергать лечению с применением конъюгатов, включают без ограничения: (1) солидные опухоли, включая без ограничения фибросаркому, миксосаркому, липосаркому, хондросаркому, остеогенную саркому, хордому, ангиосаркому, эндотелиосаркому, лимфангиосаркому, лимфангиоэндотелиосаркому, синовиому, мезотелиому, саркому Юинга, лейомиосаркому, рабдомиосаркому, рак толстой кишки, колоректальный рак, рак почки, рак поджелудочной железы, рак кости, рак молочной железы, рак яичника, рак предстательной железы, рак пищевода, рак желудка, рак полости рта, рак желчного пузыря, рак полости носа, рак горла, плоскоклеточную карциному, базальноклеточную

карциному, аденокарциному, карциному потовой железы, карциному сальной железы, папиллярную карциному, папиллярные аденокарциномы, папиллярный рак щитовидной железы, рак эндометрия, папиллярный почечно-клеточный рак, холангиокарциному и рак слюнной железы, цистаденокарциному, медуллярную карциному, бронхогенную карциному, почечно-клеточную карциному, гепатому, карциному желчевыводящих протоков, хориокарциному, семиному, эмбриональную карциному, опухоль Вильмса, рак шейки матки, рак матки, рак яичка, мелкоклеточную карциному легкого, немелкоклеточную карциному легкого, карциному мочевого пузыря, рак легкого, эпителиальную карциному, глиому, глиобластому, многоформную астроцитому, медуллобластому, краниофарингиому, эпендимому, пинеалому, гемангиобластому, невриному слухового нерва, олигодендроглиому, менингиому, рак кожи, меланому, нейробластому и ретинобластому; (2) формы рака кроветворной системы, включая без ограничения острый лимфобластный лейкоз «ALL», острый лимфобластный В-клеточный лейкоз, острый лимфобластный Т-клеточный лейкоз, острый миелобластный лейкоз «AML», острый промиелоцитарный лейкоз "APL", острый монобластный лейкоз, острый эритролейкемический лейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, острый миеломоноцитарный лейкоз, острый нелимфоцитарный лейкоз, острый недифференцированный лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз «CML», хронический лимфоцитарный лейкоз «CLL», волосатоклеточный лейкоз, множественную миелому, острый и хронический лейкоз, например, лимфобластный миелогенный и лимфоцитарный миелоцитарный лейкоз; а также (3) лимфомы, такие как болезнь Ходжкина, неходжкинская лимфома, множественная миелома, макроглобулинемия Вальденстрема, болезнь тяжелых цепей и истинная полицитемия.

[00708] В некоторых вариантах осуществления конъюгаты могут вводиться *in vitro*, *in vivo* и/или *ex vivo* для лечения пациентов и/или модулирования роста выбранных популяций клеток у пациентов с раком анального канала, астроцитомой, лейкозом, лимфомой, раком головы и шеи, раком печени, раком яичка, раком шейки матки, саркомой, гемангиомой, раком пищевода, раком глаза, раком гортани, раком ротоглотки, мезотелиомой, раком кожи, миеломой, раком полости рта, раком прямой кишки, раком горла, раком мочевого пузыря, раком молочной железы, раком матки, раком яичника, раком предстательной железы, раком легкого, раком толстой кишки, раком поджелудочной железы, раком почки или раком желудка.

[00709] В некоторых вариантах осуществления формы рака выбраны из группы, состоящей из рака груди, рака желудка, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), рака предстательной железы и рака яичника.

[00710] В некоторых вариантах осуществления формы рака выбраны из группы, состоящей из рака яичника, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), папиллярного рака щитовидной железы, рака эндометрия, папиллярного светлоклеточного рака почки, холангиокарциномы, рака молочной железы, рака почки, рака шейки матки и рака слюнной железы.

[00711] В некоторых вариантах осуществления конъюгаты могут вводиться *in vitro*, *in vivo* и/или *ex vivo* для лечения, предупреждения, снижения риска развития и/или замедления развития определенных патологических состояний или нарушений, например, рака. В некоторых вариантах осуществления конъюгаты по настоящему изобретению применимы в лечении, предупреждении, замедлении прогрессирования или облегчении каким-либо образом симптома рака, выбранного из группы, состоящей из рака анального канала, астроцитомы, лейкоза, лимфомы, рака головы и шеи, рака печени, рака яичка, рака шейки матки, саркомы, гемангиомы, рака пищевода, рака глаза, рака гортани, рака ротоглотки, мезотелиомы, рака кожи, миеломы, рака ротовой полости, рака прямой кишки, рака горла, рака мочевого пузыря, рака молочной железы, рака матки, рака яичника, рака предстательной железы, рака легкого, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), рака толстой кишки, рака поджелудочной железы, рака почки, рака желудка, папиллярного рака щитовидной железы, рака эндометрия, папиллярного почечно-клеточного рака, холангиокарциномы и рака протока слюнной железы.

[00712] В некоторых вариантах осуществления конъюгаты могут вводиться *in vitro*, *in vivo* и/или *ex vivo* для лечения аутоиммунных заболеваний, таких как системная красная волчанка, ревматоидный артрит, псориаз и рассеянный склероз; видов отторжения трансплантата, таких как отторжение трансплантата почки, отторжение трансплантата печени, отторжение трансплантата легкого, отторжение трансплантата сердца и отторжение трансплантата костного мозга; реакции «трансплантат против хозяина»; вирусных инфекций, таких как ЦМВ-инфекция, ВИЧ-инфекция и СПИД; и паразитарных инфекций, таких как лямблиоз, амебиаз, шистосомоз и т. п.

[00713] В некоторых вариантах осуществления конъюгаты также могут применяться для изготовления лекарственного препарата, применимого для лечения или снижения степени тяжести нарушений, например, характеризующихся аномальным ростом клеток (например, рака).

[00714] В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство доставляется местно к конкретной целевой клетке, ткани или органу.

[00715] В некоторых вариантах осуществления при практическом осуществлении способа по настоящему изобретению конъюгат дополнительно содержит или ассоциирован с диагностической меткой. В некоторых вариантах осуществления диагностическая метка выбрана из группы, состоящей из радиофармацевтических или радиоактивных изотопов для гамма-сцинтиграфии и позитронно-эмиссионной томографии (PET), контрастного средства для магнитно-резонансной томографии (MRI), контрастного средства для компьютерной томографии, контрастного средства для рентгеновского способа визуализации, средства для ультразвуковых диагностических способов, средства для нейтронной активации, фрагментов, которые могут отражать, рассеивать или воздействовать на рентгеновское излучение, видов ультразвука, радиоволн, и микроволнового излучения, и флуорофоров. В некоторых вариантах осуществления конъюгат подвергают дополнительному мониторингу *in vivo*.

[00716] Примеры диагностических меток включают без ограничения диагностические радиофармацевтические или радиоактивные изотопы для гамма-сцинтиграфии и позитронно-эмиссионной томографии (ПЕТ), контрастное средство для магнитно-резонансной томографии (МРТ) (например, парамагнитные атомы и суперпарамагнитные нанокристаллы), контрастное средство для компьютерной томографии, контрастное средство рентгеновского способа визуализации, средство для ультразвукового диагностического способа, средство для нейтронной активации и фрагмент, который может отражать, рассеивать или воздействовать на виды рентгеновского излучения, ультразвуки, радиоволны и виды микроволнового излучения, флуорофоры для различных оптических процедур и т. д. Диагностические радиофармацевтические средства включают γ -активные радионуклиды, *например*, индий-111, технеций-99m и йод-131 и т. д. Контрастные средства для МРТ (магнитно-резонансной томографии) включают магнитные соединения, *например*, парамагнитные ионы, железо, марганец, гадолиний, лантаноиды, органические парамагнитные фрагменты и суперпарамагнитные, ферромагнитные и антиферромагнитные соединения, *например*, коллоиды оксида железа, коллоиды феррита и т. д. Контрастные средства для компьютерной томографии и других способов визуализации на основе рентгеновского излучения включают соединения, поглощающие виды рентгеновского излучения, *например*, йод, барий и т. д. Контрастные средства для способов на основе ультразвука включают соединения, которые могут поглощать, отражать и рассеивать ультразвуковые волны, *например*, эмульсии, кристаллы, пузырьки газа и т. д. Еще другие примеры включают вещества, применимые для нейтронной активации, такие как бор и гадолиний. Кроме того, могут использоваться метки, которые могут отражать, преломлять, рассеивать или другим образом воздействовать на виды рентгеновского излучения, ультразвук, радиоволны, виды микроволнового излучения и другие виды излучения, используемые в диагностических процедурах. Флуоресцентные метки могут использоваться для фотовизуализации. В некоторых вариантах осуществления модификатор содержит парамагнитный ион или группу.

[00717] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ лечения заболевания или нарушения у субъекта, включающий получение водного состава на основе по меньшей мере одного конъюгата по настоящему изобретению и парентеральное инъектирование указанного состава субъекту.

[00718] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ лечения заболевания или нарушения у субъекта, включающий получение имплантата, содержащего по меньшей мере один конъюгат по настоящему изобретению, и имплантацию указанного имплантата субъекту. В определенных иллюстративных вариантах осуществления имплантат представляет собой биоразлагаемую гелевую матрицу.

[00719] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ лечения животного, нуждающегося в этом, включающий

введение конъюгата в соответствии со способами, описанными выше.

[00720] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ индуцирования иммунного ответа у животного, включающий введение конъюгата согласно способам, описанным выше.

[00721] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ диагностики заболевания у животного, включающий стадии введения конъюгата согласно способам, описанным выше, где указанный конъюгат содержит выявляемую молекулу; и выявления выявляемой молекулы.

[00722] В некоторых вариантах осуществления стадию выявления выявляемой молекулы осуществляют неинвазивным способом. В некоторых вариантах осуществления стадию выявления выявляемой молекулы осуществляют с использованием подходящего оборудования для визуализации.

[00723] В некоторых вариантах осуществления способ лечения животного включает введение животному биоразлагаемого биологически совместимого конъюгата по настоящему изобретению в виде повязки для послеоперационной раны, откуда была удалена опухоль или новообразование. Повязка на основе биоразлагаемого биологически совместимого конъюгата замещает область опухоли во время восстановления, и разлагается, и распадается по мере заживления раны.

[00724] В некоторых вариантах осуществления конъюгат ассоциирован с диагностической меткой для осуществления отслеживания *in vivo*.

[00725] Конъюгаты, описанные выше, могут использоваться для терапевтической, профилактической и аналитической (диагностической) обработки животных. Как правило, конъюгаты предназначены для парентерального введения, но в некоторых случаях могут вводиться посредством других путей.

[00726] В некоторых вариантах осуществления растворимые или коллоидные конъюгаты вводят внутривенно. В некоторых вариантах осуществления растворимые или коллоидные конъюгаты вводят посредством локальной (*например*, подкожной, внутримышечной) инъекции. В некоторых вариантах осуществления твердые конъюгаты (*например*, частицы, имплантаты, системы доставки лекарственного средства) вводят посредством имплантации или инъекции.

[00727] В некоторых вариантах осуществления конъюгаты, содержащие выявляемую метку, вводят для исследования паттернов и динамики распределения метки в организме животного.

[00728] В некоторых вариантах осуществления любой из одного или более конъюгатов, раскрытых в данном документе, могут использоваться в практическом осуществлении любого из способов, описанных в данном документе.

[00729] Фармацевтические композиции на основе конъюгатов, описанных в данном документе, могут быть включены в контейнер, упаковку или диспенсер вместе с инструкциями по введению.

[00730] В некоторых вариантах осуществления композиции также могут содержать более чем одно активное соединение, необходимое для лечения конкретного симптома, предпочтительно активные соединения с комплементарными активностями, которые не оказывают неблагоприятного воздействия друг на друга. В качестве альтернативы или дополнительно композиция может содержать средство, которое усиливает ее функцию, такое как, например, цитотоксическое средство, цитокин, химиотерапевтическое средство или средство, подавляющее рост опухоли. Такие молекулы предпочтительно присутствуют в комбинации в количествах, являющихся эффективными в отношении предполагаемой цели.

[00731] В некоторых вариантах осуществления активные соединения (например, конъюгаты или лекарственные средства по настоящему изобретению) вводят в составе комбинированной терапии, *т. е.* совместно с другими средствами, *например*, терапевтическими средствами, которые применимы для лечения патологических состояний или нарушений, таких как различные формы рака, аутоиммунные нарушения и воспалительные заболевания. Термин «в комбинации» в данном контексте означает, что средства вводят по сути в одно время, либо одновременно, либо последовательно. При последовательном введении в начале введения второго соединения первое из двух соединений предпочтительно является все еще выявляемым в эффективных концентрациях в месте лечения.

[00732] В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия может включать один или более конъюгатов, раскрытых в данном документе, составленных вместе и/или вводимых вместе с одним или более дополнительными антителами, которые могут быть такими же, как и антитело, используемое для образования конъюгата, или другими антителами.

[00733] В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия может включать одно или более терапевтических средств и/или вспомогательных средств. В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой низкомолекулярный ингибитор, другое терапевтическое средство на основе антитела, полипептид или терапевтическое средство на основе пептида, терапевтическое средство на основе нуклеиновой кислоты и/или другое биологическое средство.

[00734] В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой цитотоксическое средство, химиотерапевтическое средство, средство, подавляющее рост опухоли, ингибитор ангиогенеза, ингибитор PARP (поли(ADP)-рибозополимеразы), алкилирующее средство, антиметаболит, средство, активное в отношении микротрубочек, ингибитор топоизомеразы, цитотоксический антибиотик, любое другое средство, повреждающее нуклеиновую кислоту, или ингибитор иммунной контрольной точки. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство, применяемое в лечении рака, включает без ограничения соединения платины (например, цисплатин или карбоплатин); таксан (например, паклитаксел или доцетаксел);

ингибитор топоизомеразы (например, иринотекан или топотекан); антрациклин (например, доксорубин (ADRIAMYCIN®) или липосомальный доксорубин (DOXIL®)); антиметаболит (например, гемцитабин, пеметрексед); циклофосфамид; винорелбин (NAVELBINE®); гексаметилмеламин; ифосфамид; этопозид; ингибитор ангиогенеза (например, бевацизумаб (Avastin®)), талидомид, TNP-470, тромбоцитарный фактор 4, интерферон или эндостатин); ингибитор PARP (например, олапариб (Lynparza™)); ингибитор иммунной контрольной точки, такой как, например, моноклональное антитело, которое нацеливается либо на PD-1, или PD-L ((пембролизумаб (Keytruda®), атезолизумаб (MPDL3280A), или ниволумаб (Opdivo®)), либо на CTLA-4 (ипилимумаб (Yervoy®), ингибитор киназы (например, сорафениб или эрлотиниб), ингибитор протеасомы (например, бортезомиб или карфилзомиб), иммуномодулирующее средство (например, леналидомид или IL-2), радиоактивное средство, ингибитор ALK (например кризотиниб (Xalkori), церитиниб (Zykadia), алектиниб (Alecensa), далантерцепт (ACE-041), бригаиниб (AP26113), энтректиниб (NMS-E628), PF-06463922 TSR-011, CEP-37440 и X-396), и/или их биологический аналог, и/или их комбинации. Другие подходящие средства включают средство, считающееся стандартом лечения специалистами в данной области, и/или химиотерапевтическое средство, хорошо известное специалистам в данной области.

[00735] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело против CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой моноклональное антитело против CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой человеческое или гуманизованное антитело против CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления антитело к CTLA-4 блокирует связывание CTLA-4 с CD80 (B7-1) и/или CD86 (B7-2), экспрессируемыми на антигенпредставляющих клетках. Иллюстративные антитела против CTLA-4 включают без ограничения антитело к CTLA-4 ипилимумаб от Bristol Meyers Squibb (также известное как Yervoy®, MDX-010, BMS-734016 и MDX-101); клон антитела к CTLA-4 9H10 от Millipore; тремелимумаб от Pfizer (CP-675,206, тицилимумаб) и клон антитела к CTLA-4 BNI3 от Abcam.

[00736] В некоторых вариантах осуществления антитело к CTLA-4 представляет собой антитело к CTLA-4, раскрытое в любой из нижеследующих патентных публикаций (включенных в данный документ посредством ссылки): WO 2001014424; WO 2004035607; US2005/0201994; EP 1212422 B1; WO2003086459; WO2012120125; WO2000037504; WO2009100140; WO200609649; WO2005092380; WO2007123737; WO2006029219; WO20100979597; WO200612168; и WO1997020574. Дополнительные антитела к CTLA-4 описаны в патентах США №№ 5811097, 5855887, 6051227 и 6984720; в публикациях согласно РСТ №№ WO 01/14424 и WO 00/37504; и в публикациях заявок на патенты США №№ 2002/0039581 и 2002/086014; и/или в патентах США №№ 5977318, 6682736, 7109003

и 7132281, включенных в данный документ посредством ссылки). В некоторых вариантах осуществления антитело к CTLA-4 представляет собой, например, таковые, раскрытые в: WO 98/42752; патентах США №№ 6682736 и 6207156; Hurwitz et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95(17): 10067-10071 (1998); Camacho et al, J. Clin. Oncol., 22(145): Abstract No. 2505 (2004) (антитело CP-675206); Mokyr et al, Cancer Res., 58:5301-5304 (1998) (включенных в данный документ посредством ссылки).

[00737] В некоторых вариантах осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой лиганд CTLA-4, раскрытый в WO 1996040915.

[00738] В некоторых вариантах осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой ингибитор CTLA-4 в виде нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления молекулы для RNAi, связывающие CTLA-4, могут приобретать форму молекул, описанных Mello и Fire в публикациях согласно РСТ №№ WO 1999/032619 и WO 2001/029058; публикациях заявок на патенты США №№ 2003/0051263, 2003/0055020, 2003/0056235, 2004/265839, 2005/0100913, 2006/0024798, 2008/0050342, 2008/0081373, 2008/0248576 и 2008/055443; и/или патентах США №№ 6506559, 7282564, 7538095 и 7560438 (включенных в данный документ посредством ссылки). В некоторых случаях молекулы для RNAi, связывающие CTLA-4, могут приобретать форму двухцепочечных молекул для RNAi, описанных Tuschl в европейском патенте № EP 1309726 (включенном в данный документ посредством ссылки). В некоторых случаях молекулы для RNAi, связывающие CTLA-4, могут приобретать форму двухцепочечных молекул для RNAi, описанных Tuschl в патентах США №№ 7056704 и 7078196 (включенных в данный документ посредством ссылки). В некоторых вариантах осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой аптамер, описанный в публикации согласно РСТ № WO 2004081021.

[00739] Более того, молекулы для RNAi, связывающие CTLA-4, по настоящему изобретению могут приобретать форму молекул РНК, описанных Crooke в патентах США №№ 5898031, 6107094, 7432249 и 7432250, а также заявке на европейский патент № EP 0928290 (включенных в данный документ посредством ссылки).

[00740] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор PD-L1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело против PD-L1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой моноклональное антитело против PD-L1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой человеческое или гуманизированное антитело против PD-L1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки снижает экспрессию или активность одного или более белков иммунной контрольной точки, таких как PD-L1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки уменьшает взаимодействие между PD-1 и PD-L1. Иллюстративные ингибиторы иммунной контрольной точки включают антитела (например, антитело к PD-L1), молекулы для RNAi (например, RNAi, связывающие PD-L1), антисмысловые молекулы (например, антисмысловую РНК,

связывающую PD-L1), доминантно-негативные белки (например, доминантно-негативный белок PD-L1) и низкомолекулярные ингибиторы. Антитела включают моноклональные антитела, гуманизированные антитела, деиммунизированные антитела и слитые белки на основе Ig. Иллюстративное антитело к PD-L1 включает клон EH12. Иллюстративные антитела к PD-L1 включают: MPDL3280A от Genentech (RG7446); клон антитела к PD-L1 10F.9G2 мыши (кат. № BE0101) от BioXcell; моноклональное антитело к PD-L1 MDX-1105 (BMS-936559) и BMS-935559 от Bristol-Meyer's Squibb; MSB0010718C; клон антитела к PD-L1 29E.2A3 мыши; и MEDI4736 от AstraZeneca. В некоторых вариантах осуществления антитело к PD-L1 представляет собой антитело к PD-L1, раскрытое в любой из нижеследующих патентных публикаций (включенных в данный документ посредством ссылки): WO 2013079174; CN101104640; WO2010036959; WO2013056716; WO2007005874; WO2010089411; WO2010077634; WO2004004771; WO2006133396; WO201309906; US 20140294898; WO2013181634 или WO2012145493.

[00741] В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-L1 представляет собой ингибитор PD-L1 в виде нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-L1 раскрыт в одной из нижеследующих патентных публикаций (включенных в данный документ посредством ссылки) WO 2011127180 или WO 2011000841. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-L1 представляет собой рапамицин.

[00742] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор PD-L2. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело против PD-L2. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой моноклональное антитело против PD-L2. В других или дополнительных вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой человеческое или гуманизированное антитело против PD-L2. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки снижает экспрессию или активность одного или более белков иммунной контрольной точки, таких как PD-L2. В других вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки уменьшает взаимодействие между PD-1 и PD-L2. Иллюстративные ингибиторы иммунной контрольной точки включают антитела (например, антитело к PD-L2), молекулы для RNAi (например, RNAi, связывающие PD-L2), антисмысловые молекулы (например, антисмысловую РНК, связывающую PD-L2), доминантно-негативные белки (например, доминантно-негативный белок PD-L2) и низкомолекулярные ингибиторы. Антитела включают моноклональные антитела, гуманизированные антитела, деиммунизированные антитела и слитые белки на основе Ig.

[00743] В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-L2 представляет собой AMP-224 от GlaxoSmithKline (Amplimmune). В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-L2 представляет собой rHIgM12B7.

[00744] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной

точки представляет собой ингибитор PD-L1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело против PD-1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой моноклональное антитело против PD-1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой человеческое или гуманизованное антитело против PD-1. В некоторых вариантах осуществления ингибиторы биологической активности PD-1 (или его лигандов), раскрытые в патентах США №№ 7029674; 6808710; или заявках на патент США №№: 20050250106 и 20050159351, могут использоваться в комбинациях, представленных в данном документе. Иллюстративные антитела к PD-1 включают: клон антитела к PD-1 J43 мыши (кат. № BE0033-2) от BioXcell; клон антитела к PD-1 RMP1-14 мыши (кат. № BE0146) от BioXcell; клон антитела к PD-1 EH12 мыши; антитело к PD-1 МК-3475 мыши от Merck (Keytruda®, пембролизумаб, ламбролизумаб, h409A1 1) и антитело к PD-1 от AnaptysBio, известное как ANB011; антитело MDX-1 106 (ONO-4538); моноклональное антитело IgG4 человека ниволумаб от Bristol-Myers Squibb (Opdivo®, BMS-936558, MDX1106); AMP-514 и AMP-224 от AstraZeneca и пидилизумаб (CT-011 или hBAT-1) от CureTech Ltd.

[00745] Дополнительные иллюстративные антитела к PD-1 описаны Goldberg et al, Blood 1 10(1): 186-192 (2007), Thompson et al, Clin. Cancer Res. 13(6): 1757-1761 (2007) и Korman et al, международная заявка № PCT/JP2006/309606 (публикация № WO 2006/121168 A1), каждая из которых явным образом включена в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления антитело к PD-1 представляет собой антитело к PD-1, раскрытое в любой из нижеследующих патентных публикаций (включенных в данный документ посредством ссылки): W0014557; WO2011110604; WO2008156712; US2012023752; WO2011110621; WO2004072286; WO2004056875; WO20100036959; WO2010029434; WO201213548; WO2002078731; WO2012145493; WO2010089411; WO2001014557; WO2013022091; WO2013019906; WO2003011911; US20140294898 и WO2010001617.

[00746] В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1 представляет собой белок, связывающий PD-1, раскрытый в WO 200914335 (включенной в данный документ посредством ссылки).

[00747] В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1 представляет собой пептидомиметик ингибитора PD-1, раскрытый в WO 2013132317 (включенной в данный документ посредством ссылки).

[00748] В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1 представляет собой mAb к PD-1 мыши: клон J43, BioXCell (West Lebanon, N.H.).

[00749] В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1 представляет собой белок PD-L1, белок PD-L2 или фрагменты, а также антитело MDX-1 106 (ONO-4538), протестированное в ходе клинических исследований для лечения определенных злокачественных опухолей (Brahmer et al., J Clin Oncol. 2010 28(19): 3167-75, Epub 2010 Jun. 1). Другие блокирующие антитела могут быть легко идентифицированы и получены

специалистом в данной области на основе известного домена взаимодействия между PD-1 и PD-L1/PD-L2, рассмотренного выше. В некоторых вариантах осуществления пептид, соответствующий области IgV PD-1 или PD-L1/PD-L2 (или части данной области) может использоваться в качестве антигена для разработки блокирующих антител с применением способов, хорошо известных из уровня техники.

[00750] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор IDO1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой малую молекулу, обладающую активностью против IDO1. Иллюстративные малые молекулы, обладающие активностью против IDO1, включают: INCB024360, NSC-721782 (также известный как 1-метил-D-триптофан) от Incyte и F001287 от Bristol Meyers Squibb.

[00751] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор LAG3 (CD223). В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело против LAG3. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой моноклональное антитело против LAG3. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой человеческое или гуманизованное антитело против LAG3. В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG3 блокирует взаимодействие LAG3 с молекулами класса II главного комплекса гистосовместимости (МНС). Иллюстративные антитела к LAG3 включают: клон антитела против Lag-3 eBioC9B7W (C9B7W) от eBioscience; антитело к Lag-3 LS-B2237 от LifeSpan Biosciences; IMP321 (ImmuFact) от Immunet; антитело к Lag-3 BMS-986016 и химерное антитело к LAG-3 A9H12. В некоторых вариантах осуществления антитело к LAG3 представляет собой антитело к LAG3, раскрытое в любой из нижеследующих патентных публикаций (включенных в данный документ посредством ссылки): WO2010019570; WO2008132601 или WO2004078928.

[00752] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело против TIM3 (также известное как HAVCR2). В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой моноклональное антитело против TIM3. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой человеческое или гуманизованное антитело против TIM3. В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM3 блокирует взаимодействие TIM3 с галектином-9 (Gal9). В некоторых вариантах осуществления антитело к TIM3 представляет собой антитело к TIM3, раскрытое в любой из нижеследующих патентных публикаций (включенных в данный документ посредством ссылки): WO2013006490; WO201155607 WO2011159877 или WO200117057. В некоторых вариантах осуществления ингибитор TIM3 представляет собой ингибитор TIM3, раскрытый в WO 2009052623.

[00753] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело против B7-H3. В некоторых вариантах осуществления

ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой MGA271.

[00754] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело против MR. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой лирилумаб (IPH2101). В некоторых вариантах осуществления антитело против MR блокирует взаимодействие KIR с HLA.

[00755] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело против CD137 (также известное как 4-1BB или TNFRSF9). В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой урелумаб (BMS-663513, Bristol-Myers Squibb), PF-05082566 (антитело 4-1BB, PF-2566, Pfizer) или XmAb-5592 (Xencor). В некоторых вариантах осуществления антитело к CD137 представляет собой антитело, раскрытое в публикации заявки на патент США № US 2005/0095244; антитело, раскрытое в выданном патенте США № 7288638 (такое как 20H4.9-IgG4 [1007 или BMS-663513] или 20H4.9-IgG1 [BMS-663031]); антитело, раскрытое в выданном патенте США № 6887673 [4E9 или BMS-554271]; антитело, раскрытое в выданном патенте США № 7214493; антитело, раскрытое в выданном патенте США № 6303121; антитело, раскрытое в выданном патенте США № 6569997; антитело, раскрытое в выданном патенте США № 6905685; антитело, раскрытое в выданном патенте США № 6355476; антитело, раскрытое в выданном патенте США № 6362325 [1D8 или BMS-469492; 3H3 или BMS-469497; или 3E1]; антитело, раскрытое в выданном патенте США № 6974863 (такое как 53A2); или антитело, раскрытое в выданном патенте США № 6210669 (такое как 1D8, 3B8 или 3E1). В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой таковой, раскрытый в WO 2014036412. В некоторых вариантах осуществления антитело против CD137 блокирует взаимодействие CD137 с CD137L.

[00756] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело против PS. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой бавитуксимаб.

[00757] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело против CD52. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой алемтузумаб.

[00758] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело против CD30. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой брентуксимаб ведотин. В некоторых вариантах осуществления антитело против CD30 блокирует взаимодействие CD30 с CD30L.

[00759] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело против CD33. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой гемтузумаб озогамидин.

[00760] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной

точки представляет собой антитело против CD20. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой ибритумомаб тиуксетан. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой офатумумаб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой тозитумомаб.

[00761] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело против CD27 (также известное как TNFRSF7). В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой CDX-1127 (Celldex Therapeutics). В некоторых вариантах осуществления антитело против CD27 блокирует взаимодействие CD27 с CD70.

[00762] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело против OX40 (также известное как TNFRSF4 или CD134). В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет IgG мыши, связывающий OX40. В некоторых вариантах осуществления антитело против OX40 блокирует взаимодействие OX40 с OX40L.

[00763] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело против рецептора фактора некроза опухоли, индуцируемого глюкокортикоидами (GITR). В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой TRX518 (GITR, Inc.). В некоторых вариантах осуществления антитело против GITR блокирует взаимодействие GITR с GITRL.

[00764] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело против индуцируемого ко-стимулятора Т-клеток (ICOS, также известного как CD278). В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой MEDI570 (MedImmune, LLC) или AMG557 (Amgen). В некоторых вариантах осуществления антитело против ICOS блокирует взаимодействие ICOS с ICOSL и/или B7-H4.

[00765] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор против BTLA (CD272), CD160, 2B4, LAIR1, TIGIT, LIGHT, DR3, CD226, CD2 или SLAM. Как описано в каком-либо другом месте данного документа, ингибитор иммунной контрольной точки может представлять собой один или более связывающих белков, антител (или их фрагментов или вариантов), которые связываются с молекулами иммунной контрольной точки, нуклеиновыми кислотами, которые снижают экспрессию молекул иммунной контрольной точки, или любыми другими молекулами, которые связываются с молекулами иммунной контрольной точки (т. е. небольшими органическими молекулами, пептидомиметиками, аптамерами и т. д.). В некоторых вариантах осуществления ингибитор BTLA (CD272) представляет собой HVEM. В некоторых случаях ингибитор CD160 представляет собой HVEM. В некоторых вариантах осуществления ингибитор 2B4 представляет собой CD48. В некоторых

вариантах осуществления ингибитор LAIR1 представляет собой коллаген. В некоторых вариантах осуществления ингибитор TIGHT представляет собой CD112, CD113 или CD155. В некоторых вариантах осуществления ингибитор CD28 представляет собой CD80 или CD86. В некоторых вариантах осуществления ингибитор LIGHT представляет собой HVEM. В некоторых вариантах осуществления ингибитор DR3 представляет собой TL1A. В некоторых вариантах осуществления ингибитор CD226 представляет собой CD155 или CD112. В некоторых вариантах осуществления ингибитор CD2 представляет собой CD48 или CD58. В некоторых вариантах осуществления SLAM является самоингибирующимся, и ингибитор SLAM представляет собой SLAM.

[00766] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки ингибирует белок контрольной точки, который включает без ограничения CTLA4 (антиген 4 цитотоксического Т-лимфоцита, также известный как CD152), PD-L1 (лиганд 1 запрограммированной гибели клетки 1, также известный как CD274), белок 2 запрограммированной гибели клетки PDL2), PD-1 (белок 1 запрограммированной гибели клетки, также известный как CD279), лиганд семейства В-7 (В7-Н1, В7-Н3, В7-Н4) BTLA (аттенюатор В- и Т-лимфоцитов, также известный как CD272), HVEM, TIM3 (мембранный белок 3 Т-лимфоцита), GAL9, LAG-3 (ген-3 активации лимфоцита; CD223), VISTA, KIR (рецептор иммуноглобулина киллера), 2B4 (также известный как CD244), CD160, CGEN-15049, CHK1 (киназу 1 контрольной точки), CHK2 (киназу 2 контрольной точки), A2aR (аденозиновый рецептор A2a), CD2, CD27, CD28, CD30, CD40, CD70, CD80, CD86, CD137, CD226, CD276, DR3, GITR, HAVCR2, HVEM, IDO1 (индоламин 2,3-диоксигеназу 1), IDO2 (индоламин-2,3-диоксигеназу 2), ICOS (индуцируемый ко-стимулятор Т-клеток), LAIR1, LIGHT (также известный как TNFSF14, член семейства TNF), MARCO (рецептор макрофага с коллагеновой структурой), OX40 (также известный как член 4 суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли TNFRSF4 и CD134) и его лиганд OX40L (CD252), SLAM, TIGHT, VTCN1 или их комбинацию.

[00767] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки взаимодействует с лигандом белка контрольной точки, который содержит CTLA-4, PDL1, PDL2, PD1, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK1, CHK2, A2aR, лиганд семейства В-7, CD2, CD27, CD28, CD30, CD40, CD70, CD80, CD86, CD137, CD226, CD276, DR3, GITR, HAVCR2, HVEM, IDO1, IDO2, ICOS (индуцируемый ко-стимулятор Т-клеток), LAIR1, LIGHT, MARCO (рецептор макрофага с коллагеновой структурой), OX-40, SLAM, TIGHT, VTCN1 или их комбинацию.

[00768] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки ингибирует белок контрольной точки, который содержит CTLA-4, PDL1, PD1 или их комбинацию.

[00769] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки ингибирует белок контрольной точки, который содержит CTLA-4 и PD1 или их комбинацию.

[00770] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной

точки содержит пембролизумаб (МК-3475), ниволумаб (BMS-936558), пидилизумаб (СТ-011), AMP-224, MDX-1 105, дурвалумаб (MEDI4736), MPDL3280A, BMS-936559, IPH2101, TSR-042, TSR-022, ипилимумаб, лирилумаб, атезолизумаб, авелумаб, тремелимумаб или их комбинацию.

[00771] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой ниволумаб (BMS-936558), ипилимумаб, пембролизумаб, атезолизумаб, тремелимумаб, дурвалумаб, авелумаб или их комбинацию.

[00772] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой пембролизумаб.

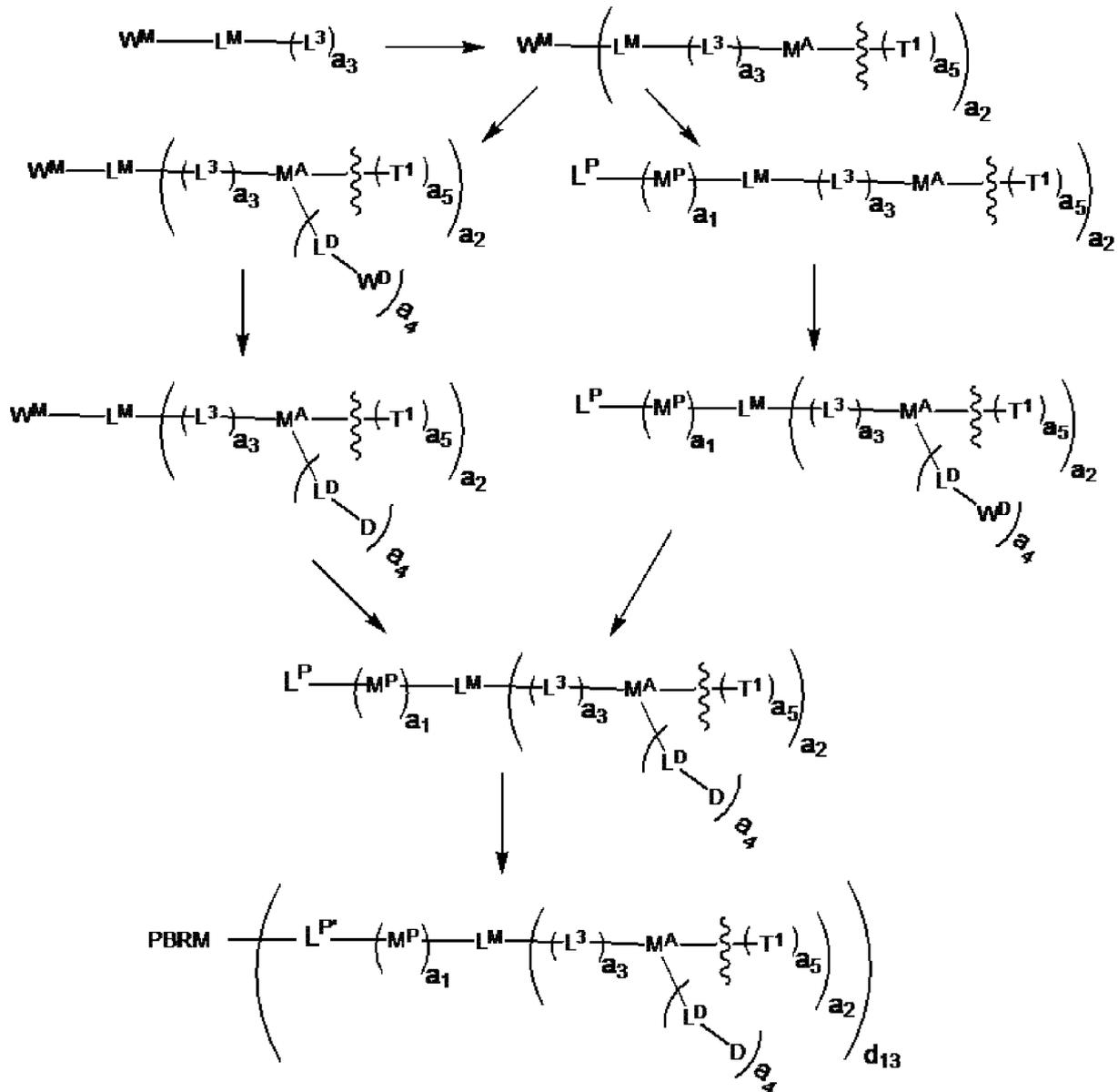
[00773] По ходу описания, если соединения, каркасы и композиции описаны как имеющие, включающие или содержащие конкретные компоненты, то предполагается, что композиции также по сути состоят или состоят из упомянутых компонентов. Подобным образом, если способы или процессы описаны как имеющие, включающие или содержащие конкретные стадии процесса, то способы также по сути состоят или состоят из упомянутых стадий процесса. Кроме того, следует понимать, что порядок стадий или порядок выполнения определенных действий не имеет значения при условии, что настоящее изобретение остается функциональным. Более того, две или более стадий или действий могут выполняться одновременно.

[00774] Все способы, описанные в данном документе, могут осуществляться в любом подходящем порядке, если в данном документе не указано иное или если это явно не противоречит контексту. Использование любого и всех примеров или вводных слов (например, «такой как»), предусмотренных в данном документе, предназначено только для лучшей иллюстрации настоящего изобретения и не должно рассматриваться как ограничение объема, охватываемого формулой изобретения, если явно не заявлено иное. Ни одно выражение в описании настоящего изобретения не должно рассматриваться как указывающее на то, что любой незаявленный элемент является более существенным по отношению к заявленному.

Способы синтеза

[00775] Любые доступные методики могут использоваться для получения конъюгатов или композиций на их основе, а также промежуточных соединений и компонентов (*например*, каркасов), применимых для их получения. В некоторых вариантах осуществления могут применяться способы частичного синтеза и полного синтеза.

[00776] Общие способы получения конъюгатов или каркасов, раскрытых в данном документе, проиллюстрированы на схемах 1 и 2 ниже, а также в находящемся на стадии рассмотрения документе US 15/819650, раскрытие которого в полном объеме включено в данный документ. Переменные (*например*, M^P , M^A , L^3 , W^D , W^M , L^D , и L^P , и т. д.) на этих схемах имеют такие же определения, как описано в данном документе, если не указано иное.



где PBRM представляет собой сконструированную с цистеином PBRM

[00777] Способы синтеза по настоящему изобретению способны выдерживать широкое разнообразие функциональных групп; следовательно, могут использоваться различные замещенные исходные материалы. Как правило, способы обеспечивают получение требуемого конечного соединения по завершению или близко к завершению всего процесса, хотя в некоторых случаях может быть желательно дополнительное превращение соединения в его фармацевтически приемлемую соль, сложный эфир или пролекарство.

[00778] Соединения лекарственных средств, используемые для получения конъюгатов по настоящему изобретению, могут быть получены различными путями с использованием коммерчески доступных исходных материалов, соединений, известных из литературы, или из легко получаемых промежуточных соединений с применением стандартных способов и процедур синтеза, либо известных специалистам в данной области, либо которые являются очевидными специалисту в данной области в свете идей,

изложенных в данном документе. Стандартные способы и процедуры синтеза для получения органических молекул, и преобразования, и манипуляции в отношении функциональных групп могут быть получены из соответствующей научной литературы или из стандартных учебников в данной области. Хотя и без ограничения одним или более источниками, классические тексты, такие как Smith, M. B., March, J., *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 5th edition, John Wiley & Sons: New York, 2001; и Greene, T.W., Wuts, P.G. M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd edition, John Wiley & Sons: Нью-Йорк, 1999, включенные в данный документ посредством ссылки, являются полезными и признанными источниками литературы в области органического синтеза, известными специалистам в данной области. Следующие описания способов синтеза разработаны для иллюстрации, но не для ограничения общих процедур получения соединений по настоящему изобретению.

[00779] Конъюгаты по настоящему изобретению и соединения лекарственных средств, включенные в данный документ, могут быть получены различными способами, известными специалистам в данной области. Конъюгаты или соединения по настоящему изобретению с каждой из формул, описанных в данном документе, могут быть получены в соответствии со следующими процедурами из коммерчески доступных исходных материалов или исходных материалов, которые могут быть получены с применением процедур, представленных в источниках литературы. Эти процедуры демонстрируют получение иллюстративных конъюгатов по настоящему изобретению.

[00780] Конъюгаты, разработанные, выбранные и/или оптимизированные с применением способов, описанных выше, после получения могут быть охарактеризованы с помощью различных анализов, известных специалистам в данной области, для определения наличия у конъюгатов биологической активности. В некоторых вариантах осуществления конъюгаты могут быть охарактеризованы с помощью традиционных анализов, включающих без ограничения те анализы, которые описаны ниже, для определения наличия прогнозируемой активности, активности связывания и/или специфичности связывания.

[00781] Кроме того, может использоваться высокопроизводительный скрининг для ускорения анализа с использованием таких аналитических методик. В результате может существовать возможность для быстрого скрининга молекул конъюгата, описанных в данном документе, в отношении наличия активности с применением методик, известных из уровня техники. Общие методики проведения высокопроизводительного скрининга описаны, например, в Devlin (1998) *High Throughput Screening*, Marcel Dekker; и патенте США № 5763263. При проведении высокопроизводительных анализов могут применяться одна или более различных аналитических методик, включающих без ограничения таковые, описанные ниже.

[00782] Все публикации и патентные документы, упоминаемые в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки таким образом, как если бы каждая такая публикация или документ были конкретно и по отдельности указаны как

включенные в данный документ посредством ссылки. Упоминание публикаций и патентных документов не предназначено для признания того, что какой-либо из них представляет актуальный уровень техники, и не устанавливает какое-либо признание в отношении их содержания или даты. Теперь, когда настоящее изобретение было описано посредством письменного описания, специалистам в данной области будет понятно, что настоящее изобретение может осуществляться на практике в виде различных вариантов осуществления, и что вышеуказанное описание и приведенные ниже примеры предназначены для иллюстрации, а не для ограничения формулы изобретения, которая представлена ниже.

ПРИМЕРЫ

[00783] Представленные ниже рабочие примеры являются иллюстративными в отношении линкеров, молекул лекарственного средства, и антител или фрагментов антител, и способов их получения. Они не предназначены для ограничения, и специалисту в данной области будет понятно, что могут использоваться другие реактивы или способы.

СОКРАЩЕНИЯ

[00784] Следующие сокращения используются в схемах реакций и примерах синтеза, представленных ниже. Не предполагается, что данный перечень является полным перечнем сокращений, используемых в заявке, так как дополнительные стандартные сокращения, которые понятны специалистам в области органического синтеза, могут использоваться в схемах синтеза и примерах.

Сокращения:

EDTA Этилендиаминтетрауксусная кислота

TEAA Триэтиламмония ацетат

TCEP Трис[2-карбокситил]фосфин

MI Малеимид или малеимидо

PDI Коэффициент полидисперсности

RP-HPLC Обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография

SEC Эксклюзионная хроматография

WCX Слабокатионообменная хроматография

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

[00785] Сконструированный с цистеином трастузумаб приобретали в GenScript.

[00786] Подавление роста опухоли (%TGI) определяли как процентное различие средних показателей объема опухоли (MTVs) в группе обработки и контрольной группе.

[00787] Эффективность обработки определяли на основе частоты возникновения и выраженности ответной реакции в виде регрессии размера опухоли, наблюдаемых во время исследования. Обработка может вызывать частичную регрессию (PR) или полную регрессию (CR) опухоли у животного. При ответной реакции в виде PR объем опухоли составлял 50% или меньше по сравнению с ее объемом в день 1 в течение трех последовательных измерений на протяжении исследования, и был равен более чем 13,5 мм³ в течение одного или более этих трех измерений. При ответной реакции в виде CR

объем опухоли составлял менее чем 13,5 мм³ в течение трех последовательных измерений на протяжении исследования. Всех животных с ответной реакцией в виде CR по завершении исследования дополнительно классифицировали как выживших без опухоли (TFS). Животных наблюдали в отношении ответной реакции в виде регрессии.

[00788] Очистку посредством HPLC осуществляли с использованием полупрепаративной колонки Phenomenex Gemini 5 мкм 110 Å, 250×10 мм, 5 микрон.

[00789] Где это было возможно, содержание лекарственного средства в конъюгатах количественно определяли с помощью хроматографии.

[00790] Содержание белка в конъюгатах белок-полимер-лекарственное средство определяли с помощью спектрофотометрии при 280 нм или с помощью ELISA.

[00791] Конъюгаты антитело-полимер-лекарственное средство, полимерные каркасы, несущие лекарственное средство, или полимерные каркасы, несущие антитело, могут быть очищены (т. е. подвергнуты удалению остаточных непрореагировавших лекарственного средства, антитела или полимерных исходных материалов) посредством экстенсивной диафильтрации. При необходимости может быть проведена дополнительная очистка посредством эксклюзионной хроматографии для удаления любых агрегированных конъюгатов антитело-полимер-лекарственное средство. Как правило, конъюгаты антитело-полимер-лекарственное средство в очищенном виде обычно содержат < 5% (например, < 2% вес/вес) агрегированных конъюгатов антитело-полимер-лекарственное средство, как определено с помощью SEC; < 0,5% (вес/вес) (например, < 0,1% вес/вес) свободного (неконъюгированного) лекарственного средства, как определено с помощью RP-HPLC или LC-MS/MS; < 1% (вес/вес) свободного конъюгата полимер-лекарственное средство, как определено с помощью SEC и/или RP-HPLC, и < 2% (вес/вес) (например, < 1% вес/вес) неконъюгированных антитела или фрагмента антитела, как определено с помощью HIC-HPLC и/или WCX HPLC. Восстановленные или частично восстановленные антитела получали с применением процедур, описанных в литературе, см., например, Francisco et al., Blood 102 (4): 1458-1465 (2003). Общую концентрацию лекарственного средства (конъюгированного и неконъюгированного) определяли с помощью RP-HPLC или расчетов по результатам измерений DAR с помощью CE-SDS.

[00792] RP-HPLC или CE-SDS использовали для характеристики специфичности и распределения сайтов биоконъюгации цистеина в конъюгатах PBRM-полимер-лекарственное средство. На основании результатов получали позиционное распределение конъюгатов лекарственное средство-полимер на тяжелой (H) и легкой (L) цепях PBRM.

[00793] Для определения концентрации свободного лекарственного средства в образце биологического материала подкисленный образец обрабатывали ацетонитрилом. Свободное лекарственное средство экстрагировали и анализировали ацетонитрильную надосадочную жидкость. Для определения концентрации конъюгированного AF-HPA в доклиническом образце образец подвергали исчерпывающему щелочному гидролизу с последующим захватом с помощью магнитных гранул с антителами к IgG1. Ацетонитрильную надосадочную жидкость, содержащую высвобожденный AF-HPA,

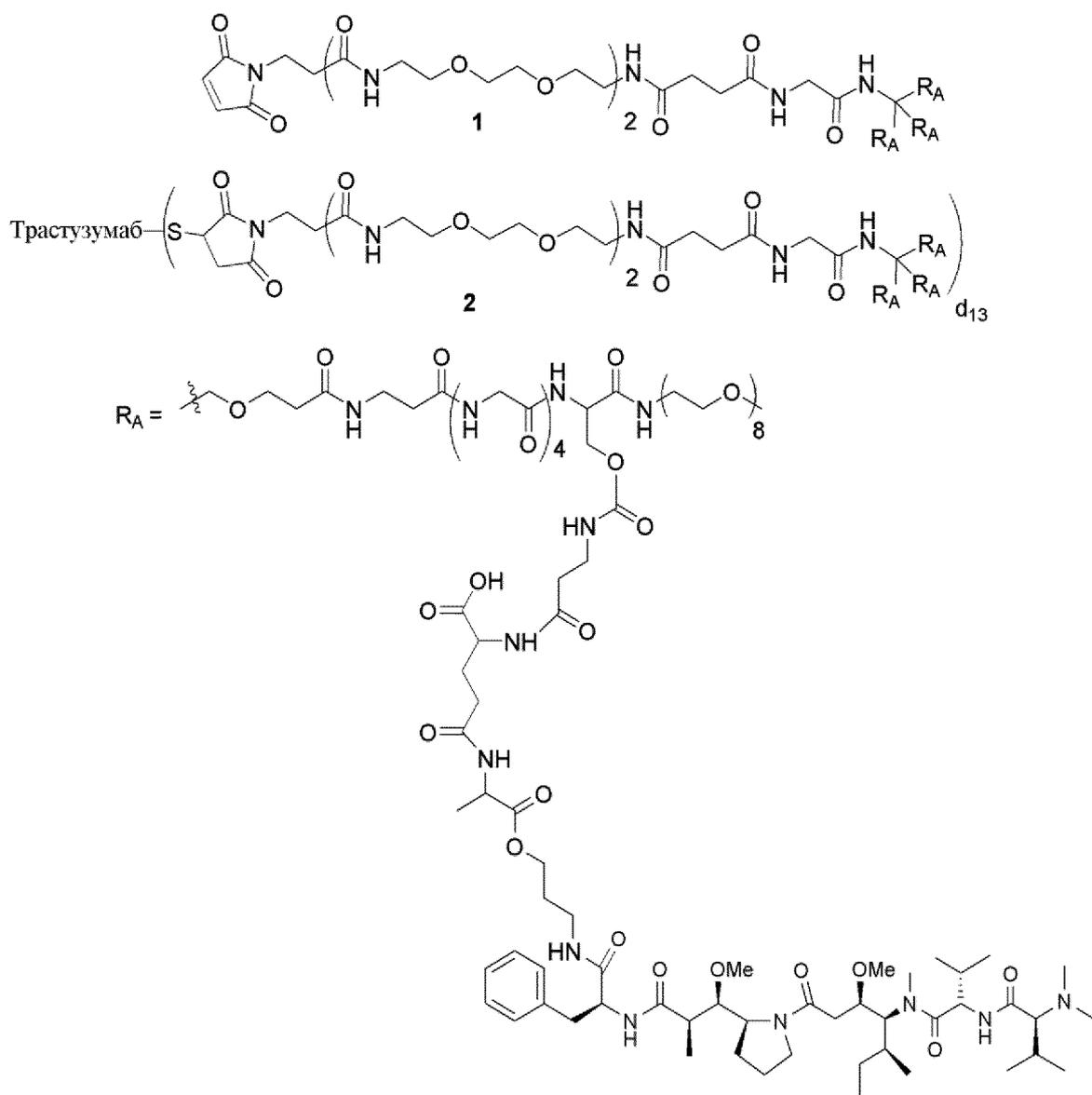
анализировали с помощью LC-MS/MS. Общее содержание антитела в доклинических образцах измеряли с помощью LC-MS/MS после захвата с помощью антител к IgG1 с использованием уникального пептида после триптического гидролиза. Что касается клинических образцов, то можно следовать такой же процедуре за исключением того, что для захвата использовали антиидиотипическое антитело для предупреждения влияния со стороны эндогенных антител.

[00794] Анализ свободного AF и AF-HPA проводили посредством RP-HPLC с помощью колонки C-4, градиента ацетонитрила и УФ-детектирования. Площади пика интегрировали и сравнивали со стандартами AF и AF-HPA. Способ является количественным в отношении AF-HPA и AF в плазме крови и гомогенатах тканей и линейным в отношении диапазонов концентрации от 0,1 нг/мл до 150 нг/мл. Общее количество лекарственного средства (AF-HPA), высвобожденного после гидролиза с помощью NaOH, измеряли при таких же условиях с динамическим интервалом от 1 нг/мл до 5000 нг/мл. Общий показатель для стандартов антитела находился в диапазоне от 0,1 мкг/мл до 100 мкг/мл.

[00795] Гидрофобность конъюгатов PBRM-полимер-лекарственное средство определяли с помощью хроматографии с гидрофобным взаимодействием (HIC) с использованием системы HPLC Shimadzu Prominence, оснащенной детектором в виде диодной матрицы (DAD). Колонку TSKgel butyl-NPR (4,6 мм x 3,5 см, размер частиц 2,5 мкм) выдерживали при 35°C для проведения этих анализов. Подвижная фаза А содержала 1,5 М сульфат аммония, 25 мМ фосфат натрия, pH 7,0, и подвижная фаза В представляла собой 25 мМ фосфат натрия, 10% изопропиловый спирт, pH 7,0. Разделение осуществляли с помощью линейного градиента 0-100% подвижной фазы В в течение 25 минут, затем 100% подвижной фазы В в течение 5 минут, а затем возврата к 100% А в течение 5 минут. Скорость потока составляла 1 мл/мин. Образцы инъекций находились в диапазоне от ~10 мкг до 100 мкг.

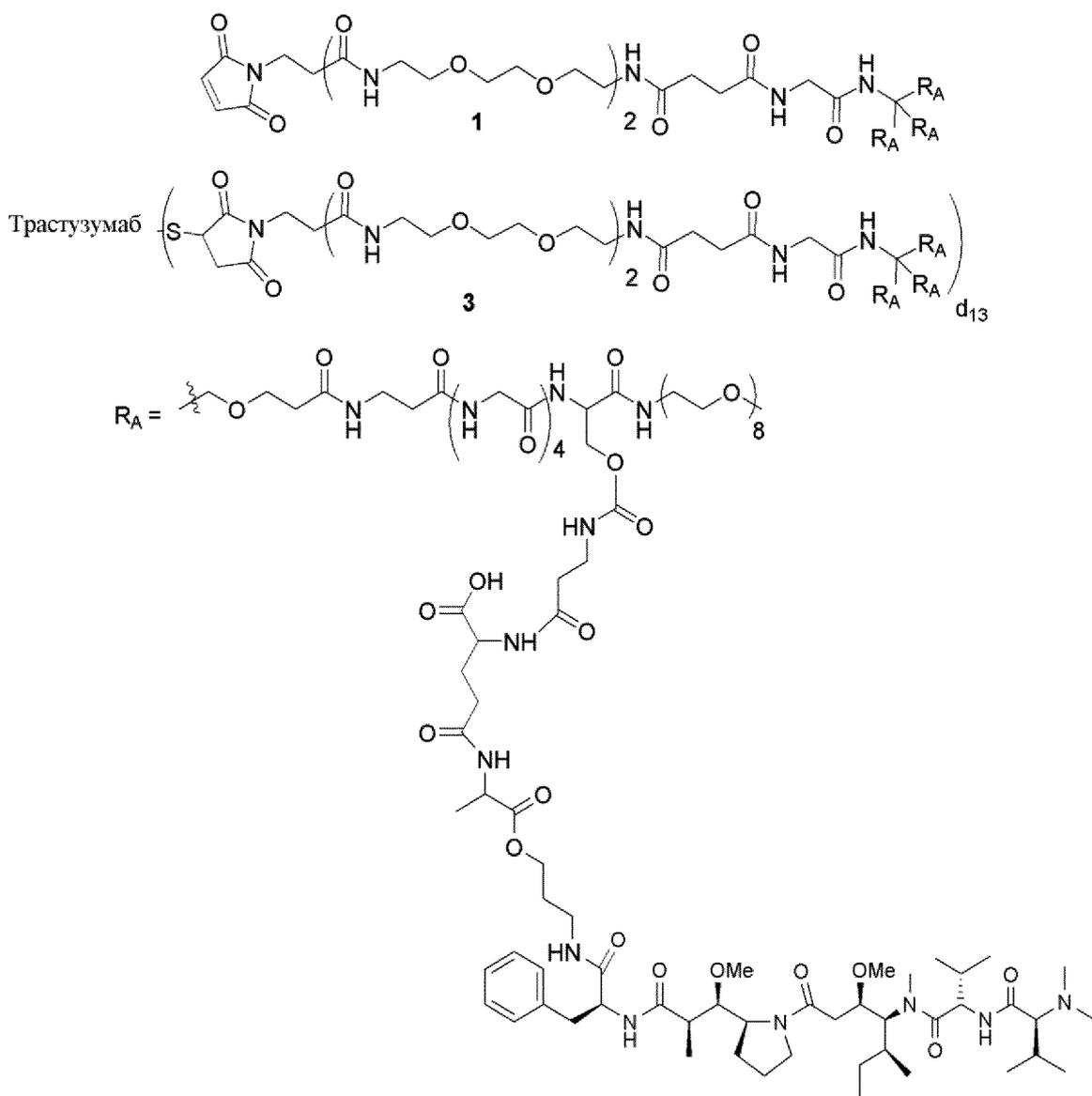
[00796] Соотношение лекарственного средства и антитела (DAR) определяли с помощью гидролиза с последующей RP-HPLC. Конъюгаты антитело-р-лекарственное средство подвергали исчерпывающему щелочному гидролизу и высвобожденный AF-HPA анализировали с помощью RP-HPLC на Shimadzu LC-20AD. Рассчитанные значения концентраций свободного лекарственного средства нормализовали относительно содержания антитела ADC для определения DAR.

Пример 1: синтез стохастического конъюгата 2 на основе трастузумаба (DAR 13,3)



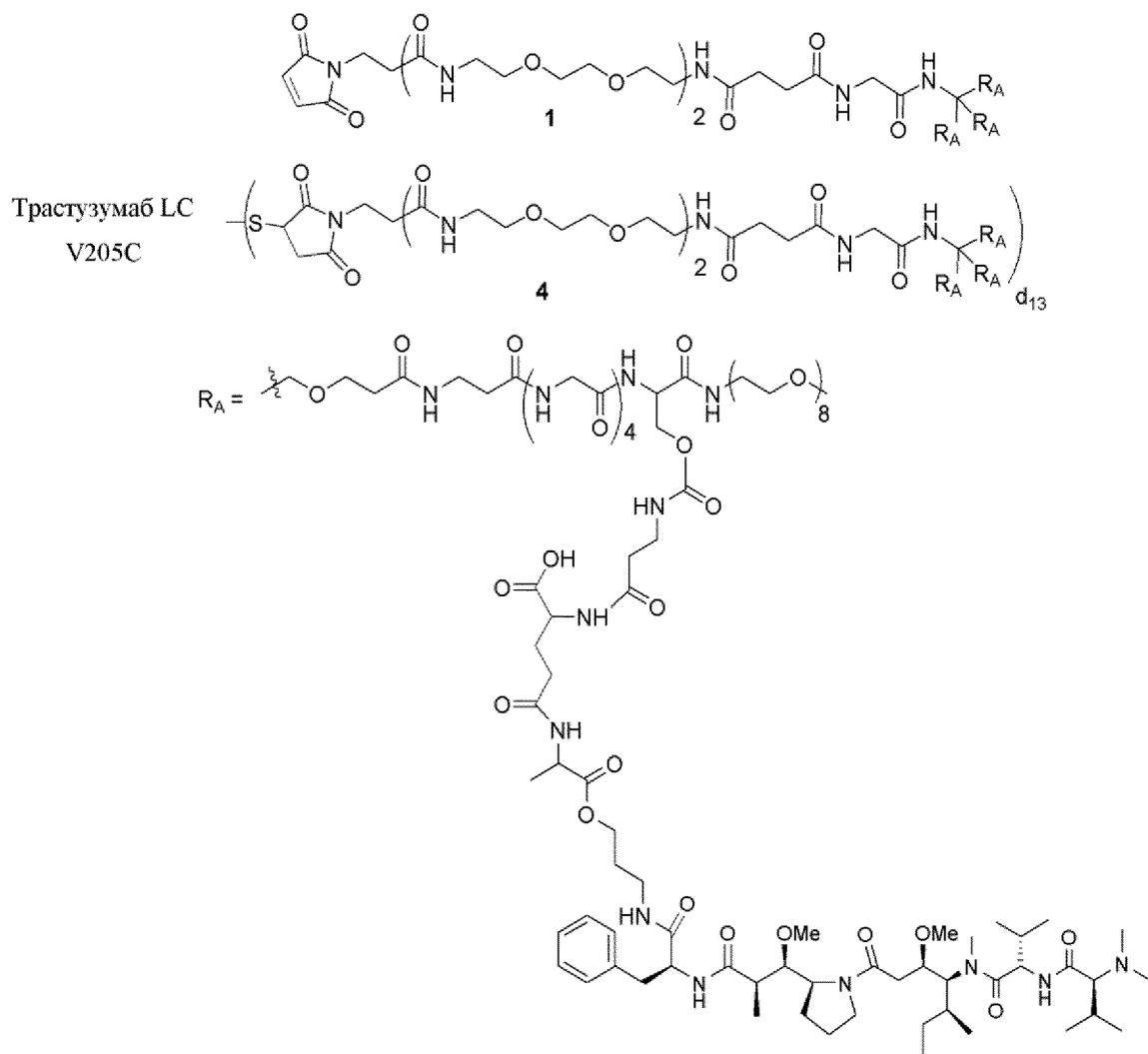
[00797] К раствору трастузумаба (23 мг, 0,156 мкмоль) в буфере ТЕАА (50 мМ, 1 мМ EDTA, pH 7, 3,04 мл) добавляли раствор ТСЕР (0,100 мг, 0,349 мкмоль) и полученную смесь инкубировали в течение 1 ч. при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли с помощью буфера ТЕАА (0,29 мл). Затем медленно добавляли раствор каркаса 1 (9,1 мг, 1,40 мкмоль, полученный как описано в US 15/819650), растворенного в 1,0 мл буфере ТЕАА, при энергичном перемешивании реакционной смеси. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Добавляли цистеин (0,95 мг, 7,84 мкмоль) и перемешивали реакционную смесь в течение 30 минут. Неочищенный продукт очищали с помощью WCX с получением конъюгата 2 (11,8 мг, выход 51%). Очищенный конъюгат характеризовался соотношением лекарственного средства и трастузумаба, составляющим 13,3, как было определено с помощью гидролиза с последующей RP-HPLC.

Пример 2: синтез стохастического конъюгата 3 на основе трастузумаба (DAR 6,4)



[00798] К раствору трастузумаба (40 мг, 0,275 мкмоль) в буфере ТЕАА (50 мМ, 1 мМ EDTA, pH 7, 0,831 мл) добавляли раствор ТСЕР-НСl (0,118 мг, 0,413 мкмоль). Добавляли раствор каркаса 1 (10,7 мг/мл, 1,65 мМ, полученный как описано в US 15/819650) в DMA и полученную смесь инкубировали в течение 1 ч. при комнатной температуре. Добавляли L-цистеин (16 мг/мл, 132 мМ) и перемешивали реакционную смесь в течение 30 минут. Неочищенную реакционную смесь очищали с помощью хроматографии НlС с получением конъюгата 3 (6,7 мг, выход 11%). Очищенный конъюгат характеризовался соотношением лекарственного средства и трастузумаба, составляющим 6,4, как было определено с помощью гидролиза с последующей RP-HPLC.

Пример 3: синтез конъюгата 4 на основе сконструированного с цистеином трастузумаба (DAR 6,6)



[00799] К раствору трастузумаба со сконструированной с цистеином легкой цепью L205C (30 мг, 0,21 мкмоль) в буфере для конъюгации (25 мМ HEPES, 25 мМ NaCl, 1 мМ EDTA, pH 8, 5,84 мл, 5,14 мг/мл) добавляли раствор ТСЕР-НСl (0,573 мг, 2,1 мкмоль) и полученную смесь встряхивали в течение 4 ч. при 37°C. Межцепочечные дисульфиды повторно окисляли с помощью добавления дегидроаскорбиновой кислоты (dhAA), растворенной в рабочем буфере (8,71 мг/мл, 50 мМ), и смесь вращали в течение 2 ч. при комнатной температуре. Добавляли раствор каркаса 1 (6,4 мг/мл, 1 мМ, полученного, как описано в US 15/819650) в DMSO и полученную смесь перемешивали в течение 1,5 ч. при комнатной температуре. Регулировали pH смеси до ~5,1 с помощью 1 М уксусной кислоты и неочищенный продукт очищали с помощью HPLC с получением конъюгата 4 (5,9 мг, выход 12%). Очищенный конъюгат характеризовался соотношением лекарственного средства и трастузумаба, составляющим 6,6, как было определено с помощью гидролиза с последующей RP-HPLC.

Пример 4: анализ жизнеспособности клеток для конъюгатов PBRM-лекарственное средство

[00800] Конъюгаты оценивали в отношении их антипролиферативных свойств в

линиях опухолевых клеток *in vitro* с использованием CellTiter-Glo® (Promega Corp). Клетки SKBR3 (клетки, экспрессирующие HER2), клетки JMT-1 (клетки со средним уровнем экспрессии HER2) высевали при плотности 5000 клеток на лунку в 96-луночный планшет с черными стенками, и оставляли для прилипания в течение ночи при 37°C в увлажненной атмосфере 5% CO₂, и высевали. Добавляли в лунки реактив CellTiter-Glo® при комнатной температуре и измеряли люминесцентный сигнал через 10 мин. с помощью планшетного ридера SpectraMax M5 (Molecular Devices). Кривые доза-эффект получали с использованием программного обеспечения Graphpad Prism. Значения IC₅₀ определяли в результате подбора четырехпараметрической кривой.

[00801] В таблице I представлены иллюстративные результаты оценки антипролиферативных свойств конъюгатов PBRM-лекарственное средство: конъюгата 2, конъюгата 3 и конъюгата 4.

Таблица I

Номер конъюгата	SKBR3 IC ₅₀ (нмоль/л)	JMT-1 IC ₅₀ (нмоль/л)
2	0,09	1,3
3	0,09	0,98
4	0,10	0,95

[00802] Как показано в таблице I, конъюгаты PBRM-лекарственное средство демонстрировали активность в тестируемых клеточных линиях.

Пример 5: ответная реакция роста опухоли на введение конъюгатов PBRM-лекарственное средство.

[00803] Самкам мышей CB-17 SCID инокулировали подкожно клетки JMT1 (n=10 для каждой группы). Мышей рандомизировали на группы с одинаковым средним объемом опухоли через 12 дней после имплантации опухоли. Дозу тестируемого соединения или носителя вводили IV в виде однократной дозы в день 1. Размер опухоли измеряли в моменты времени, указанные на фигуре 1, с использованием цифровых циркулей. Рассчитывали объем опухоли и использовали для определения задержки роста опухоли. Мышей подвергали эвтаназии, когда размер опухоли достигал 1000 мм³. Значения объема опухоли приведены в виде среднего значения ± SEM для каждой группы.

[00804] На фигуре 1 представлены результаты оценки ответной реакции опухоли у мышей, инокулированных подкожно клетками JMT-1 (n=10 для каждой группы) после IV введения (через 12 дней после имплантации опухоли) в виде однократной дозы в день 1 носителя и конъюгата трастузумаб-лекарственное средство, конъюгата 2, пример 1; конъюгата 3, пример 2 и конъюгата 4, пример 3 при полезной нагрузке каждого, составлявшей 0,066 мг/кг. Результаты показывают, что в день 130 при 0,066 мг/кг конъюгат 2 привел в результате к 2 случаям частичных ответных реакций, 8 случаям полных ответных реакций и 2 случаям выживших без опухоли, конъюгат 3 привел в результате к 10 случаям полных ответных реакций и 6 случаям выживших без опухоли, и конъюгат 4 привел в результате к 10 случаям полных ответных реакций.

Пример 6: воздействие на мышей после введения конъюгатов PBRM-полимер-лекарственное средство

[00805] Самкам мышей СВ-17 SCID инокулировали подкожно клетки JMT1 (n=10 для каждой группы). Мышей рандомизировали на группы с одинаковым средним объемом опухоли через 12 дней после имплантации опухоли. Мышам инъектировали внутривенно носитель (n=3) или конъюгат PBRM-полимер-лекарственное средство (n=6), конъюгат 2, пример 1; конъюгат 3, пример 2 и конъюгат 4, пример 3 при полезной нагрузке каждого, составлявшей 0,199 мг/кг. Плазму крови собирали через 10 мин., 24 ч., 96 ч., 168 ч. и 336 ч. после введения дозы. Вес тела измеряли до введения дозы в день 1 и в дни 1, 7 и 14. Всех животных наблюдали в течение четырнадцатидневного периода в отношении смертности или заболеваемости.

[00806] Концентрации конъюгированного AF-НРА определяли с помощью анализа LC-MS/MS. На фигуре 2 показаны данные оценки воздействия для конъюгата 2, конъюгата 3 и конъюгата 4. Результаты показывают, что конъюгат 4 привел в результате к получению наиболее высокого показателя воздействия конъюгированного AF-НРА.

[00807] Все публикации, включающие, например, непатентную литературу, заявки на патент и патенты, упоминаемые в описании настоящего изобретения включены в данный документ посредством ссылки для всех целей. Настоящее изобретение может осуществляться в других конкретных формах без отступления от его сущности или существенных характеристик. Таким образом, вышеуказанные варианты осуществления следует рассматривать во всех отношениях как иллюстративные, а не ограничивающие в отношении настоящего изобретения, описанного в данном документе. Таким образом, объем настоящего изобретения обозначается с помощью прилагаемой формулы изобретения, а не приведенного выше описания, и предполагается, что в данном документе охвачены все изменения в пределах значения и диапазона эквивалентности формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Конъюгат, содержащий сконструированный с цистеином нацеливающий фрагмент и один или более фрагментов линкер-лекарственное средство, ковалентно связанных с нацеливающим фрагментом, где:

каждый фрагмент линкер-лекарственное средство содержит многофункциональный линкер, который присоединяет сконструированный с цистеином нацеливающий фрагмент к одному или более звеньям, представляющим собой лекарственное средство, посредством сборочного звена, обеспечивающего возможность высвобождения, для каждого звена, представляющего собой лекарственное средство, и присоединяет гидрофильную группу к звеньям, представляющим собой лекарственное средство, из каждого фрагмента линкер-лекарственное средство, где сборочные звенья, обеспечивающие возможность высвобождения, обладают способностью высвободить лекарственное средство в свободной форме вблизи сайта-мишени, на который нацелен сконструированный с цистеином нацеливающий фрагмент, и

где многофункциональный линкер содержит пептидный фрагмент между сконструированным с цистеином нацеливающим фрагментом и гидрофильной группой, где пептидный фрагмент включает по меньшей мере две аминокислоты.

2. Конъюгат по п. 1, где сконструированный с цистеином нацеливающий фрагмент содержит цистеин, присоединенный к многофункциональному линкеру.

3. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, где сконструированный с цистеином нацеливающий фрагмент представляет собой распознающую молекулу на основе белка (PBRM).

4. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, где PBRM представляет собой антитело или фрагмент антитела.

5. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, где PBRM представляет собой антитело или фрагмент антитела и содержит V205C легкой цепи, и PBRM присоединена к многофункциональному линкеру посредством V205C легкой цепи.

6. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, где пептидный фрагмент содержит от трех до приблизительно десяти аминокислот.

7. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, где пептидный фрагмент содержит по меньшей мере четыре аминокислоты или по меньшей мере пять аминокислот.

8. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, где гидрофильная группа содержит полиэфир или его производное.

9. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, где гидрофильная группа

содержит

$$\frac{1}{2}\text{NH}-\text{R}_{64}-\left(\begin{array}{c} \text{R}_{63} \quad \text{R}_{63} \\ | \quad | \\ \text{C} - \text{C} - \text{O} \\ | \quad | \\ \text{R}_{63} \quad \text{R}_{63} \end{array}\right)_{n_4}-\text{R}_{65}$$

, где

n_4 представляет собой целое число от 1 до приблизительно 25;

каждый R_{63} независимо представляет собой -H или C_{1-8} алкил;

R₆₄ представляет собой связь или C₁₋₈алкильный линкер;

R₆₅ представляет собой -H, C₁₋₈алкил или -(CH₂)_{n2}COOR₆₂;

R₆₂ представляет собой -H или C₁₋₈алкил; и

n₂ представляет собой целое число от 1 до приблизительно 5.

10. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, где гидрофильная группа содержит полиэтиленгликоль.

11. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, где гидрофильная группа содержит полиэтиленгликоль, содержащий от приблизительно 6 до приблизительно 24 субъединиц PEG.

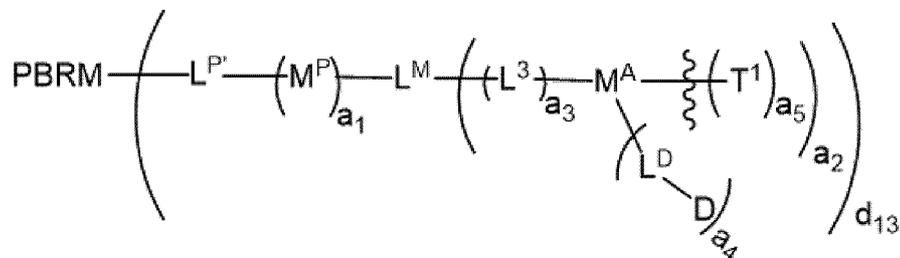
12. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, где гидрофильная группа содержит полиэтиленгликоль, содержащий от приблизительно 6 до приблизительно 12 субъединиц PEG.

13. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, где гидрофильная группа содержит полиэтиленгликоль, содержащий от приблизительно 8 до приблизительно 12 субъединиц PEG.

14. Конъюгат, содержащий сконструированный с цистеином нацеливающий фрагмент и один или более фрагментов линкер-лекарственное средство, ковалентно связанных с нацеливающим фрагментом, где

каждый фрагмент линкер-лекарственное средство содержит многофункциональный линкер, который присоединяет сконструированный с цистеином нацеливающий фрагмент к одному или более звеньям, представляющим собой лекарственное средство, посредством сборочного звена, обеспечивающего возможность высвобождения, для каждого звена, представляющего собой лекарственное средство, и присоединяет многоатомный спирт или его производное к звеньям, представляющим собой лекарственное средство, из каждого фрагмента линкер-лекарственное средство, где сборочные звенья, обеспечивающие возможность высвобождения, обладают способностью высвобождать лекарственное средство в свободной форме вблизи сайта-мишени, на который нацелен сконструированный с цистеином нацеливающий фрагмент.

15. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, характеризующийся формулой (I):



(I),

где

a₁, если присутствует, представляет собой целое число от 0 до 1;

a₂ равняется 3;

a_3 , если присутствует, представляет собой целое число от 0 до 1;

a_4 представляет собой целое число от 1 до приблизительно 5;

a_5 представляет собой целое число от 1 до 3;

d_{13} представляет собой целое число от 1 до приблизительно 6;

PBRM обозначает распознающую молекулу на основе белка, где PBRM содержит сконструированный цистеин;

L^P представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, присоединяющий сконструированный цистеин из PBRM к M^P ; при этом соответствующий одновалентный фрагмент L^P содержит функциональную группу W^P , которая обладает способностью образовывать ковалентную связь с функциональной группой сконструированного цистеина из PBRM;

M^P , если присутствует, представляет собой вставочное звено;

L^M представляет собой четырехвалентный линкер;

L^3 , если присутствует, представляет собой карбонилсодержащий фрагмент;

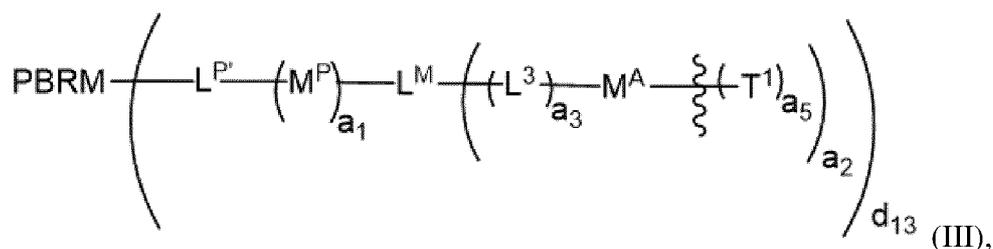
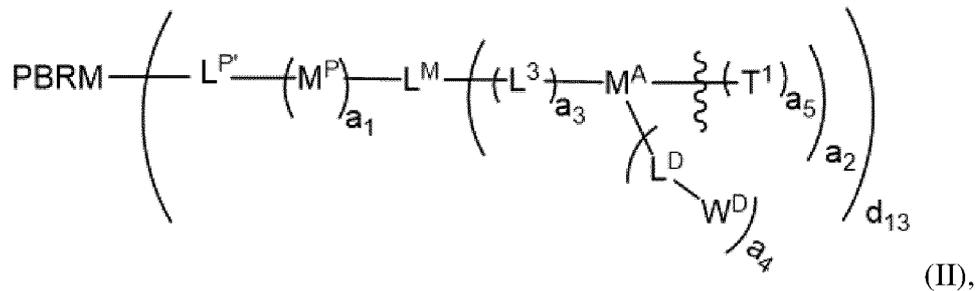
M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит по меньшей мере две аминокислоты;

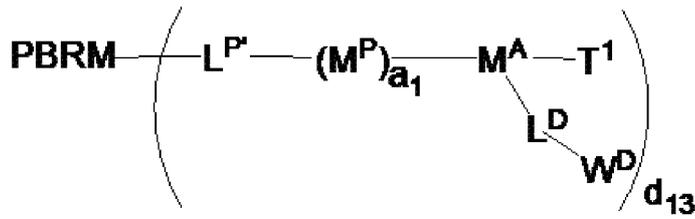
T^1 представляет собой гидрофильную группу, и  между T^1 и M^A обозначает прямое или не прямое присоединение к T^1 и M^A ;

в каждом случае D независимо представляет собой терапевтическое средство, имеющее молекулярную массу \leq приблизительно 5 кДа; и

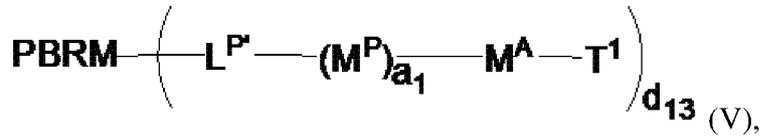
в каждом случае L^D независимо представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, присоединяющий D к M^A , и содержит по меньшей мере одну расщепляемую связь таким образом, чтобы при разрушении связи D высвобождалось в активной форме для обеспечения его предполагаемого терапевтического эффекта.

16. Пептидсодержащий каркас характеризующийся любой из формул (II)-(V):





или



где:

a_1 , если присутствует, представляет собой целое число от 0 до 1;

a_2 , если присутствует, равняется 3;

a_3 , если присутствует, представляет собой целое число от 0 до 1;

a_4 , если присутствует, представляет собой целое число от 1 до приблизительно 5;

a_5 если присутствует, представляет собой целое число от 1 до 3;

d_{13} представляет собой целое число от 1 до 6;

PBRM обозначает распознающую молекулу на основе белка, где PBRM содержит сконструированный цистеин;

L^P представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, присоединяющий сконструированный цистеин из PBRM к M^P ; при этом соответствующий одновалентный фрагмент L^P содержит функциональную группу W^P , которая обладает способностью образовывать ковалентную связь с функциональной группой сконструированного цистеина из PBRM;

M^P , если присутствует, представляет собой вставочное звено;

L^M представляет собой четырехвалентный линкер, a_2 равен 3;

L^3 , если присутствует, представляет собой карбонилсодержащий фрагмент;

M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит по меньшей мере две аминокислоты;

T^1 представляет собой гидрофильную группу, и  между T^1 и M^A обозначает прямое или не прямое присоединение к T^1 и M^A ;

в каждом случае W^D независимо представляет собой функциональную группу, которая обладает способностью образовывать ковалентную связь с функциональной группой терапевтического средства («D»), имеющего молекулярную массу \leq приблизительно 5 кДа; и

в каждом случае L^D независимо представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, присоединяющий W^D или D к M^A , и L^D содержит по меньшей мере одну расщепляемую связь таким образом, чтобы при разрушении связи D высвобождалось в активной форме для обеспечения его предполагаемого терапевтического эффекта.

17. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где PBRM

представляет собой антитело или фрагмент антитела, содержащие V205C легкой цепи, и где PBRM присоединена к L^P посредством V205C легкой цепи.

18. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где L³, если присутствует, содержит -X-C₁₋₁₀алкилен-C(O)-, при этом X непосредственно присоединен к L^M, где X представляет собой CH₂, O или NR₅, и R₅ представляет собой -H, C₁₋₆алкил, C₆₋₁₀арил, C₃₋₈циклоалкил, COOH или COO-C₁₋₆алкил.

19. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где L³, если присутствует, представляет собой -NR₅-(CH₂)_v-C(O)- или -CH₂-(CH₂)_v-C(O)-NR₅-(CH₂)_v-C(O)-, где каждый v независимо представляет собой целое число от 1 до 10.

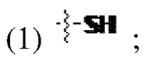
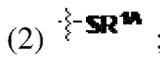
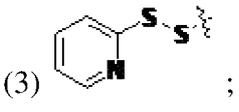
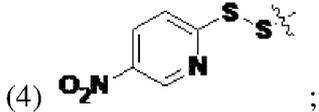
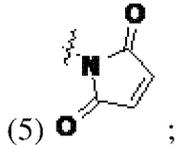
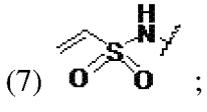
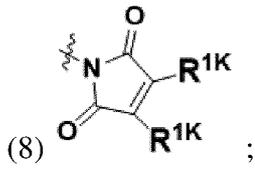
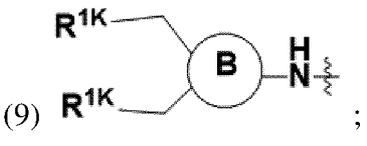
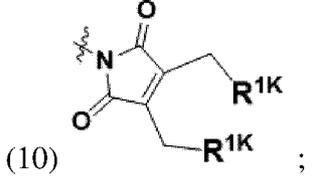
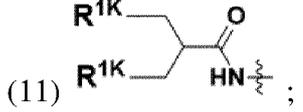
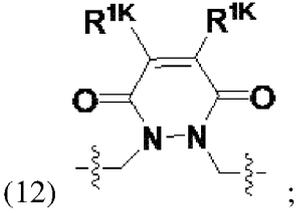
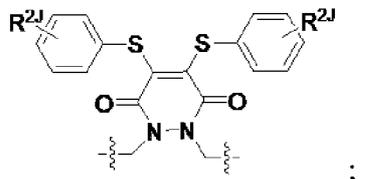
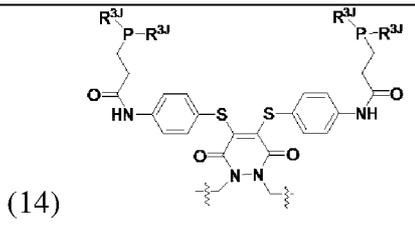
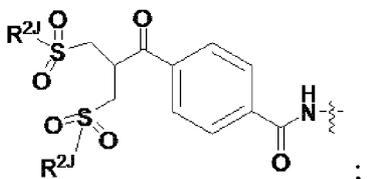
20. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где L³, если присутствует, представляет собой -NH-(CH₂)₂-C(O)- или -(CH₂)₂-C(O)-NH-(CH₂)₂-C(O)-.

21. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где каждый v независимо представляет собой целое число от 1 до 6 или от 2 до 4 или равняется 2.

22. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где a₄ равняется 1, 2 или 3.

23. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где d₁₃ равняется 2, 4 или 6.

24. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где каждый W^P, если присутствует, независимо представляет собой:

(1)  ;	(2)  ;	(3)  ;
(4)  ;	(5)  ;	(6)  ;
(7)  ;	(8)  ;	(9)  ;
(10)  ;	(11)  ;	(12)  ;
(13)  ;	(14)  ; или	(15)  ;

где

кольцо В представляет собой циклоалкил, гетероциклоалкил, арил или гетероарил;

R^{1K} представляет собой уходящую группу;

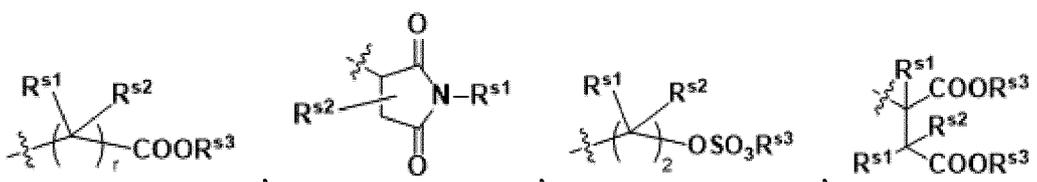
R^{1A} представляет собой защитную группу для атома серы;

R^{2J} представляет собой -H, алифатический, арильный, гетероалифатический или карбоциклический фрагмент; и

R^{3J} представляет собой C_{1-6} -алкил, и каждый из Z_1 , Z_2 , Z_3 и Z_7 независимо представляет собой атом углерода или азота.

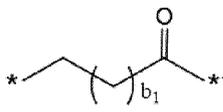
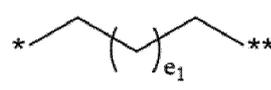
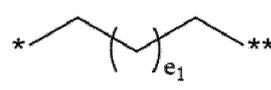
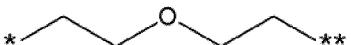
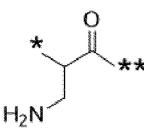
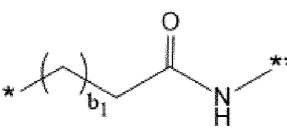
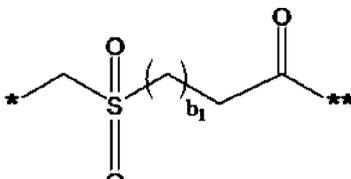
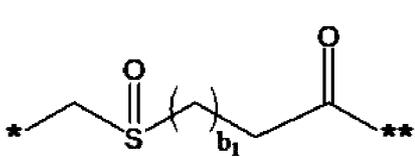
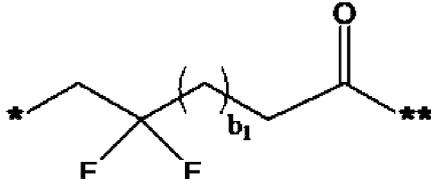
25. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где R^{1K} представляет собой галоген или $RC(O)O-$, где R представляет собой -H, алифатический, гетероалифатический, карбоциклический или гетероциклоалкильный фрагмент.

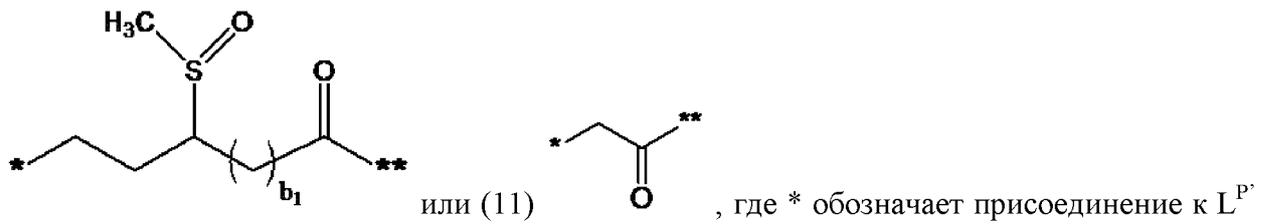
26. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где R^{1A} представляет

собой , где r равняется 1 или 2, и каждый из R^{s1} , R^{s2} и R^{s3} представляет собой -H, алифатический, гетероалифатический, карбоциклический или гетероциклоалкильный фрагмент.

27. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где M^P , если присутствует, представляет собой $-(Z_4)-[(Z_5)-(Z_6)]_z-$, при этом Z_4 присоединен к L^P или L^P , и Z_6 присоединен к L^M , где

z равняется 1, 2 или 3;

Z_4 представляет собой: (1) , (2) , (3) , (4) , (5) , (6) R_{17} , (7) , (8) , (9) , (10) , (10)



или L^P , и ** обозначает присоединение к Z_5 или Z_6 , если присутствует, или к L^M , если оба из Z_5 и Z_6 отсутствуют;

b_1 представляет собой целое число от 0 до 6;

e_1 представляет собой целое число от 0 до 8,

R_{17} представляет собой C_{1-10} алкилен, C_{1-10} гетероалкилен, C_{3-8} циклоалкилен, $O-(C_{1-8}$ алкилен, арилен, $-C_{1-10}$ алкилен-арил-, -арил- C_{1-10} алкилен-, $-C_{1-10}$ алкилен- $(C_{3-8}$ циклоалкилен)-, $-(C_{3-8}$ циклоалкилен- C_{1-10} алкилен-, 4-14-членный гетероциклоалкилен, $-C_{1-10}$ алкилен-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-, $-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-C_{1-10}$ алкилен-, $-C_{1-10}$ алкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ гетероалкилен- $C(=O)-$, $-C_{3-8}$ циклоалкилен- $C(=O)-$, $-O-(C_{1-8}$ алкил)- $C(=O)-$, -арил- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен-арил- $C(=O)-$, -арил- C_{1-10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен- $(C_{3-8}$ циклоалкилен)- $C(=O)-$, $-(C_{3-8}$ циклоалкилен)- C_{1-10} алкилен- $C(=O)-$, 4-14-членный гетероциклоалкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен-(4-14-членный гетероциклоалкилен)- $C(=O)-$, $-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-C_{1-10}$ алкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен-NH-, $-C_{1-10}$ гетероалкилен-NH-, $-C_{3-8}$ циклоалкилен-NH-, $-O-(C_{1-8}$ алкил)-NH-, -арил-NH-, $-C_{1-10}$ алкилен-арил-NH-, -арил- C_{1-10} алкилен-NH-, $-C_{1-10}$ алкилен- $(C_{3-8}$ циклоалкилен)-NH-, $-(C_{3-8}$ циклоалкилен)- C_{1-10} алкилен-NH-, 4-14-членный гетероциклоалкилен-NH-, $-C_{1-10}$ алкилен-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-NH-, $-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-C_{1-10}$ алкилен-NH-, $-C_{1-10}$ алкилен-S-, $-C_{1-10}$ гетероалкилен-S-, $-C_{3-8}$ циклоалкилен-S-, $-O-C_{1-8}$ алкил)-S-, -арил-S-, $-C_{1-10}$ алкилен-арил-S-, -арил- C_{1-10} алкилен-S-, $-C_{1-10}$ алкилен- $(C_{3-8}$ циклоалкилен)-S-, $-(C_{3-8}$ циклоалкилен)- C_{1-10} алкилен-S-, 4-14-членный гетероциклоалкилен-S-, $-C_{1-10}$ алкилен-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-S- или $-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-C_{1-10}$ алкилен-S-;

каждый Z_5 независимо отсутствует, представляет собой $R_{57}-R_{17}$ или полиэфирное звено;

каждый R_{57} независимо представляет собой связь, NR_{23} , S или O;

каждый R_{23} независимо представляет собой -H, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, C_{3-8} циклоалкил, -COOH или -COO- C_{1-6} алкил; и

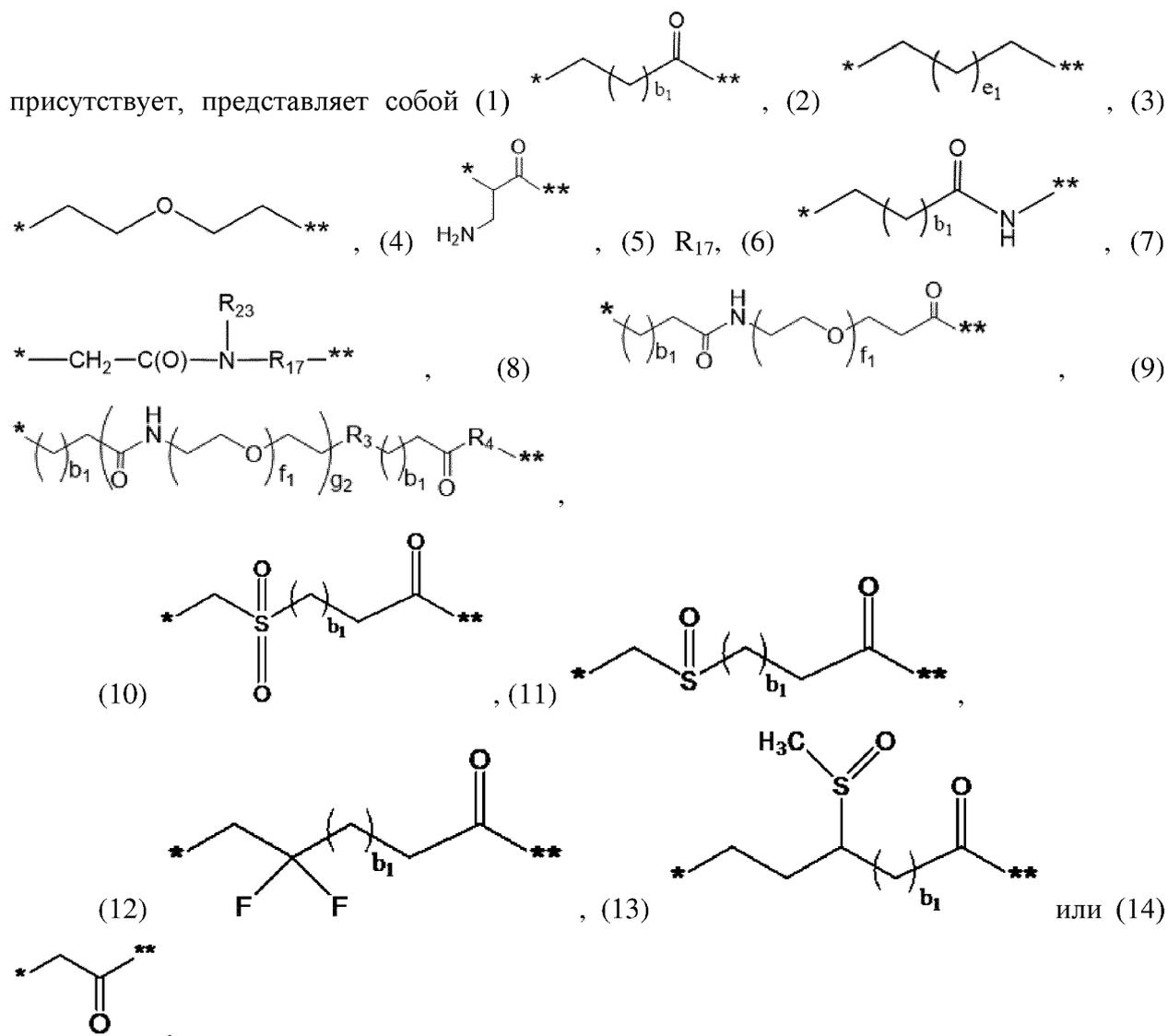
каждый Z_6 независимо отсутствует, представляет собой $-C_{1-10}$ алкил- R_3- , $-C_{1-10}$ алкил- NR_5- , $-C_{1-10}$ алкил- $C(O)-$, $-C_{1-10}$ алкил-O-, $-C_{1-10}$ алкил-S- или $-(C_{1-10}$ алкил- R_3) g_1-C_{1-10} алкил- $C(O)-$;

каждый R_3 независимо представляет собой $-C(O)-NR_5-$ или $-NR_5-C(O)-$;

каждый R_5 независимо представляет собой -H, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, C_{3-8} циклоалкил, COOH или COO- C_{1-6} алкил; и

g_1 представляет собой целое число от 1 до 4.

28. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где M^P , если



где * обозначает присоединение к L^P или L^P , и ** обозначает присоединение к L^M ;

R_3 представляет собой $-C(O)-NR_5$ или $-NR_5-C(O)-$;

R_4 представляет собой связь или $-NR_5-(CR_{20}R_{21})-C(O)-$;

R_5 представляет собой $-H$, C_{1-6} алкил, C_{6-10} арил, C_{3-8} циклоалкил, $-COOH$ или $-COO-C_{1-6}$ алкил;

R_{17} представляет собой C_{1-10} алкилен, C_{1-10} гетероалкилен, C_{3-8} циклоалкилен, $O-(C_{1-8}$ алкилен, арилен, $-C_{1-10}$ алкилен-арил-, -арил- C_{1-10} алкилен-, $-C_{1-10}$ алкилен- $(C_{3-8}$ циклоалкилен)-, $-(C_{3-8}$ циклоалкилен- C_{1-10} алкилен-, 4-14-членный гетероциклоалкилен, $-C_{1-10}$ алкилен-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-, $-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-C_{1-10}$ алкилен-, $-C_{1-10}$ алкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ гетероалкилен- $C(=O)-$, $-C_{3-8}$ циклоалкилен- $C(=O)-$, $-O-(C_{1-8}$ алкил)- $C(=O)-$, -арил- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен-арил- $C(=O)-$, -арил- C_{1-10} алкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен- $(C_{3-8}$ циклоалкилен)- $C(=O)-$, $-(C_{3-8}$ циклоалкилен)- C_{1-10} алкилен- $C(=O)-$, 4-14-членный гетероциклоалкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен-(4-14-членный гетероциклоалкилен)- $C(=O)-$, $-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-C_{1-10}$ алкилен- $C(=O)-$, $-C_{1-10}$ алкилен-NH-, $-C_{1-10}$ гетероалкилен-NH-, $-C_{3-8}$ циклоалкилен-NH-, $-O-(C_{1-10}$

8алкил)-NH-, -арилен-NH-, -C₁₋₁₀ алкилен-арилен-NH-, -арилен-C₁₋₁₀алкилен-NH-, -C₁₋₁₀алкилен-(C₃₋₈циклоалкилен)-NH-, -(C₃₋₈циклоалкилен)-C₁₋₁₀алкилен-NH-, -4-14-членный гетероциклоалкилен-NH-, -C₁₋₁₀алкилен-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-NH-, -(4-14-членный гетероциклоалкилен)-C₁₋₁₀алкилен-NH-, -C₁₋₁₀алкилен-S-, -C₁₋₁₀гетероалкилен-S-, -C₃₋₈циклоалкилен-S-, -O-C₁₋₈алкил)-S-, -арилен-S-, -C₁₋₁₀алкилен-арилен-S-, -арилен-C₁₋₁₀алкилен-S-, -C₁₋₁₀алкилен-(C₃₋₈циклоалкилен)-S-, -(C₃₋₈циклоалкилен)-C₁₋₁₀алкилен-S-, -4-14-членный гетероциклоалкилен-S-, -C₁₋₁₀алкилен-(4-14-членный гетероциклоалкилен)-S- или -(4-14-членный гетероциклоалкилен)-C₁₋₁₀алкилен-S-;

каждый R₂₀ и R₂₁ независимо представляет собой -H, C₁₋₆алкил, C₆₋₁₀арил, гидроксильированный C₆₋₁₀арил, полигидроксильированный C₆₋₁₀арил, 5-12-членный гетероцикл, C₃₋₈циклоалкил, гидроксильированный C₃₋₈циклоалкил, полигидроксильированный C₃₋₈циклоалкил или боковую цепь природной или неприродной аминокислоты;

каждый R₂₃ независимо представляет собой -H, C₁₋₆алкил, C₆₋₁₀арил, C₃₋₈циклоалкил, -COOH или -COO-C₁₋₆алкил;

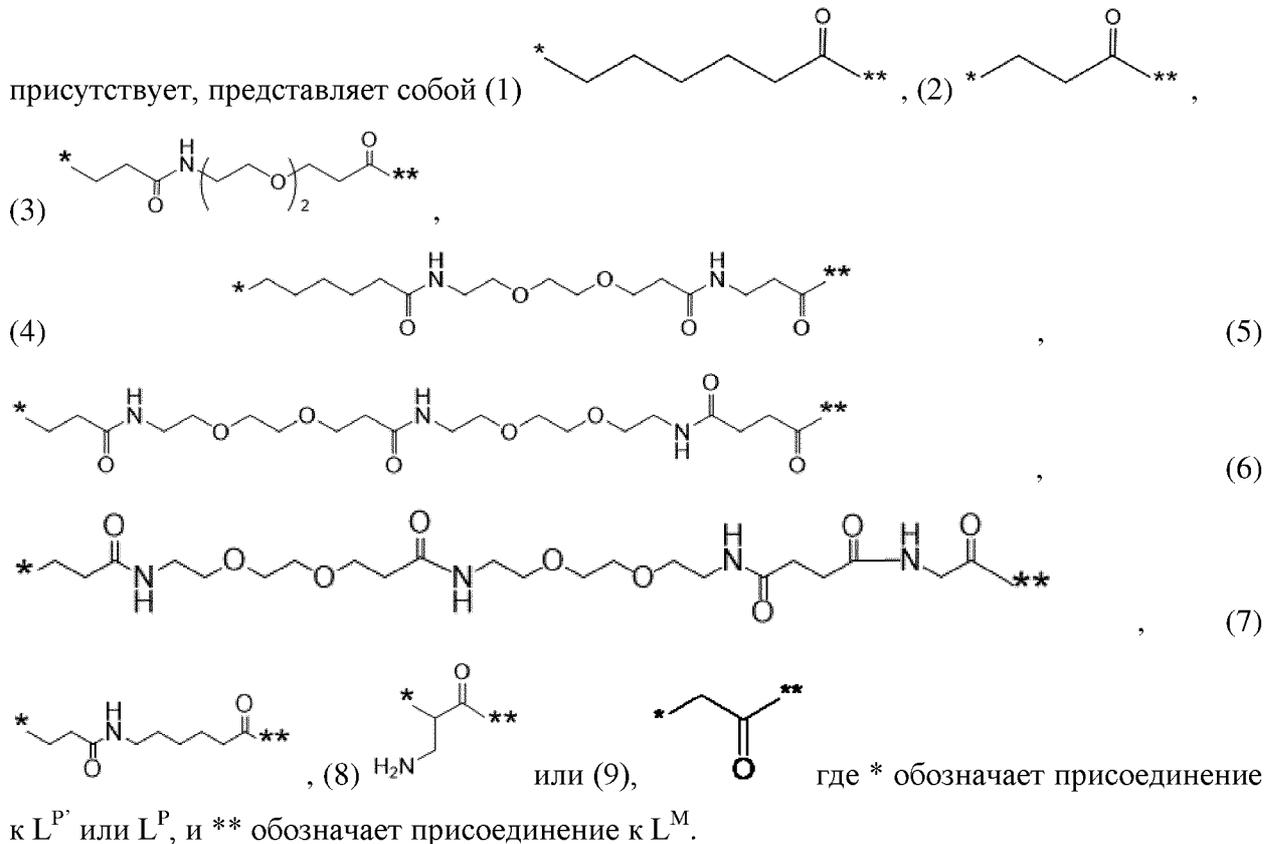
каждый b₁ независимо представляет собой целое число от 0 до 6;

e₁ представляет собой целое число от 0 до 8;

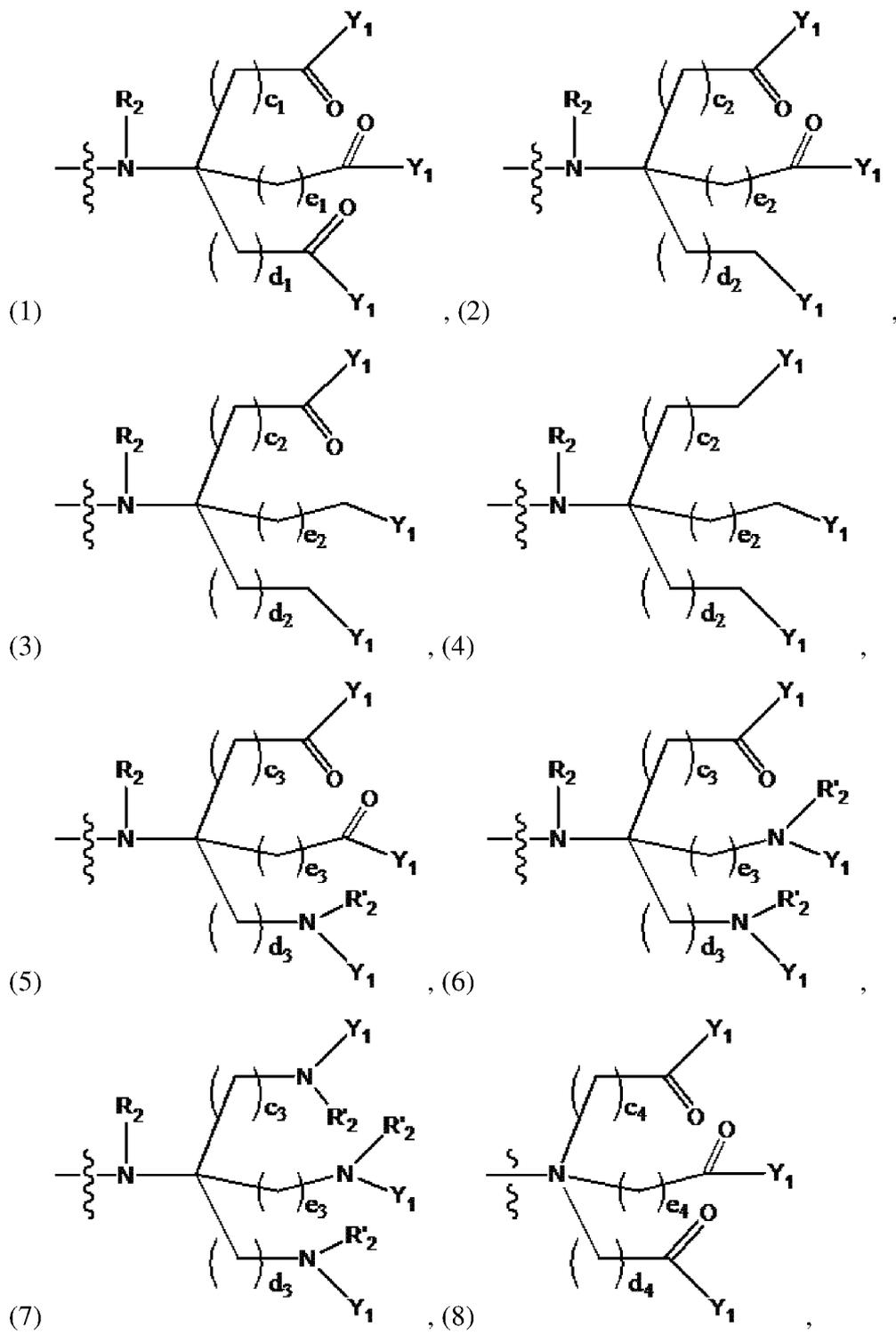
каждый f₁ независимо представляет собой целое число от 1 до 6; и

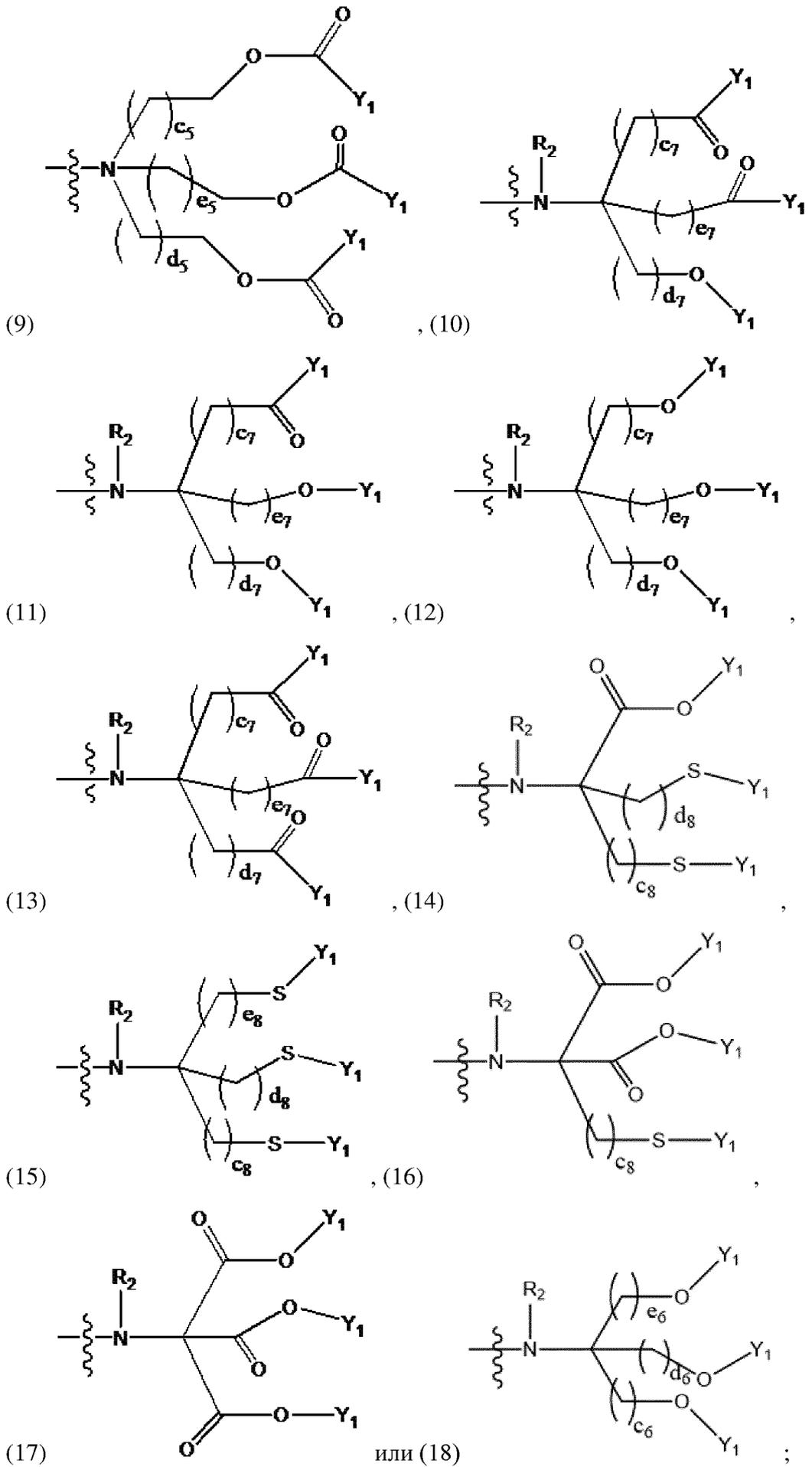
g₂ представляет собой целое число от 1 до 4.

29. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где M^P, если



30. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где a₂ равняется 3, и L^M представляет собой:





где:

 обозначает присоединение к M^P , если присутствует, или присоединение к L^P или L^P , если M^P отсутствует;

Y_1 обозначает присоединение к L^3 , если присутствует, или присоединение к M^A , если L^3 отсутствует;

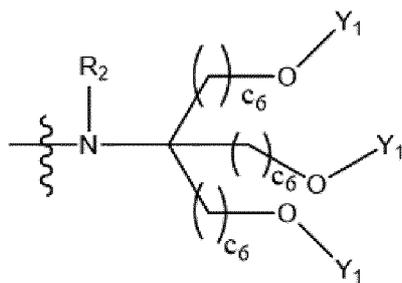
каждый R_2 и R'_2 независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_{1-6} алкил, необязательно замещенный C_{2-6} алкенил, необязательно замещенный C_{2-6} алкинил, необязательно замещенный разветвленный C_{3-19} алкил, необязательно замещенный C_{3-8} циклоалкил, необязательно замещенный C_{6-10} арил, необязательно замещенный гетероарил, необязательно замещенный C_{1-6} гетероалкил, C_{1-6} алкокси, арилокси, C_{1-6} гетероалкокси, C_{2-6} алканоил, необязательно замещенный арилкарбонил, C_{2-6} алкоксикарбонил, C_{2-6} алканоилокси, арилкарбонилокси, необязательно замещенный C_{2-6} алканоил, необязательно замещенный C_{2-6} алканоилокси, необязательно замещенный C_{2-6} алканоилокси, $-COOH$ или $-COO-C_{1-6}$ алкил;

каждый из $c_1, c_2, c_3, c_4, c_5, c_6, c_7$ и c_8 представляет собой целое число, независимо находящееся в диапазоне от 0 до 10;

каждый из $d_1, d_2, d_3, d_4, d_5, d_6, d_7$ и d_8 представляет собой целое число, независимо находящееся в диапазоне от 0 до 10; и

каждый из $e_1, e_2, e_3, e_4, e_5, e_6, e_7$ и e_8 представляет собой целое число, независимо находящееся в диапазоне от 0 до 10.

31. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где a_2 равняется 3, и



L^M представляет собой

32. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит по меньшей мере приблизительно пять аминокислот.

33. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит не более приблизительно десяти аминокислот.

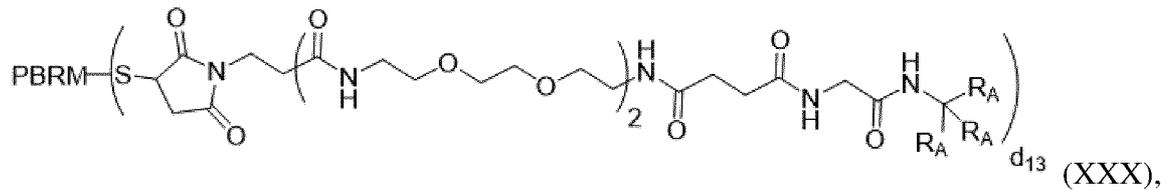
34. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит от трех до приблизительно десяти аминокислот, выбранных из глицина, серина, глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, лизина, цистеина и их комбинации.

35. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит по меньшей мере четыре глицина и по меньшей мере один серин.

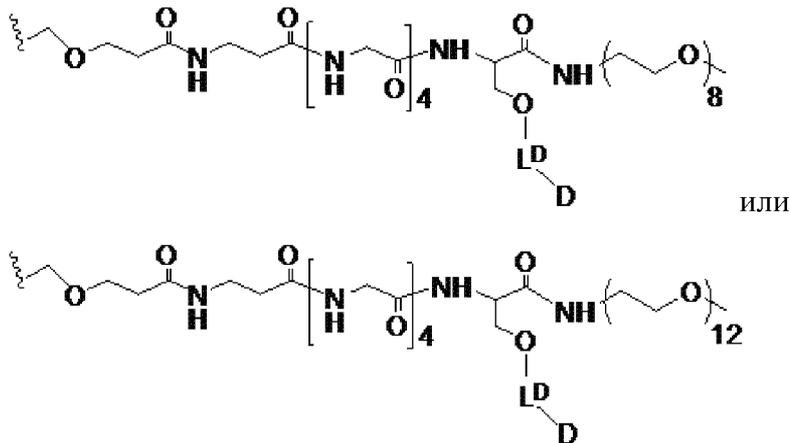
36. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит по меньшей мере четыре глицина и по меньшей мере одну глутаминовую кислоту.

37. Конъюгат или каркас по любому из предыдущих пунктов, где M^A содержит пептидный фрагмент, который содержит по меньшей мере четыре глицина, по меньшей мере один серин и по меньшей мере одну глутаминовую кислоту.

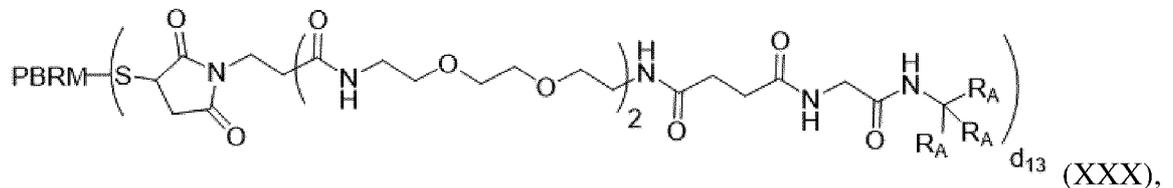
38. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, характеризующийся формулой (XXX):



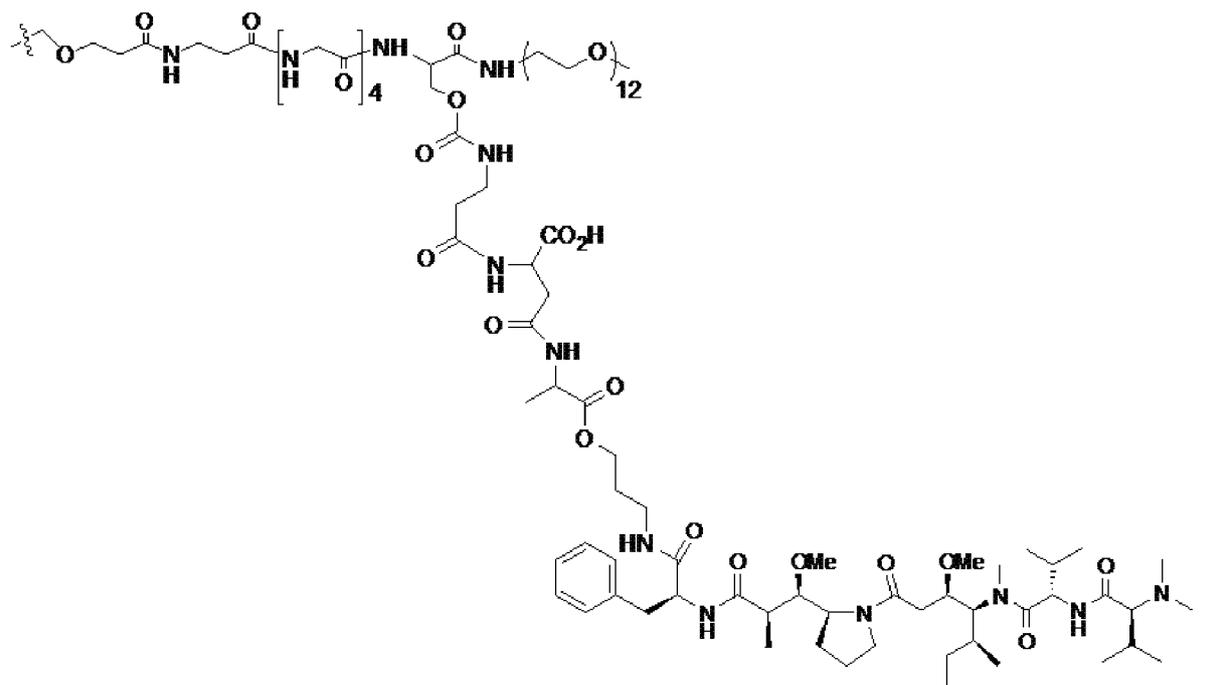
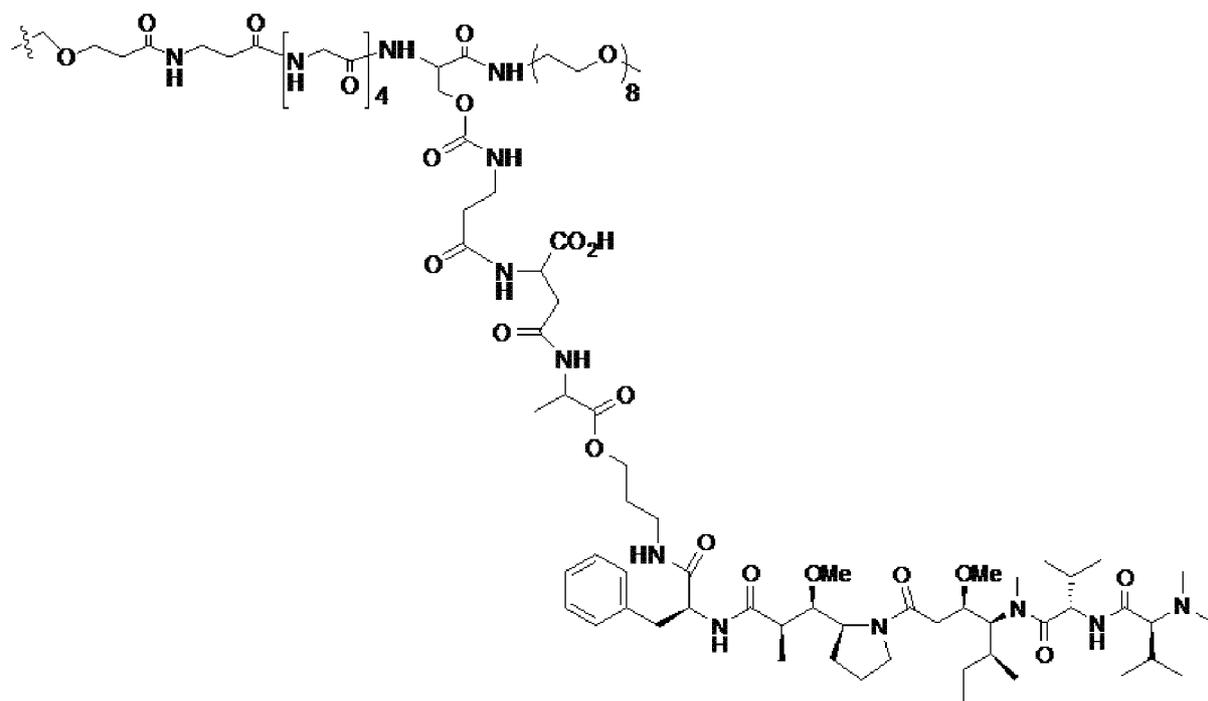
где каждый R_A представляет собой

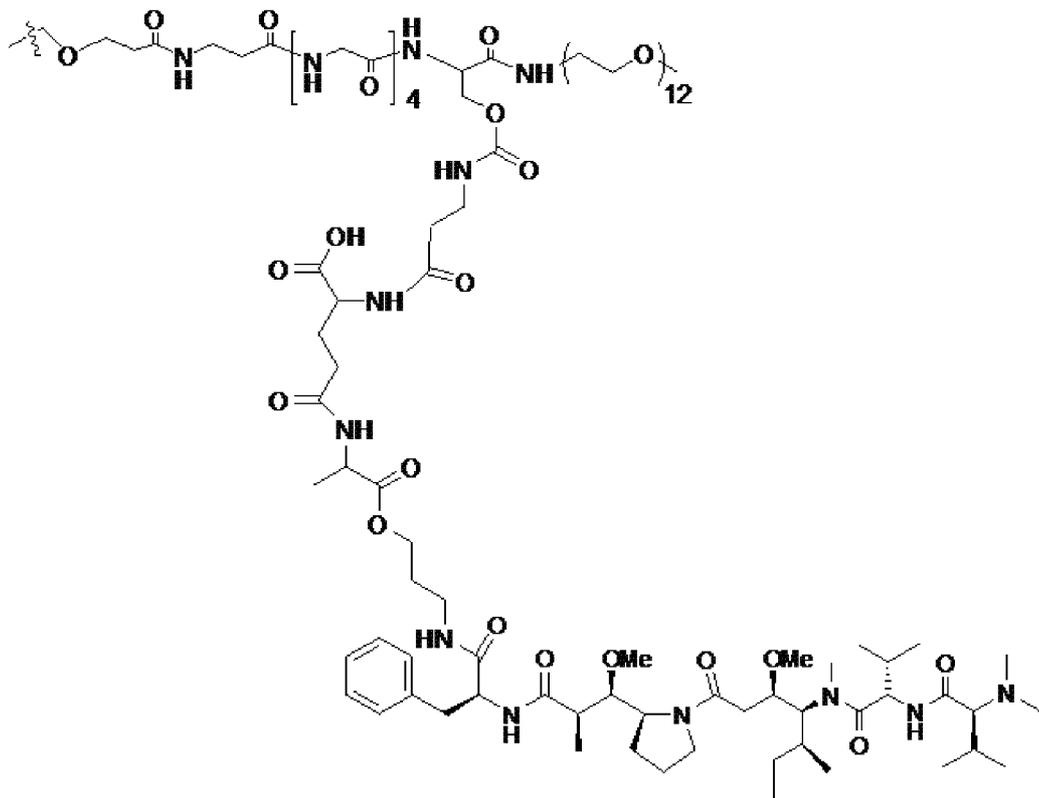
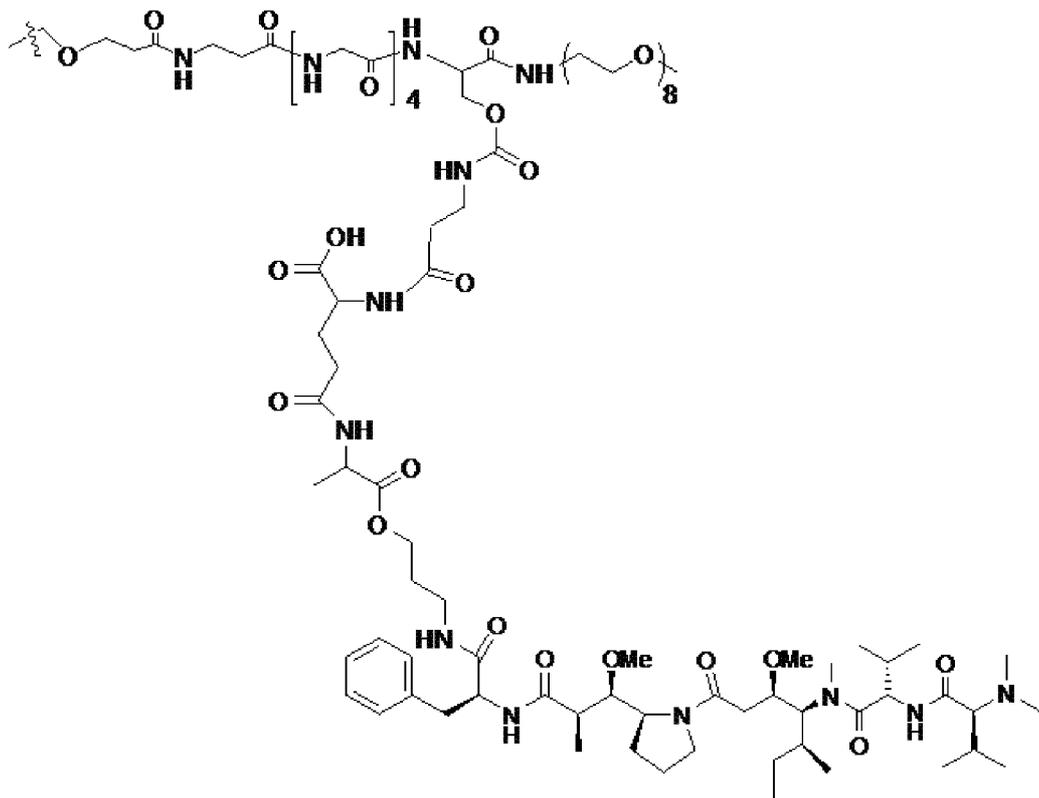


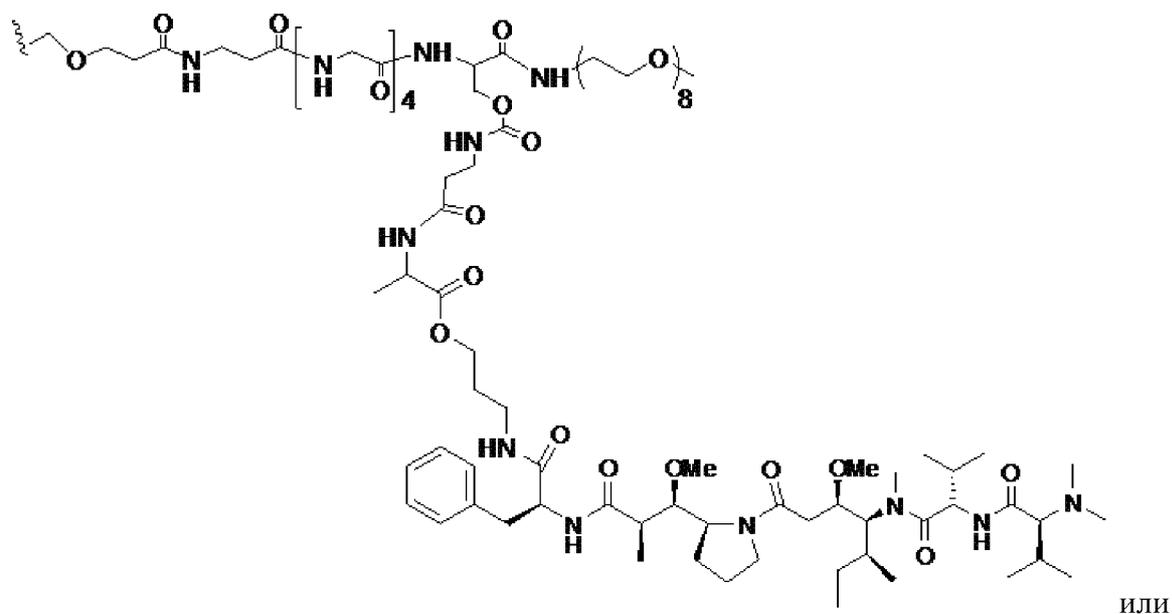
39. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, характеризующийся формулой (XXX):



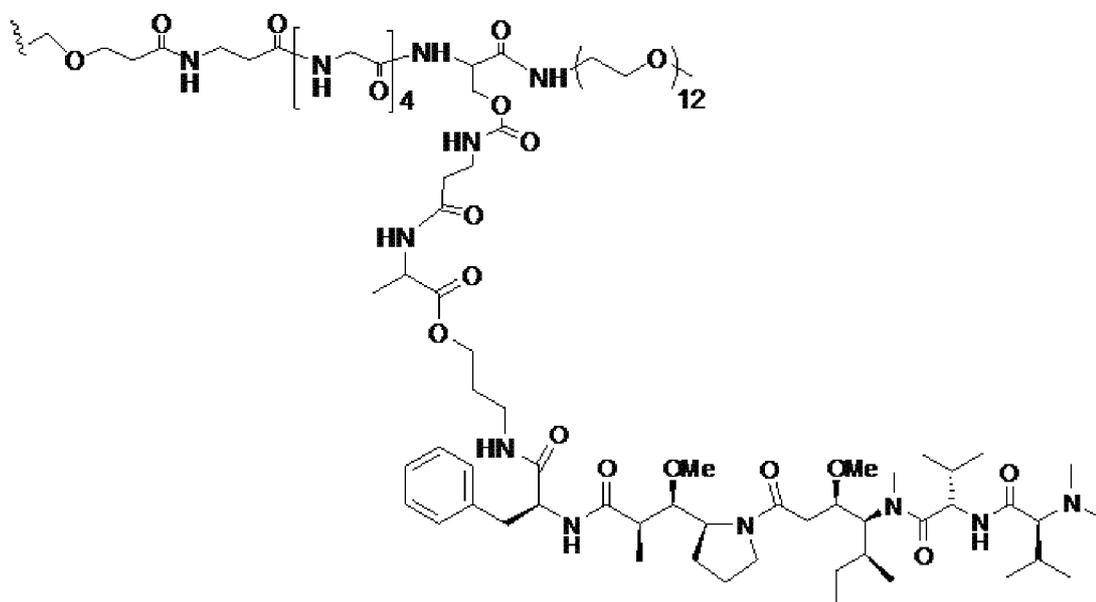
где каждый R_A представляет собой



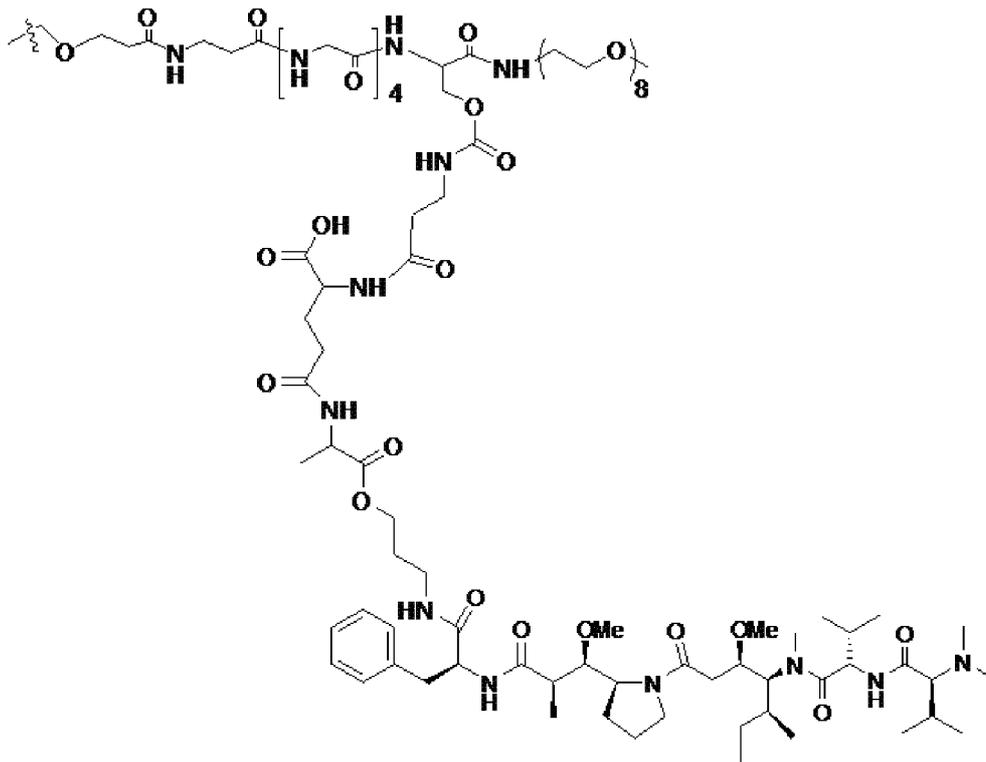




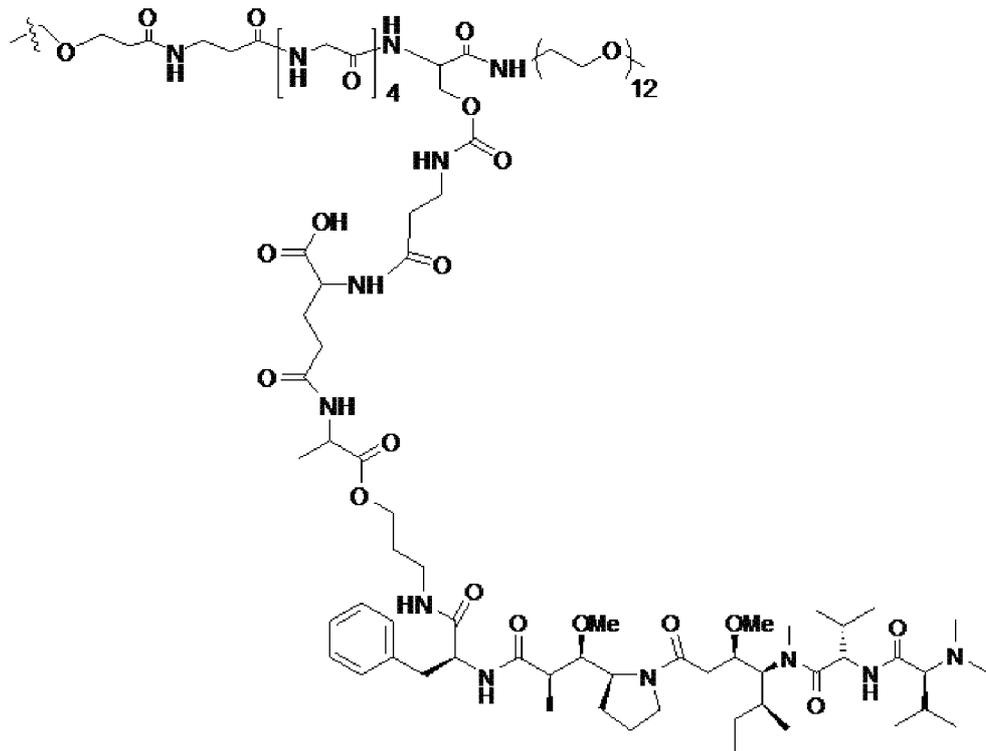
или



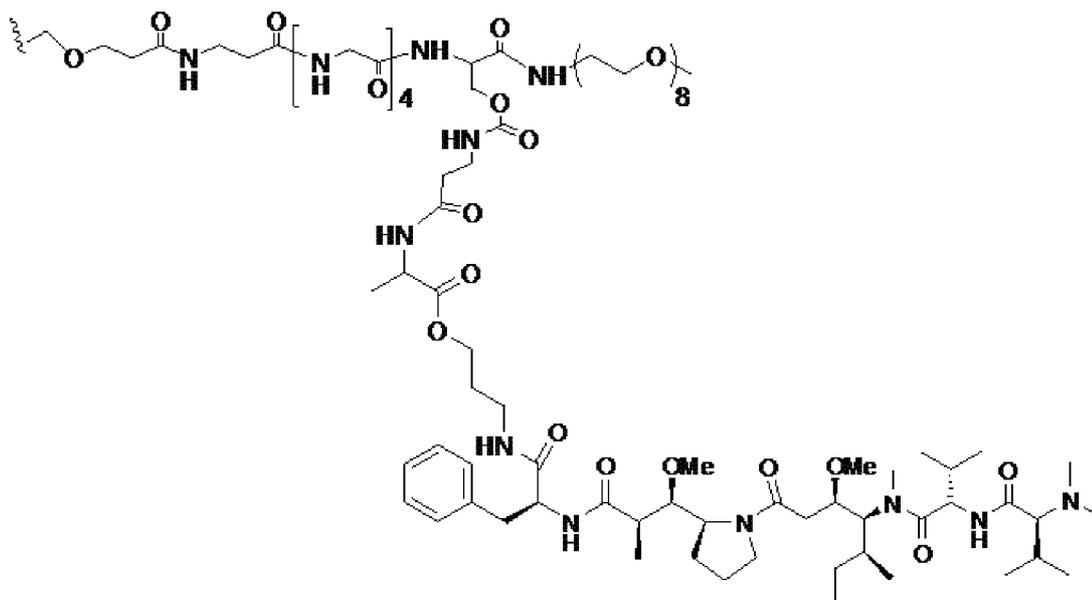
40. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, где каждый R_A представляет собой



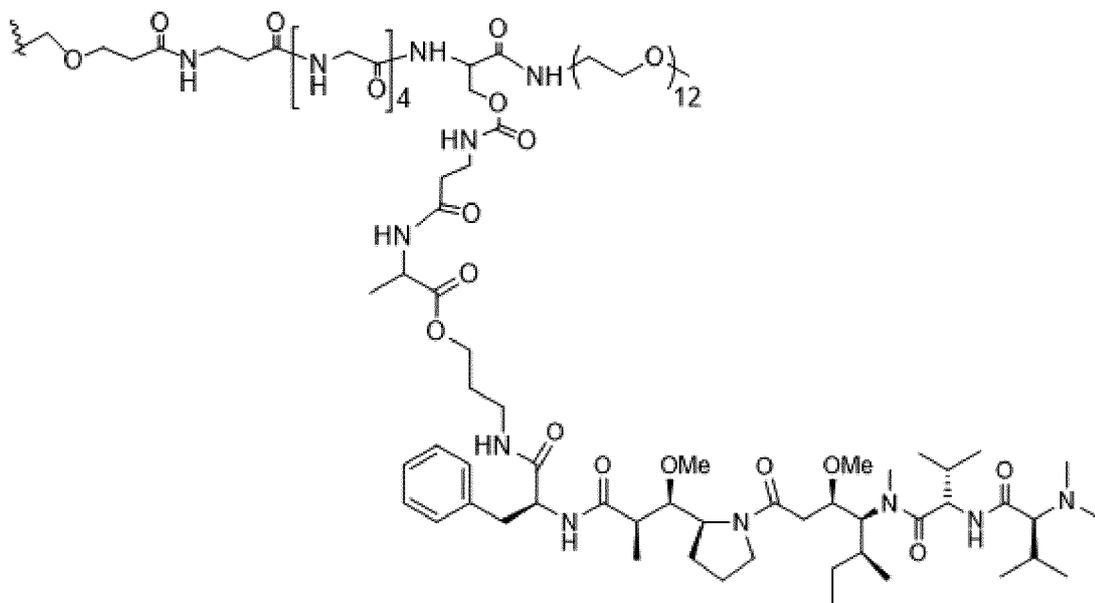
41. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, где каждый R_A представляет собой



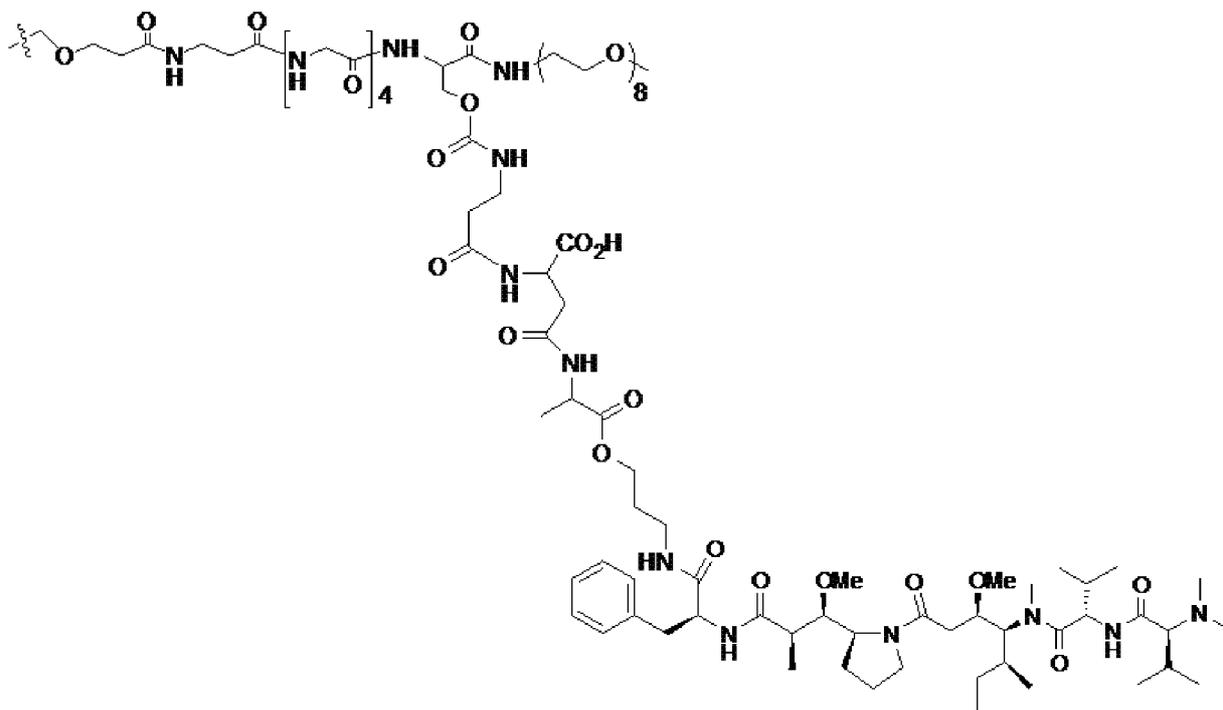
42. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, где каждый R_A представляет собой



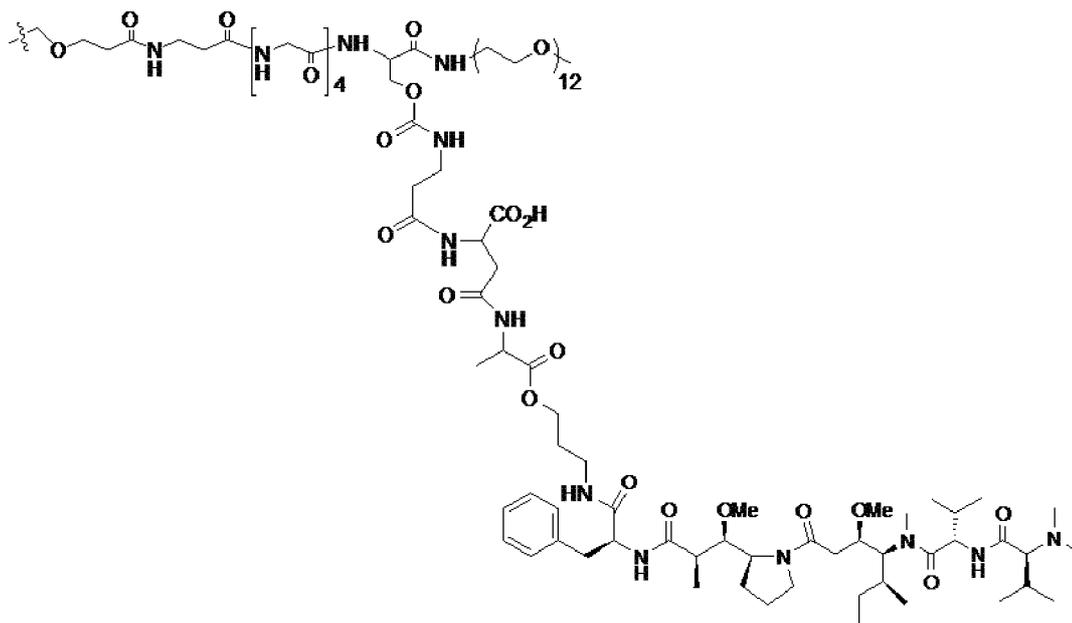
43. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, где каждый R_A представляет собой



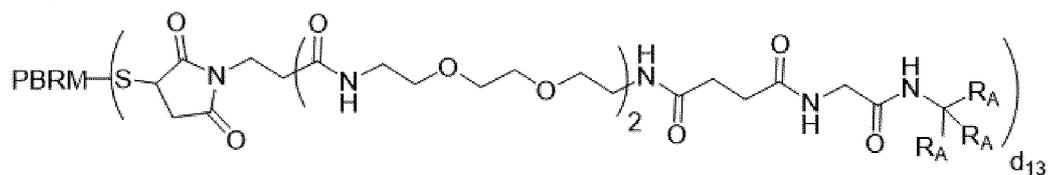
44. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, где каждый R_A представляет собой

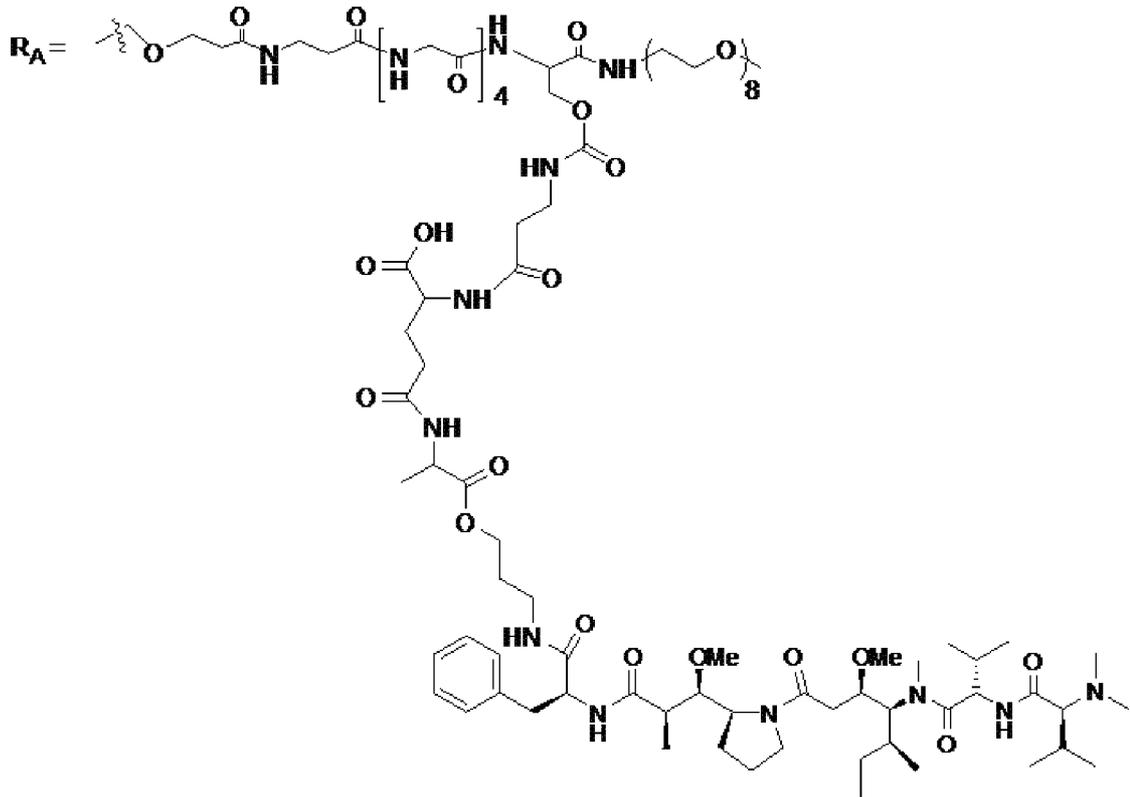


45. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, где каждый R_A представляет собой



46. Конъюгат по любому из предыдущих пунктов, характеризующийся формулой (XXXIII-5):





(XXXIII-5),

где PBRM представляет собой антитело или фрагмент антитела, содержащие V205C легкой цепи, и d_{13} представляет собой целое число от 1 до 2.

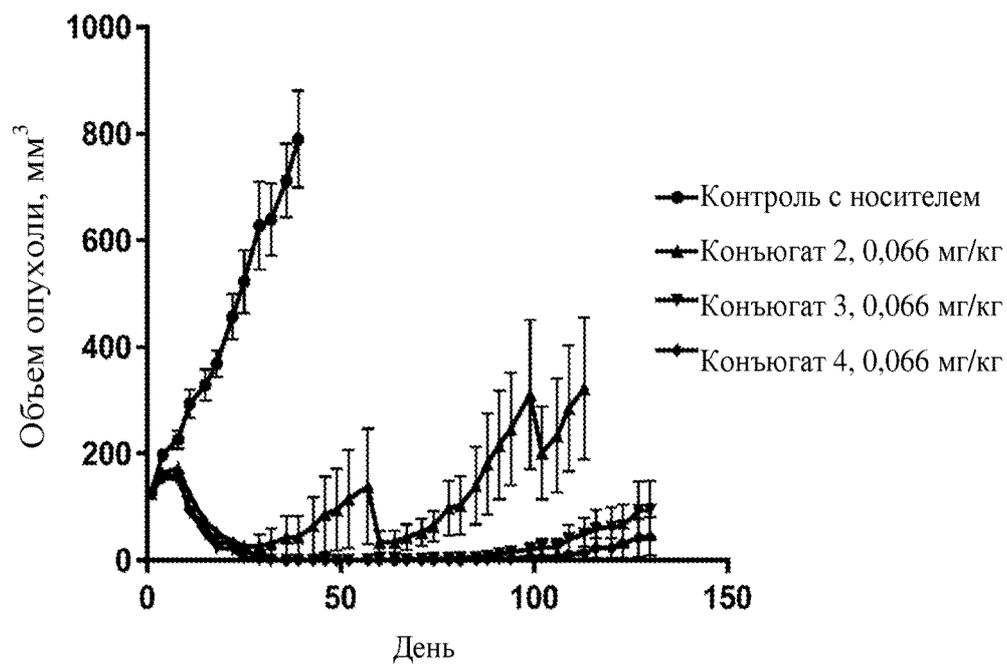
47. Фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат по любому из предыдущих пунктов и фармацевтически приемлемый носитель.

48. Способ лечения нарушения у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата по любому из предыдущих пунктов.

По доверенности

1/2

Фиг. 1



Фиг. 2

