

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202290928 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.06.16(22) Дата подачи заявки
2020.09.18(51) Int. Cl. A61K 47/65 (2017.01)
A61K 47/64 (2017.01)
A61K 47/68 (2017.01)
A61P 35/00 (2006.01)(54) СЕЛЕКТИВНОЕ ВЫСВОБОЖДЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ИЗ
ИНТЕРНАЛИЗИРОВАННЫХ КОНЬЮГАТОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ
СОЕДИНЕНИЙ

(31) 62/902,888

(32) 2019.09.19

(33) US

(86) PCT/US2020/051648

(87) WO 2021/055865 2021.03.25

(71) Заявитель:
СИДЖЕН ИНК. (US)(72) Изобретатель:
Биндман Ной, Окили Николь, Сентер
Питер, Авастхи Дивья (US)(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к конъюгатам биологически активных соединений, где такой конъюгат включает последовательность аминокислот, содержащую трипептид, который придает селективное расщепление гомогенатом опухолевой ткани для высвобождения свободного лекарственного средства и/или улучшает биодистрибуцию в опухолевой ткани по сравнению с гомогенатом нормальной ткани от того же вида, где нормальная ткань представляет собой место нежелательного явления, связанного с введением субъекту-человеку, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества сравнительного конъюгата, аминокислотная последовательность которого представляет собой дипептид, который известен как селективно расщепляемый Катепсином В.

A1

202290928

202290928

A1

**СЕЛЕКТИВНОЕ ВЫСВОБОЖДЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ИЗ
ИНТЕРНАЛИЗИРОВАННЫХ КОНЬЮГАТОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ
СОЕДИНЕНИЙ**

Перекрестная ссылка на родственную аязвку

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет согласно предварительной заявке США № 62/902888, поданной 19 сентября 2019 года, содержание которой включено в настоящую заявку посредством ссылки во всей полноте.

Предпосылки создания изобретения

[0002] Изобретение относится к соединениям, представляющим собой Конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство (LDC), и их композициям, включая Конъюгаты Антитело-Лекарственное средство (ADC), которые обладают улучшенной селективностью в отношении клеток-мишеней по сравнению с клетками, не являющимися мишенями.

[0003] Традиционные Конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство проявляют биологическую активность в отношении клеток-мишеней, которые демонстрируют целевую молекулу, распознаваемую Лигандным Компонентом Конъюгата, путем связывания с целевой молекулой и последующего проникновения в клетку путем интернализации связанного Конъюгата. Селективность в отношении клеток-мишеней по сравнению с клетками, не являющимися мишенями, в первую очередь достигается с использованием традиционного Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство в результате того, что целевая молекула присутствует в большем количестве на клетках-мишенях по сравнению с не являющимися мишенями нормальными клетками, которые представляют собой клетки, не предназначенные для воздействия на них Конъюгата. Когда на обусловленное высвобождение конъюгированного соединения, которое является цитотоксическим в свободной форме, влияет внутриклеточная протеаза, за интернализацией связанного конъюгата следует ферментативный процессинг Линкерного Компонента Конъюгата на основе пептида.

[0004] Уменьшение преждевременного высвобождения цитотоксического соединения, которое в противном случае вызывало бы нежелательные побочные эффекты, из традиционных Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство на основе дипептидов достигается за счет оптимизации селективности для специфической лизосомальной протеазы, которая, как считается, активируется в раковых клетках. Поскольку протеаза, ответственная за внутриклеточный процессинг традиционных Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, является общей для всех клеток, селективность в отношении клеток-мишеней в первую очередь обусловлена бóльшим присутствием целевой молекулы на клетках, на которые должен воздействовать Конъюгат, несмотря на различия в уровнях внутриклеточной активности процессирующей протеазы в раковых клетках-мишенях и нормальных клетках, не являющихся мишенями. Однако этот подход не учитывает возможные различия воздействия высвобождаемого цитотоксического соединения между

опухолью и нормальной тканью, которые в настоящее время используются Конъюгатами Лиганд-Лекарственное средство по настоящему изобретению.

[0005] Таким образом, дипептидные последовательности традиционных Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, которые были разработаны для селективного воздействия на них внутриклеточной протеазы с повышенной активностью в раковых клетках опухолевой ткани, по-прежнему способны подвергаться действию протеаз, присутствующих в нормальной ткани. Такое действие может происходить либо в микроокружении нормальной ткани, либо в клетках нормальной ткани после иммунологически специфического или неспецифического поглощения этими клетками, что приводит к целевой или нецелевой токсичности, соответственно. Эти токсичности представляют собой более острую проблему, которую необходимо решить для направленной доставки высокоцитотоксичных соединений. Поэтому считается, что Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство с улучшенной пептидной последовательностью, которая обеспечивает меньшее воздействие на нормальную ткань по сравнению с традиционными Конъюгатами Лиганд-Лекарственное средство на основе дипептидов и, следовательно, снижает воздействие высвобождаемого цитотоксического соединения, сохраняя при этом эффективность, обеспечиваемую этими традиционными конъюгатами, улучшит переносимость терапии.

[0006] Кроме того, считается, что Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство, имеющий улучшенную пептидную последовательность, которая более склонна к протеолизу опухолевой ткани, чем протеолизу нормальной ткани, по сравнению с протеолизом традиционного Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство на дипептидной основе этими тканями, также будет уменьшать подверженность действию высвободившегося цитотоксического соединения, что будет способствовать улучшению переносимости терапии. Определение этих протеолитических различий с использованием гомогенатов тканей должно фиксировать эти различия, обусловленные микроокружением этих тканей и/или последующей клеточной интернализацией.

[0007] Чтобы обеспечить решение этой проблемы в данной области техники, в настоящей заявке раскрыты Конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство, содержащие Линкерные Компоненты на основе пептидов, последовательности которых приводят к более селективному воздействию цитотоксического соединения, высвобождаемого из конъюгата, на клетки-мишени опухолевой ткани по сравнению с воздействием свободного цитотоксина на клетки нормальной ткани, таким образом, переносимость конъюгата улучшается при сохранении эффективности традиционных конъюгатов на основе дипептидов при лечении рака у субъекта-млекопитающего. Эта разница в воздействии может быть результатом большей селективности для протеолиза Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, содержащих придающие селективность пептидные последовательности, в опухолевой ткани, относительно протеолиза в нормальной ткани, по сравнению с протеолизом традиционного конъюгата на основе дипептида. Поскольку изменение пептидной последовательности может также повлиять на физико-химические

свойства соединения-конъюгата, может происходить большее воздействие за счет улучшенного биораспределения в опухолевой ткани, а не в нормальной ткани, и/или улучшенного распределения при распределении в этих тканях, что предпочтительно удерживает соединение-конъюгат в опухолевой ткани и/или или предпочтительно элиминирует соединение-конъюгат из нормальной ткани, соответственно. Эти эффекты биораспределения могут даже стать доминирующими факторами по сравнению с предпочтительным протеолизом, наблюдение которого *in vivo* может быть затруднительным.

[0008] Таким образом, соединения-конъюгаты, содержащие пептидные последовательности, обеспечивающие повышенное воздействие высвобождаемого свободного цитотоксического соединения на опухолевую ткань по сравнению с нормальной тканью, должны демонстрировать пониженную нежелательную токсичность из-за того, что пептидные последовательности в целом менее восприимчивы к протеолизу в нормальной ткани или ее клетках по сравнению с опухолевой тканью, и/или за счет улучшенных фармакокинетических свойств соединений-конъюгатов, включающих такие пептидные последовательности, для которых приоритетной является опухолевая ткань по сравнению с нормальной тканью.

[0009] Таким образом, Конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство по настоящему изобретению обладают двумя уровнями селективности в отношении клеток-мишеней по сравнению с нормальными клетками, не являющимися мишенями: (1) селективное проникновение в клетки-мишени и (2) пониженное воздействие соединения-конъюгата на нормальную ткань по сравнению с опухолевой тканью. Ожидается, что в соответствии с этим вторым уровнем селективности снижение токсичности для нормальных тканей обеспечит снижение нежелательных явлений, связанных с обычными таргетными терапиями.

Сущность изобретения

[0010] Один основной вариант осуществления изобретения обеспечивает композицию Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство формулы 1:



или соль вышеуказанного соединения, в частности фармацевтически приемлемая соль, где

L представляет собой Лигандный Компонент;

LU представляет собой Линкерный Компонент; и

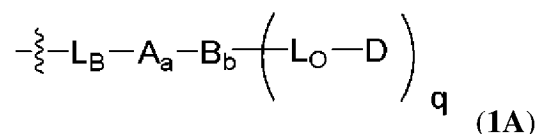
D' представляет собой от 1 до Лекарственных Единиц (D) в каждом фрагменте Лекарственное средство-Линкер формулы -LU-D'; и

нижний индекс p представляет собой число от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или имеет значение около 4 или около 8,

где Лигандный Компонент происходит из антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела, которое способно селективно связываться с антигеном опухолевой ткани для последующего высвобождения Лекарственного Компонента в виде свободного

цитотоксического соединения,

где фрагмент лекарственное средство-линкер формулы -LU-D' в каждом из соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, композиции имеет структуру формулы 1A:



или его соль, в частности фармацевтически приемлемая соль,

где волнистая линия указывает ковалентное присоединение к L;

D представляет собой Лекарственный Компонент, являющийся цитотоксическим соединением;

L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающийся с лигандом;

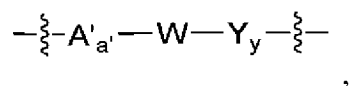
A представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент;

нижний индекс a имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A, соответственно;

B представляет собой необязательный Разветвляющийся Компонент;

нижний индекс b имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие B, соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, где вторичный линкер имеет формулу:



где волнистая линия смежная с Y указывает место ковалентного присоединения L_O к Лекарственному Компоненту, а волнистая линия смежная с A' указывает место ковалентного присоединения к остальной части фрагмента лекарственное средство-линкер;

A' представляет собой второй необязательный Удлиняющий Компонент, который в отсутствие B становится субъединицей A,

нижний индекс a' имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A', соответственно,

W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент, где Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой непрерывную последовательность до 12 (например, 3-12 или 3-10) аминокислот, где последовательность состоит из придающего селективность трипептида, который обеспечивает улучшенную селективность к воздействию на опухолевую ткань по сравнению с нормальной тканью для высвобождения цитотоксического соединения, высвобождаемого из соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство композиции, по сравнению с цитотоксическим соединением, высвобождаемым из соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство сравнительной композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное

средство, в которой пептидная последовательность ее Пептидного Расщепляемого Компонента представляет собой дипептид -валин-цитруллин- или -валин-аланин-;

где опухолевые и нормальные ткани происходят от вида грызунов, и где композиция формулы 1 обеспечивает указанную улучшенную селективность воздействия, которая продемонстрирована следующим:

сохранение эффективности в модели опухолевого ксенотрансплантата сравнительной композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство при введении при таком же эффективном количестве и схеме введения, как было определено ранее для сравнительной композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, и

продемонстрированное снижение концентрации в плазме свободного цитотоксического соединения, высвобожденного из соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство композиции, и/или сохранение нормальных клеток в ткани при введении при таком же эффективном количестве и схеме введения, как в модели опухолевого ксенотрансплантата, не имеющему опухоль грызуну по сравнению с эквивалентным (например, таким же) введением сравнительной композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, где Лигандные Компоненты обеих композиций конъюгатов заменены не связывающимся антителом,

где цитотоксичность для клеток в ткани человека того же типа, что и нормальные клетки в ткани не имеющего опухоль грызуна, ответственна, по меньшей мере частью, за нежелательное явление у субъекта-человека, которому вводят терапевтически эффективное количество сравнительной композиции конъюгатов;

Y представляет собой саморасщепляющийся Спейсерный Компонент; и

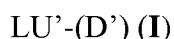
нижний индекс y имеет значение 0, 1 или 2, указывая на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно;

нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 4,

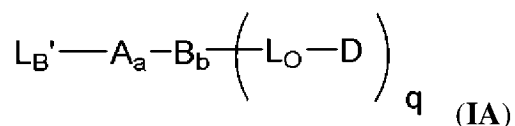
при условии, что нижний индекс q имеет значение 1, когда нижний индекс b имеет значение 0, и нижний индекс q имеет значение 2, 3 или 4, когда нижний индекс b имеет значение 1; и

где соединения-конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство композиции имеют структуру формулы 1, в которой нижний индекс p заменен нижним индексом p', где нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 12, от 1 до 10, или от 1 до 8, или равное 4 или 8.

[0011] Соответствующий основной вариант осуществления обеспечивает соединение Лекарственное средство-Линкер формулы I:



[0012] или его соль, в частности его фармацевтически приемлемую соль, где LU' способен обеспечивать ковалентную связь между L и LU формулы 1, и поэтому иногда указан как предшественник Линкерного Компонента; и D' представляет собой от 1 до 4 Лекарственных Единиц, где соединение Лекарственное средство-Линкер дополнительно определено структурой формулы IA:



[0013] где L_B' способен к преобразованию в L_B формулы **1A**, образуя таким образом ковалентную связь с L формулы **1**, и поэтому иногда указан как предшественник ковалентно связывающегося с лигандом фрагмента, и остальные переменные группы формулы **1A** имеют значение, определенное для формулы **1A**.

[0014] В некоторых вариантах осуществления обеспечивается композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, представленных формулой **1**:



или фармацевтически приемлемая соль вышеуказанного соединения, где

L представляет собой Лигандный Компонент;

LU представляет собой Линкерный Компонент;

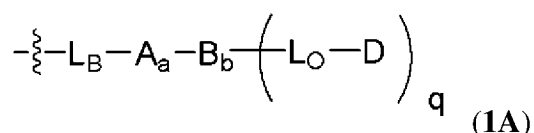
D' представляет собой от 1 до 4 Лекарственных Единиц (D) в каждом фрагменте лекарственное средство-линкер формулы

$-LU-D'$; и

нижний индекс p представляет собой число от 1 до 12, от 1 до 10, или от 1 до 8, или имеет значение около 4 или около 8,

где Лигандный Компонент происходит из антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела, которое способно селективно связываться с антигеном опухолевой ткани для последующего высвобождения Лекарственного Компонента(Лекарственных Единиц) в виде свободного лекарственного средства,

где фрагмент лекарственное средство-линкер формулы $-LU-D'$ в каждом из соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство композиции имеет структуру формулы **1A**:



или его соль, в частности фармацевтически приемлемая соль,

где волнистая линия указывает ковалентное присоединение к L ;

D представляет собой Лекарственный Компонент;

L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающийся с лигандом;

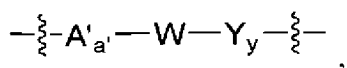
A представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент;

нижний индекс a имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A , соответственно;

B представляет собой необязательный Разветвляющийся Компонент;

нижний индекс b имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие B , соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, где вторичный линкер имеет формулу;



где волнистая линия смежная с Y указывает место ковалентного присоединения L₀ к Лекарственному Компоненту, а волнистая линия смежная с A' указывает место ковалентного присоединения к остальной части фрагмента лекарственное средство-линкер;

A' представляет собой второй необязательный Удлиняющий Компонент, который в отсутствие B становится субъективной A,

нижний индекс a' имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A', соответственно,

W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент, где Пептидный Расщепляемый Компонент включает трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где P1, P2 и P3 каждый представляет собой аминокислоту, где:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 отрицательно заряжена;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность меньше, чем у лейцина,

где первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2, или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, и третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последним оставшимся аминокислотам P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не является -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-;

Y представляет собой саморасщепляющийся Спейсерный Компонент;

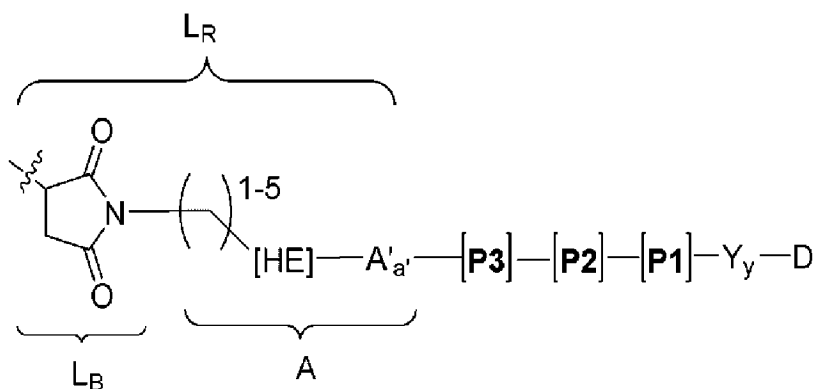
нижний индекс y имеет значение 0, 1 или 2, указывая на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно; и

нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 4,

при условии, что нижний индекс q имеет значение 1, когда нижний индекс b имеет значение 0, и нижний индекс q имеет значение 2, 3 или 4, когда нижний индекс b имеет значение 1; и

где соединения-конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство композиции имеют структуру формулы **1**, в которой нижний индекс p заменен нижним индексом p', где нижний индекс p' независимо представляет собой целое число от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или равное 4 или 8.

[0015] В некоторых вариантах осуществления обеспечивается композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство формулы **1**, где соединения-конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство преимущественно содержат фрагменты лекарственное средство-линкер формулы 1H:



(Формула 1H)

или их фармацевтически приемлемые соли, и при этом необязательно содержится небольшое количество соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, в которых один или несколько из фрагментов лекарственное средство-линкер в каждом из таких соединений имеет свое сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и где

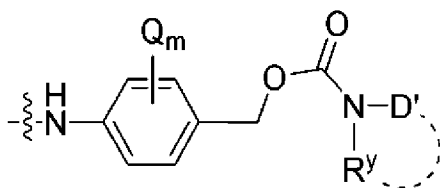
HE представляет собой Усиливающий Гидролиз Компонент;

A' представляет собой субъединицу, если присутствует, указанного первого Удлиняющего Компонента (A); нижний индекс a' имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A'; и

волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы лигандного компонента.

[0016] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любым из предшествующих вариантов осуществления, обеспечивается композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, где HE представляет собой $-(C=O)$.

[0017] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любым из предшествующих вариантов осуществления, обеспечивается композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, где $-Y_y-D$ имеет структуру:



где $-N(R^y)D'$ представляет собой D, где D' представляет собой остальную часть D;

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к P1;

пунктирная линия указывает необязательную циклизацию R^y с D' ;

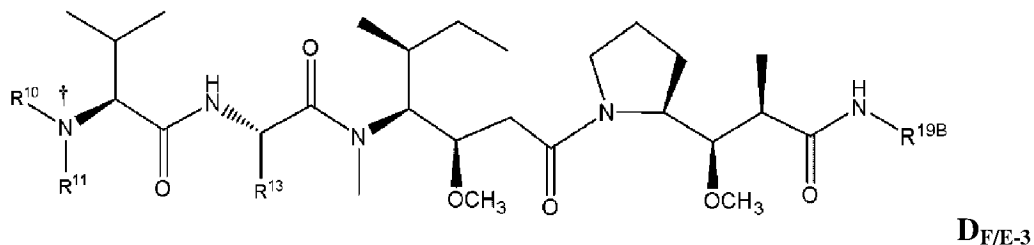
R^y представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил в отсутствие циклизации с D' или необязательно замещенный C_1-C_6 алкилен при циклизации с D' ;

каждый Q независимо выбран из группы, состоящей из $-C_1-C_8$ алкила, $-O-(C_1-C_8$ алкил), галогена, нитро и циано; и

нижний индекс m имеет значение 0, 1 или 2.

[0018] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любым из предшествующих вариантов осуществления, обеспечивается композиция

Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, где D представляет собой цитотоксическое лекарственное средство, где цитотоксическое лекарственное средство представляет собой содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение, где атом азота вторичного амина представляет собой место ковалентного присоединения к фрагменту лекарственное средство-линкер, и содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение имеет структуру формулы **D_{F/E}-3**:

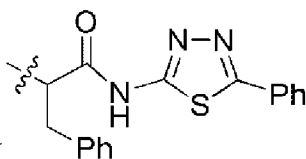


где крестик указывает место ковалентного присоединения атома азота, который образует карбаматную функциональную группу;

один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил;

R^{13} представляет собой изопропил или $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$; и

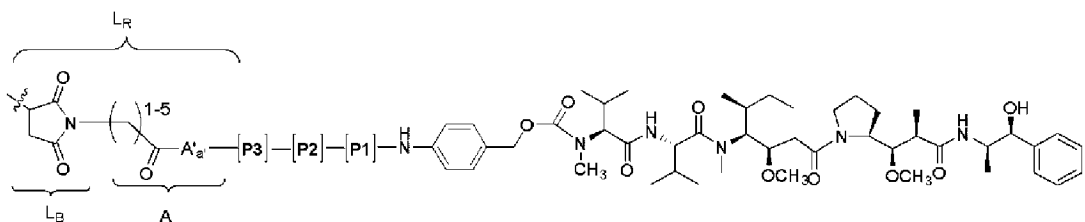
R^{19B} представляет собой $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{OH})-\text{Ph}$, $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})-2$ -тиазолил, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})-2$ -пиридил, $-\text{CH}(\text{CH}_2-p\text{-Cl-Ph})$, $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{Me})-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{Me})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3)\text{C}(=\text{O})\text{NH}$ -хинол-3-ил, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})\text{C}(=\text{O})\text{NH}-p\text{-Cl-Ph}$, или



R^{19B} имеет структуру , где волнистая линия указывает ковалентное присоединение к остальной части ауристатинового соединения.

[0019] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любым из предшествующих вариантов осуществления, обеспечивается композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, где содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение представляет собой монометилауристатин E (MMAE) или монометилауристатин F (MMAF).

[0020] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любым из предшествующих вариантов осуществления, обеспечивается композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, где нижний индекс q имеет значение 1, и соединения-конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство преимущественно содержат фрагменты лекарственное средство-линкер формулы 1H-MMAE:



(Формула 1H-ММАЕ)

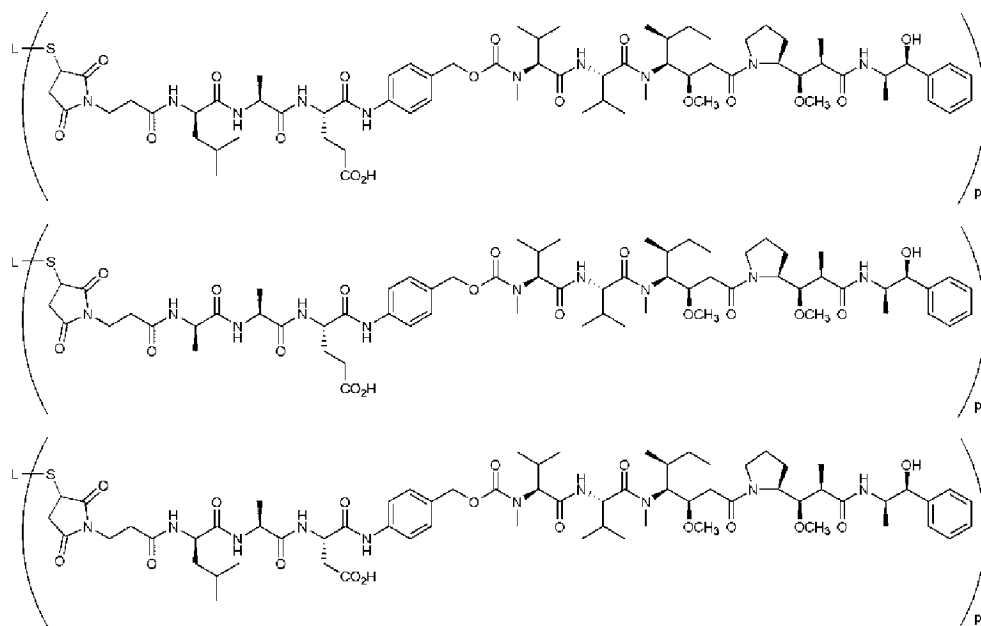
или его фармацевтически приемлемую соль, и при этом необязательно содержится небольшое количество соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, в которых один или несколько из фрагментов лекарственное средство-линкер в каждом из таких соединений имеет свое сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и где:

нижний индекс а' имеет значение 0, и А' отсутствует; и

волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы лигандного компонента.

[0021] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любым из предшествующих вариантов осуществления, обеспечивается композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, где Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где P1, P2 и P3 каждый представляет собой аминокислоту, где: P3 аминокислота трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации; одна из P2 и P1 аминокислота имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью меньше, чем у лейцина; а другая из P2 и P1 аминокислот отрицательно заряжена. В некоторых вариантах осуществления P3 аминокислота представляет собой D-Leu или D-Ala. В некоторых вариантах осуществления одна из P2 или P1 аминокислота имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у валина, а другая из P2 или P1 аминокислот отрицательно заряжена при физиологическом pH плазмы. В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у валина, а P1 аминокислота отрицательно заряжена при физиологическом pH плазмы. В некоторых вариантах осуществления -P2-P1- представляет собой -Ala-Glu- или -Ala-Asp-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-. В некоторых вариантах осуществления P3 аминокислота представляет собой D-Leu или D-Ala, P2 аминокислота представляет собой Ala, Glu или Asp, и P1 аминокислота представляет собой Ala, Glu или Asp.

[0022] В некоторых вариантах осуществления обеспечивается композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, где соединение имеет структуру:



или его фармацевтически приемлемая соль,

где L представляет собой Лигандный Компонент, и нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 24.

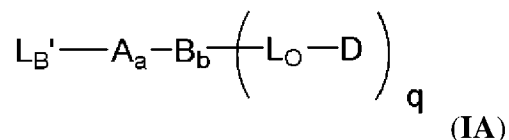
[0023] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любым из предшествующих вариантов осуществления, обеспечивается композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, где L представляет собой Лигандный Компонент, включающий антитело, представляющее собой интактное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело, или его фрагмент, способно селективно связываться с антигеном раковой клетки. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело представляет собой химерное, гуманизированное или человеческое антитело, где антитело способно селективно связываться с антигеном раковой клетки, или антитело представляет собой не связывающееся контрольное антитело, определяющее, таким образом, композицию не связывающихся контрольных конъюгатов.

[0024] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любым из предшествующих вариантов осуществления, обеспечивается композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, где нижний индекс p имеет значение от около 2 до около 12, или от около 2 до около 10, или от около 2 до около 8, в частности нижний индекс p имеет значение около 2, около 4 или около 8.

[0025] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любым из предшествующих вариантов осуществления, обеспечиваются фармацевтически приемлемые композиции, где композиция включает эффективное количество композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство или эквивалентное количество не связывающегося контрольного конъюгата, описанного в настоящей заявке, и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент представляет собой жидкий носитель, который обеспечивает жидкую композицию, где

жидкая композиция является подходящей для лиофилизации или введения субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых вариантах осуществления композиция представляет собой твердое вещество после лиофилизации или жидкую композицию, описанную в настоящей заявке, где по меньшей мере один эксципиент твердой композиции представляет собой лиопротектор.

[0026] В некоторых вариантах осуществления обеспечивается соединение Лекарственное средство-Линкер формулы **IA**:



или его соль, где

D представляет собой Лекарственный Компонент;

L_B' представляет собой предшественник ковалентно связывающегося с лигандом фрагмента;

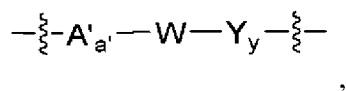
A представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент;

нижний индекс a имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A, соответственно;

B представляет собой необязательный Разветвляющийся Компонент;

нижний индекс b имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие B, соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, где вторичный линкер имеет формулу;



где волнистая линия смежная с Y указывает место ковалентного присоединения L_O к Лекарственному Компоненту, а волнистая линия смежная с A' указывает место ковалентного присоединения к остальной части соединения Лекарственное средство-Линкер;

A' представляет собой второй необязательный Удлиняющий Компонент, который в отсутствие B становится субъединицей A;

нижний индекс a' имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A', соответственно;

W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент, где Пептидный Расщепляемый Компонент включает трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где P1, P2 и P3 каждый представляет собой аминокислоту, где:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 отрицательно заряжена;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность меньше, чем у лейцина,

где первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, и третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последним оставшимся аминокислотам P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не является -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-;

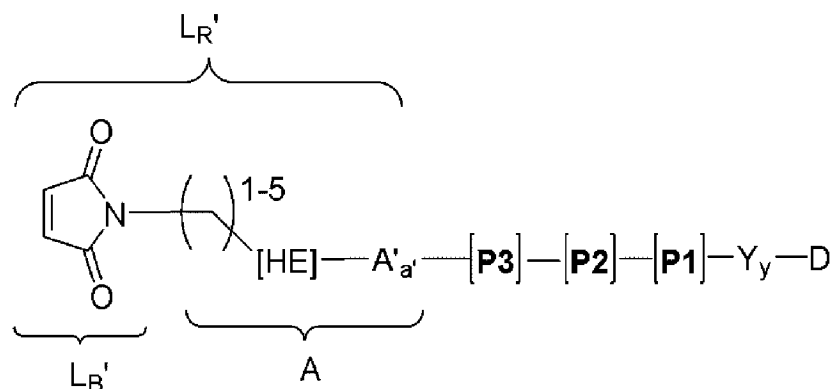
Y представляет собой саморасщепляющийся Спейсерный Компонент;

нижний индекс y имеет значение 0, 1 или 2, указывая на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно; и

нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 4,

при условии, что нижний индекс q имеет значение 1, когда нижний индекс b имеет значение 0, и нижний индекс q имеет значение 2, 3 или 4, когда нижний индекс b имеет значение 1.

[0027] В некоторых вариантах осуществления обеспечивается соединение Лекарственное средство-Линкер формулы **IA**, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру формулы **II**:



(Формула II)

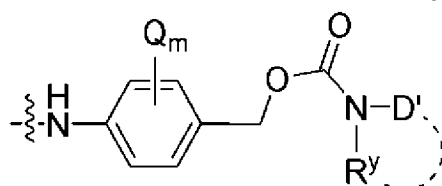
или его соль, где:

HE представляет собой Усиливающий Гидролиз Компонент; и

A' представляет собой субъединицу, если присутствует, указанного первого Удлиняющего Компонента (A); нижний индекс a' имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A'.

[0028] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любым из предшествующих вариантов осуществления, обеспечивается соединение Лекарственное средство-Линкер, где HE представляет собой -(C=O).

[0029] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любым из предшествующих вариантов осуществления, обеспечивается соединение Лекарственное средство-Линкер, где -Y_y-D имеет структуру:



где $-N(R^y)D'$ представляет собой D, где D' представляет собой остальную часть D;

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к P1;

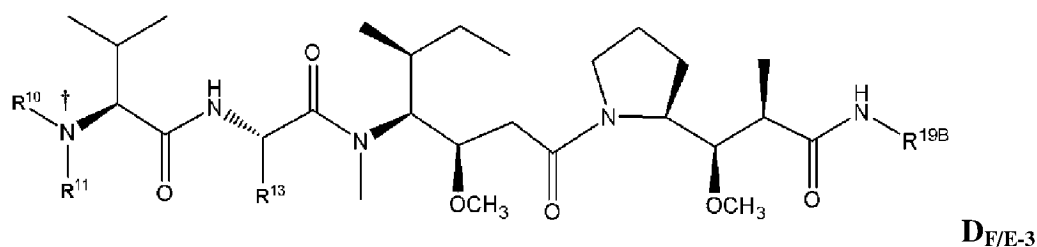
пунктирная линия указывает необязательную циклизацию R^y с D' ;

R^y представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил в отсутствие циклизации с D' или необязательно замещенный C_1-C_6 алкилен при циклизации с D' ;

каждый Q независимо выбран из группы, состоящей из $-C_1-C_8$ алкил, $-O-(C_1-C_8$ алкил), галогена, нитро и циано; и

нижний индекс m имеет значение 0, 1 или 2.

[0030] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любым из предшествующих вариантов осуществления, обеспечивается соединение Лекарственное средство-Линкер, где D представляет собой цитотоксическое лекарственное средство, где цитотоксическое лекарственное средство представляет собой содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение, где атом азота вторичного амина представляет собой место ковалентного присоединения к фрагменту лекарственное средство-линкер, и содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение имеет структуру формулы $D_{F/E-3}$:

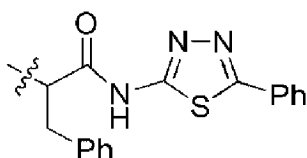


где крестик указывает место ковалентного присоединения атома азота, который образует карбаматную функциональную группу;

один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил;

R^{13} представляет собой изопропил или $-CH_2-CH(CH_3)_2$; и

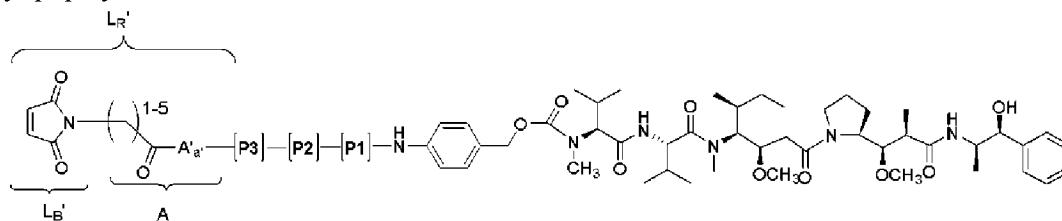
R^{19B} представляет собой $-CH(CH_3)-CH(OH)-Ph$, $-CH(CO_2H)-CH(OH)-CH_3$, $-CH(CO_2H)-CH_2Ph$, $-CH(CH_2Ph)-2$ -тиазолил, $-CH(CH_2Ph)-2$ -пиридил, $-CH(CH_2-p-Cl-Ph)$, $-CH(CO_2Me)-CH_2Ph$, $-CH(CO_2Me)-CH_2CH_2SCH_3$, $-CH(CH_2CH_2SCH_3)C(=O)NH$ -хинол-3-ил, $-CH(CH_2Ph)C(=O)NH-p-Cl-Ph$, или



R^{19B} имеет структуру , где волнистая линия указывает ковалентное присоединение к остальной части ауристатинового соединения.

[0031] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любым из предшествующих вариантов осуществления, обеспечивается соединение Лекарственное средство-Линкер, где содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение представляет собой монометилауристатин E (MMAE) или монометилауристатин F (MMAF).

[0032] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любым из предшествующих вариантов осуществления, обеспечивается соединение Лекарственное средство-Линкер, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру формулы ИИ-ММАЕ:



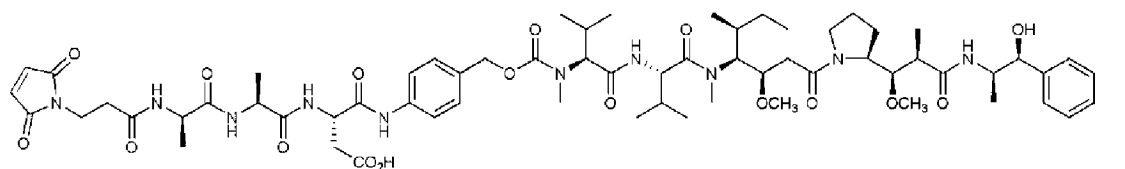
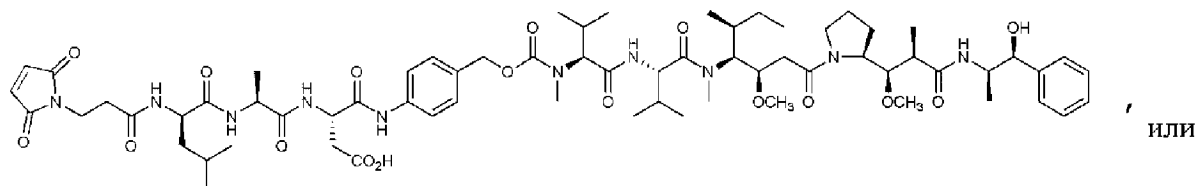
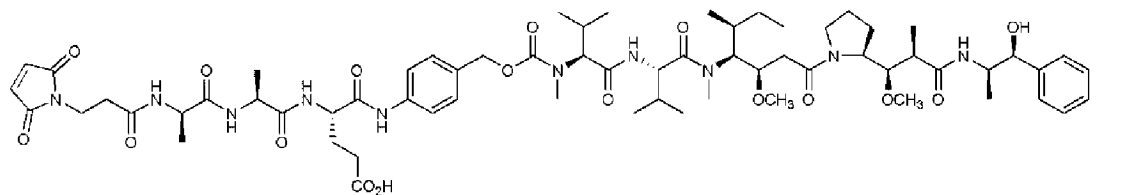
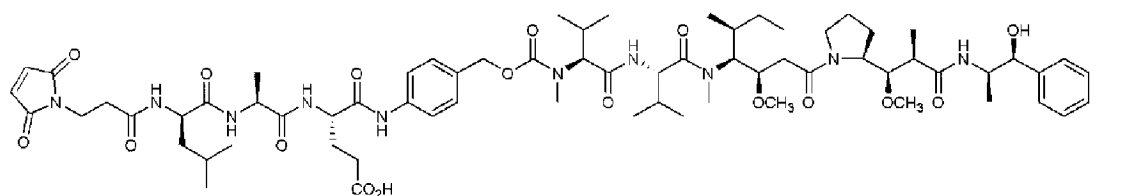
(Формула ИИ-ММАЕ)

или его соль, где

нижний индекс a' имеет значение 0, и A' отсутствует.

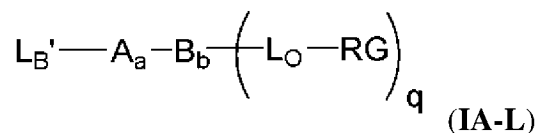
[0033] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любым из предшествующих вариантов осуществления, обеспечивается соединение Лекарственное средство-Линкер, где Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где P1, P2 и P3 каждый представляет собой аминокислоту, где: P3 аминокислота трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации; одна из P2 и P1 аминокислота имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью меньше, чем у лейцина; а другая из P2 и P1 аминокислот отрицательно заряжена. В некоторых вариантах осуществления P3 аминокислота представляет собой D-Leu или D-Ala. В некоторых вариантах осуществления одна из P2 или P1 аминокислота имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у валина, а другая из P2 или P1 аминокислот отрицательно заряжена при физиологическом pH плазмы. В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у валина, и P1 аминокислота отрицательно заряжена при физиологическом pH плазмы. В некоторых вариантах осуществления -P2-P1- представляет собой -Ala-Glu- или -Ala-Asp-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-. В некоторых вариантах осуществления P3 аминокислота представляет собой D-Leu или D-Ala, P2 аминокислота представляет собой Ala, Glu или Asp, и P1 аминокислота представляет собой Ala, Glu или Asp.

[0034] В некоторых вариантах осуществления обеспечивается соединение Лекарственное средство-Линкер, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру:



или его соль.

[0035] В некоторых вариантах осуществления обеспечивается линкерное соединение формулы **IA-L**:



или его соль, где

RG представляет собой реакционноспособную группу;

L_B' представляет собой предшественник ковалентно связывающегося с лигандом фрагмента;

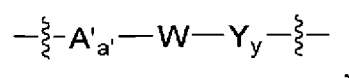
A представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент;

нижний индекс a имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A, соответственно;

B представляет собой необязательный Разветвляющийся Компонент;

нижний индекс b имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие B, соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, где вторичный линкер имеет формулу;



где волнистая линия смежная с Y указывает место ковалентного присоединения L_O к Лекарственному Компоненту, а волнистая линия смежная с A' указывает место

ковалентного присоединения к остальной части соединения Лекарственное средство-Линкер;

A' представляет собой второй необязательный Удлиняющий Компонент, который в отсутствие В становится субъединицей А;

нижний индекс а' имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A', соответственно,

W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент, где Пептидный Расщепляемый Компонент включает трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где P1, P2 и P3 каждый представляет собой аминокислоту, где:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 отрицательно заряжена;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность меньше, чем у лейцина,

где первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, и третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последним оставшимся аминокислотам P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не является -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-;

Y представляет собой саморасщепляющийся Спейсерный Компонент;

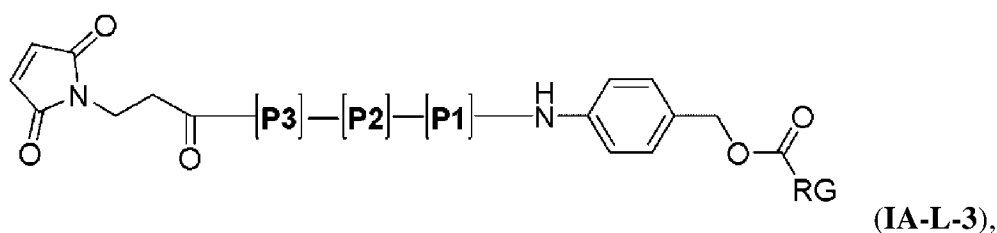
нижний индекс у имеет значение 0, 1 или 2, указывая на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно; и

нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 4,

при условии, что нижний индекс q имеет значение 1, когда нижний индекс b имеет значение 0, и нижний индекс q имеет значение 2, 3 или 4, когда нижний индекс b имеет значение 1.

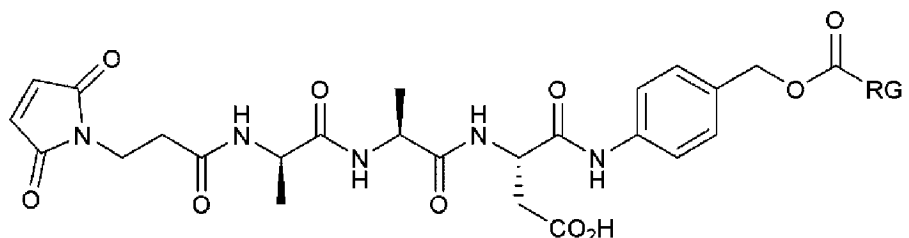
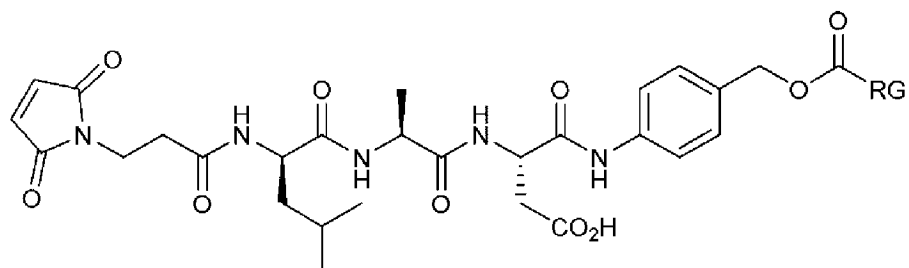
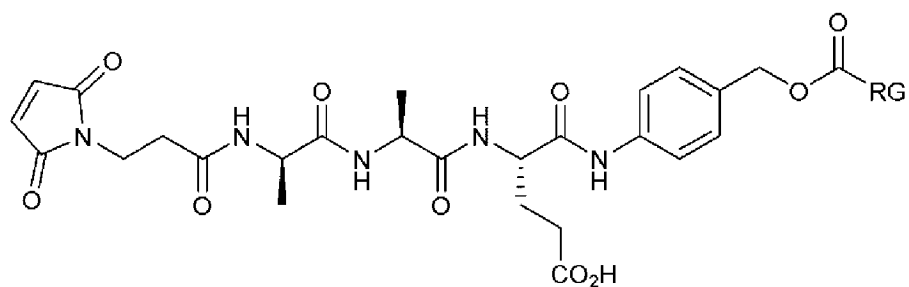
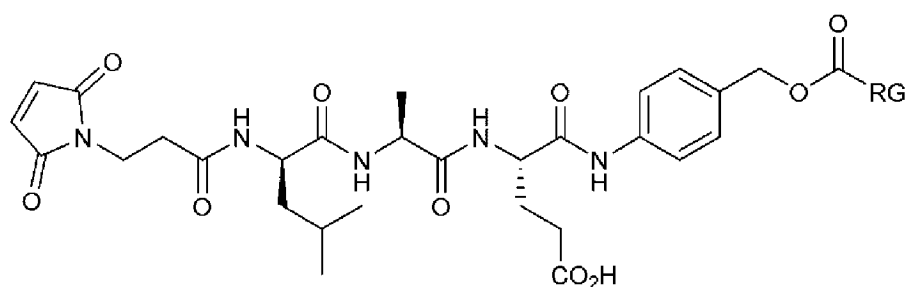
[0036] В некоторых вариантах осуществления обеспечивается линкерное соединение, где Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где P1, P2 и P3 каждый представляет собой аминокислоту, где: P3 аминокислота трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации; одна из P2 и P1 аминокислота имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью меньше, чем у лейцина; а другая из P2 и P1 аминокислот отрицательно заряжена.

[0037] В некоторых вариантах осуществления обеспечивается линкерное соединение, где линкерное соединение имеет структуру формулы **IA-L-3**:



или его соль.

[0038] В некоторых вариантах осуществления, обеспечивается линкерное соединение, где линкерное соединение имеет структуру:



или

или его соль.

[0039] Эти и другие варианты осуществления изобретения описаны более подробно в следующих разделах “Подробное описание изобретения” и “Формула изобретения”.

Краткое описание чертежей

[0040] Фиг. 1A, 1B, 1C, и 1D. Объем опухоли vs дни после имплантации в модели ксенотрансплантата при обработке рядом 4-нагруженных ADC, имеющих различные трипептидные последовательности в качестве Пептидного Расщепляемого Компонента с фрагментами Лекарственное средство-Линкер, представленными формулой $mp\text{-}P_3\text{-}P_2\text{-}P_1\text{-}PABC\text{-}MMAE$, при минимальных лечебных дозах в сравнении с минимальной лечебной дозой 4-нагруженного ADC, нацеленного на тот же антиген раковой клетки и имеющего фрагменты лекарственное средство-линкер, представленные формулой $mc\text{-}val\text{-}cit\text{-}PABC\text{-}MMAE$. Соединения на Фиг. 1A были испытаны при 4 мг/кг. Соединения на Фиг. 1B и Фиг. 1D были испытаны при 3 мг/кг. Соединения на Фиг. 1C были испытаны при 6 мг/кг.

[0041] Фиг. 2. Количество нейтрофилов через 4 дня после введения 10 мг/кг ряда 4-нагруженных не связывающихся контрольных конъюгатов, имеющих различные трипептидные последовательности в качестве Пептидного Расщепляемого Компонента с фрагментами Лекарственное средство-Линкер, представленными формулой $mp-P_3-P_2-P_1$ -PABC-MMAE, в сравнении с 4-нагруженными не связывающимися конъюгатами, содержащими фрагменты лекарственное средство-линкер, представленные формулой $mc-val-cit$ -PABC-MMAE или $mp-val-cit$ -PABC-MMAE.

[0042] Фиг. 3. Количество ретикулоцитов в плазме крыс через 4 дня после введения 10 мг/кг не имеющим опухоли животным ряда 4-нагруженных не связывающихся конъюгатов, имеющих различные трипептидные последовательности в качестве Пептидного Расщепляемого Компонента с фрагментами Лекарственное средство-Линкер, представленными формулой $of\ mp-P_3-P_2-P_1$ -PABC-MMAE, в сравнении с 4-нагруженными не связывающимися конъюгатами, имеющими фрагменты лекарственное средство-линкер, представленные формулой $mc-val-cit$ -PABC-MMAE или $mp-val-cit$ -PABC-MMAE.

[0043] Фиг. 4. Гистопатология костного мозга крысы через 4 дня после введения не имеющим опухоли животным носителя или 10 мг/кг 4-нагруженных не связывающихся конъюгатов, имеющих различные трипептидные последовательности в качестве Пептидного Расщепляемого Компонента, с фрагментами Лекарственное средство-Линкер, представленными формулой $mp-P_3-P_2-P_1$ -PABC-MMAE, в сравнении с 4-нагруженным не связывающимся конъюгатом, имеющим фрагменты лекарственное средство-линкер, представленные формулой $mc-val-cit$ -PABC-MMAE.

[0044] Фиг. 5А и 5В. Свободный MMAE в плазме крыс в различных временных точках после введения не имеющим опухоли животным носителя и 10 мг/кг 4-нагруженных не связывающихся конъюгатов, имеющих различные трипептидные последовательности в качестве Пептидного Расщепляемого Компонента, с фрагментами Лекарственное средство-Линкер, представленными формулой $mp-P_3-P_2-P_1$ -PABC-MMAE, в сравнении с 4-нагруженным не связывающимся конъюгатом, имеющим фрагменты лекарственное средство-линкер, представленные формулой $mc-val-cit$ -PABC-MMAE.

[0045] Фиг. 6А и 6В. Процент лекарственного средства, отщепленного от тяжелой цепи 4-нагруженных неселективно действующих конъюгатов, имеющих различные трипептидные последовательности в качестве Пептидного Расщепляемого Компонента, с фрагментами Лекарственное средство-Линкер, представленными формулой $mp-P_3-P_2-P_1$ -PABC-MMAE, в сравнении с 4-нагруженным неселективно действующим конъюгатом, имеющим фрагменты лекарственное средство-линкер, представленные формулой $mp-val-cit$ -PABC-MMAE, *in vitro* под действием нейтрофильной эластазы (Фиг. 6А) или Катепсина В (Фиг. 6В).

[0046] Фиг. 7, 8, и 9. Агрегация ряда 4-нагруженных неселективно действующих конъюгатов, имеющих различные трипептидные последовательности в качестве Пептидного Расщепляемого Компонента, с фрагментами Лекарственное средство-Линкер, представленными формулой $mp-P_3-P_2-P_1$ -PABC-MMAE, после 96-ч инкубации в плазме

крысы (Фиг. 7), плазме обезьяны (Фиг. 8) или плазме человека (Фиг. 9).

[0047] Фиг. 10. Агрегация неселективно действующих MMAF ADC в плазме крыс в различных временных точках.

[0048] Фиг. 11. Корреляция истощения ретикулоцитов неселективно действующими ADC у крыс и агрегации ADC в плазме крыс после 96-ч инкубации.

[0049] Фиг. 12. Корреляция истощения ретикулоцитов неселективно действующими ADC у крыс и агрегации ADC в плазме обезьян после 96-ч инкубации.

[0050] Фиг. 13. Корреляция истощения ретикулоцитов неселективно действующими ADC у крыс и агрегации ADC в плазме человека после 96-ч инкубации.

[0051] Фиг. 14. Концентрация антитела во внеклеточном компартменте костного мозга крыс после введения неселективно действующих ADC.

[0052] Фиг. 15. Количество свободного MMAE в клетках костного мозга крыс после введения неселективно действующих ADC.

[0053] Фиг. 16. Истощение ретикулоцитов в дни 5 и 8 после дозы неселективно действующих трипептидных ADC после введения крысам при 20 мг/кг.

[0054] Фиг. 17. Истощение нейтрофилов в дни 5 и 8 после дозы неселективно действующих трипептидных ADC после введения крысам при 20 мг/кг.

[0055] Фиг. 18. Гистология кости в дни 5 и 8 после дозы неселективно действующих трипептидных ADC после введения крысам при 20 мг/кг.

[0056] Фиг. 19. Корреляция между cLogP линкеров и агрегацией соответствующего h00 конъюгата в плазме крыс после 96-ч инкубации (выраженная как % HMW=% высокомолекулярных видов).

[0057] Фиг. 20. Корреляция между истощением ретикулоцитов у крыс, вызванным неселективно действующими ADC, и агрегацией ADC в плазме крыс после 96-ч инкубации (выраженная как % HMW=% высокомолекулярных видов).

[0058] Фиг. 21. Корреляция между истощением ретикулоцитов у крыс, вызванным неселективно действующими ADC, и агрегацией ADC в плазме человека после 96-ч инкубации (выраженная как % HMW=% высокомолекулярных видов).

[0059] Фиг. 22. Корреляция между истощением ретикулоцитов у крыс, вызванным неселективно действующими ADC, и агрегацией в плазме обезьян после 96-ч инкубации (выраженная как % HMW=% высокомолекулярных видов).

Подробное описание изобретения

[0060] Общая часть

[0061] Настоящее изобретение частично основано на неожиданном обнаружении того, что активность протеаз в опухолевой ткани существенно отличается от активности в нецелевой нормальной ткани, для обеспечения дополнительной селективности по отношению к раковым клеткам, на которые направлен Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство, имеющий протеаза-активируемую пептидную последовательность, для обусловленного высвобождения конъюгированного цитотоксического соединения. Это различие используется протеаза-расщепляемыми пептидными последовательностями,

раскрытыми в настоящей заявке, когда эти последовательности включены в пептидный расщепляемый Линкерный Компонент соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство. Считается, что последовательности, обладающие этим свойством, в некоторых случаях обеспечивают соединения-конъюгаты, для биораспределения и/или чувствительности которых к протеолизу для высвобождения свободного цитотоксического соединения предпочтительной является опухолевая ткань по сравнению с нормальной тканью.

[0062] 1. Определения

[0063] Если иное не указано или не подразумевается контекстом, используемые в настоящей заявке термины имеют значения, определенные ниже. Если нет противоречия или не подразумевается иное, например, путем включения взаимоисключающих элементов или вариантов, в этих определениях и повсеместно в описании, артикли «a» и «an», означают один или несколько, а термин «или» означает и/или, где это допускает контекст. Таким образом, как представлено в описании и прилагаемой формуле изобретения, формы единственного числа «a», «an» и «the» включают ссылки на множественное число, если из контекста явно не следует иное.

[0064] В различных местах настоящего описания, например, в любых раскрытых вариантах осуществления или в формуле изобретения, делается ссылка на соединения, композиции или способы, которые «включают» один или несколько указанных компонентов, элементов или стадий. Варианты осуществления изобретения также конкретно включают те соединения, композиции, композиции или способы, которые представляют собой, или состоят из, или состоят по существу из указанных компонентов, элементов или стадий. Термин «состоящий из» используется взаимозаменяемо с термином «включающий» и указывается как эквивалентный термин. Например, раскрытые композиции, устройства, изделия или способы, которые «включают» компонент или стадию, являются открытыми, и они включают или охватывают эти композиции или способы плюс дополнительный компонент(компоненты) или стадия(стадии). Однако эти термины не охватывают неуказанные элементы, которые нарушили бы функциональность раскрытых композиций, устройств, изделий или способов по их прямому назначению. Точно так же раскрытые композиции, устройства, изделия или способы, которые «состоят из» компонента или стадии, закрыты, и они не будут включать или охватывать те композиции или способы, которые содержат значительные количества дополнительного компонента (компонентов) или дополнительную стадию(стадии). Кроме того, термин «состоящий по существу из» допускает включение неуказанных элементов, которые не оказывают существенного влияния на функциональность раскрытых композиций, устройств, изделий или способов по их прямому назначению, как дополнительно определено в настоящей заявке. Заголовки разделов, используемые в настоящей заявке, предназначены только для организационных целей и не должны толковаться как ограничивающие описываемое изобретение. Если не указано иное, используются обычные методы масс-спектропии, ЯМР, ВЭЖХ, белковой химии, биохимии, рекомбинантной

ДНК и фармакологии.

[0065] Термин «около» используется в настоящей заявке, если иное не указано или не подразумевается из контекста, в связи с числовым значением или диапазоном значений для описания конкретного свойства соединения или композиции, указывает на то, что значение или диапазон значения могут отклоняться до степени, которая считается разумной для специалиста в данной области техники, при этом описывая конкретное свойство. Разумные отклонения включают такие, которые находятся в пределах точности или прецизионности инструмента(инструментов), используемого для измерения, определения или получения определенного свойства. В частности, термин «около», когда он используется в данном контексте, указывает, что числовое значение или диапазон значений могут варьироваться на 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,9%, 0,8%, 0,7%, 0,6%, 0,5%, 0,4%, 0,3%, 0,2%, 0,1% или 0,01% от указанного значения или диапазона значений, типично на 10%-0,5%, более типично на 5%-1%, при этом описывая конкретное свойство.

[0066] Что касается нижнего индекса p , который обозначает среднее количество фрагментов линкер-лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, как определено далее в настоящей заявке, термин «около» отражает принятую в данной области неопределенность для определения этого значения из распределения соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство в этой композиции, как определено стандартными методами эксклюзионной хроматографии, НИС-хроматографии или ВЭЖХ-МС.

[0067] «Существенно сохраняет», «существенно сохраняющий» и подобные термины, используемые в настоящей заявке, если иное не указано или не подразумевается из контекста, относится к свойству, характеристике, функции или активности соединения, или композиции, или ее части, которые не претерпели обнаруживаемого изменения или находится в пределах экспериментальной ошибки определения той же самой активности, характеристики или свойства соединения, композиции или фрагмента родственной структуры.

[0068] «По существу сохраняет», «по существу сохраняющий» и подобные термины, используемые в настоящей заявке, если иное не указано или не подразумевается из контекста, относится к измеренному значению физического свойства или характеристики соединения, или композиции, или ее фрагмента, которые могут статистически отличаться от определения того же физического свойства другого соединения, композиции или фрагмента родственной структуры, но такое различие не приводит к статистически значимому или значимому различию в биологической активности или фармакологическом свойстве в подходящей биологической тест-системе для оценки этой активности или свойства (т.е. биологическая активность или свойство сохраняются или по существу сохраняются). Таким образом, фраза «по существу сохраняет» относится к эффекту, который физическое свойство или характеристика соединения или композиции оказывает на физико-химическое или фармакологическое

свойство или биологическую активность, которая явно связана с этим физическим свойством или характеристикой.

[0069] «Незначительно», «незначительный» и подобные термины, используемые в настоящей заявке, если иное не указано или не подразумевается контекстом, представляет собой количество примеси ниже уровня количественного определения анализом ВЭЖХ. В зависимости от контекста эти термины могут альтернативно означать, что между измеренными значениями или результатами не наблюдается статистически значимой разницы, или они находятся в пределах экспериментальной погрешности приборов, используемых для получения этих значений. Незначительные различия в значениях параметра, определенных экспериментально, не означают, что примесь, характеризующаяся этим параметром, присутствует в незначительном количестве.

[0070] «Преимущественно содержащий», «преимущественно имеющий» и подобные термины, используемые в настоящей заявке, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к основному компоненту смеси. Когда смесь состоит из двух компонентов, то основной компонент составляет более 50% по массе смеси. В смеси из трех или более компонентов преобладающим компонентом является тот, который присутствует в смеси в наибольшем количестве и может составлять или не составлять большую часть массы смеси.

[0071] «Электроноакцепторная группа», как этот термин используется в настоящей заявке, если не указано иное или не подразумевается контекстом, относится к функциональной группе или электроотрицательному атому, который оттягивает электронную плотность от атома, с которым он связан либо индуктивно, либо через резонанс, в зависимости от того, что преобладает (т.е. функциональная группа или атом могут быть электронодонорными через резонанс, но в целом быть электроноакцепторными индуктивно) и имеет тенденцию стабилизировать анионы или фрагменты богатые электронами. Электроноакцепторный эффект обычно передается индуктивно, хотя и в ослабленной форме, другим атомам, присоединенным к связанному атому, который стал электронодефицитным из-за электроноакцепторной группы (EWG), тем самым уменьшая электронную плотность более удаленного реакционноспособного центра.

[0072] Электроноакцепторная группа (EWG) типично выбрана из группы, состоящей из $-C(=O)R'$, $-CN$, $-NO_2$, $-CX_3$, $-X$, $-C(=O)OR'$, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)N(R')R^{op}$, $-C(=O)R'$, $-C(=O)X$, $-S(=O)_2R^{op}$, $-S(=O)_2OR'$, $-SO_3H_2$, $-S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2N(R')R^{op}$, $-PO_3H_2$, $-P(=O)(OR')(OR^{op})_2$, $-NO$, $-NH_2$, $-N(R')(R^{op})$, $-N(R^{op})_3^+$ и их солей, где X представляет собой $-F$, $-Br$, $-Cl$ или $-I$, R^{op} в каждом случае независимо выбран из группы, описанной выше для необязательных заместителей, и R' представляет собой $-H$ или R^{op} , где R^{op} имеет значение, определенное выше. В некоторых аспектах каждый R^{op} независимо представляет собой C_1 - C_{12} алкил, C_1 - C_8 алкил, C_1 - C_6 алкил или C_1 - C_4 алкил, или независимо выбран из группы, состоящей из C_1 - C_6 алкила и необязательно замещенного фенила, и R' представляет собой водород. EWG также может представлять собой арил (например, фенил) или гетероарил, в

зависимости от его замещения, и определенные электрон-дефицитные гетероарильные группы (например, пиридил). Таким образом, в некоторых аспектах “электроноакцепторная группа” также охватывает электрон-дефицитные C_5 - C_{24} гетероарилы и C_6 - C_{24} арилы, которые замещены электроноакцепторными заместителями. Более типично, электроноакцепторная группа независимо выбрана из группы, состоящей из $-C(=O)R'$, $-CN$, $-NO_2$, $-CX_3$ и $-X$, где X представляет собой галоген, типично из группы, состоящей из $-F$ и $-Cl$, и R' представляет собой H , C_1 - C_6 алкил или C_1 - C_4 алкил. В зависимости от его заместителей необязательно замещенный алкильный фрагмент также может представлять собой электроноакцепторную группу, и, следовательно, в таких случаях эти аспекты будут охватываться термином для электроноакцепторной группы.

[0073] Термин «электронодонорная группа», используемый в настоящей заявке, если не указано иное или не подразумевается из контекста, относится к функциональной группе или электроположительному атому, который увеличивает электронную плотность атома, с которым он связан либо индуктивно, либо через резонанс, в зависимости от того, что преобладает (т.е. функциональная группа или атом могут индуктивно акцептировать электроны, но в целом могут быть донорами электронов через резонанс), и имеет тенденцию стабилизировать катионы или системы с низким содержанием электронов. Электронодонорный эффект обычно передается через резонанс другим атомам, присоединенным к связанному атому, который стал богатым электронами за счет электронодонорной группы (EDG), тем самым увеличивая электронную плотность более удаленного реакционноспособного центра. Обычно электронодонорную группу выбирают из группы, состоящей из $-OH$, $-OR'$, $-NH_2$, $-NHR'$ и $N(R')_2$, где каждый R' независимо выбран из C_1 - C_{12} алкила, типично C_1 - C_6 алкила. В зависимости от заместителей C_6 - C_{24} -арильная, C_5 - C_{24} -гетероарильная или ненасыщенная C_1 - C_{12} -алкильная группа также может быть электронодонорной группой, и в некоторых аспектах такие фрагменты охватываются термином для электронодонорной группы.

[0074] Термин «соединение», используемый в настоящей заявке, если иное не указано или не подразумевается из контекста, относится к, и охватывает его, химическому соединению как таковому, названному или представленному структурой, и его солевой форме, независимо от того, указано это явно или нет, если только из контекста явно не следует, что такие солевые формы должны быть исключены. Сложные соли включают формы цвиттер-ионной соли и формы соли присоединения кислоты и основания, содержащие органические противоионы или неорганические противоионы, и формы соли, включающие два или более противоиона, которые могут быть одинаковыми или разными. В некоторых аспектах форма соли представляет собой форму фармацевтически приемлемой соли соединения. Термин «соединение» также включает сольватированные формы соединения, в которых растворитель нековалентно связан с соединением или обратимо ковалентно связан с соединением, например, когда карбонильная группа соединения гидратируется с образованием гем-диола. Формы сольватов включают формы соединения как такового и солевую форму(формы) и включают гемисольваты,

моносольваты, дисольваты, включая гидраты; и когда соединение может быть связано с двумя или более молекулами растворителя, две или более молекулы растворителя могут быть одинаковыми или разными. В некоторых случаях соединение по изобретению будет включать явную ссылку на одну или несколько из вышеперечисленных форм, например соли и сольваты, что не подразумевает какой-либо твердой формы соединения; однако эта ссылка предназначена только для акцента и не должна толковаться как исключающая любые другие формы, указанные выше. Кроме того, если не делается явная ссылка на солевую и/или сольватированную форму соединения или композицию Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, это упущение не должно толковаться как исключение соли и/или сольватированной формы(форм) соединения или Конъюгата, если только из контекста ясно не следует, что такие формы солей и/или сольватов должны быть исключены.

[0075] Термин «оптический изомер», используемый в настоящей заявке, если не указано иное или не подразумевается из контекста, относится к родственному соединению по сравнению с эталонным соединением, оба из которых имеют идентичные связи атомов, но отличаются структурно одним или несколькими хиральными центрами в противоположной стереохимической конфигурации(конфигурациях).

[0076] Термин «фрагмент», используемый в настоящей заявке, если не указано иное или не подразумевается из контекста, означает определенный сегмент, фрагмент или функциональную группу молекулы или соединения. Химические фрагменты иногда обозначаются как химические группы, которые встроены в молекулу, соединение или химическую формулу или присоединены к ней (например, заместитель или переменная группа).

[0077] Если не указано иное или не подразумевается контекстом, для любой группы заместителя или фрагмента, описанных в настоящей заявке при помощи заданного диапазона атомов углерода, указанный диапазон означает, что описано любое индивидуальное количество атомов углерода. Таким образом, ссылка на, например, «необязательно замещенный C₁-C₄ алкил» или «необязательно замещенный C₂-C₆ алкенил» конкретно означает, что присутствует алкильный фрагмент с 1, 2, 3 или 4 атомами углерода, необязательно замещенный, как определено в настоящей заявке, или присутствует алкенильный фрагмент с 2, 3, 4, 5 или 6 атомами углерода, необязательно замещенный, как определено в настоящей заявке, соответственно. Все такие числовые обозначения явно предназначены для раскрытия всех индивидуальных групп, содержащих атомы углерода; и, таким образом, «необязательно замещенный C₁-C₄ алкил» включает метил, этил, 3-углеродные алкилы и 4-углеродные алкилы, включая все их позиционные изомеры, как замещенные, так и незамещенные. Таким образом, когда алкильный фрагмент замещен, числовые обозначения относятся к незамещенному основному фрагменту и не предназначены для включения атомов углерода, не связанных непосредственно с основным фрагментом, которые могут присутствовать в заместителях этого основного фрагмента. Для сложных эфиров, карбонатов, карбаматов и мочевины, как

определено в настоящей заявке, которые идентифицируются заданным диапазоном атомов углерода, указанный диапазон включает карбонильный углерод соответствующей функциональной группы. Таким образом, C1 сложный эфир относится к формиатному сложному эфиру, а C2 сложный эфир относится к ацетатному сложному эфиру.

Органические заместители, фрагменты и группы, описанные в настоящей заявке, а также любые другие фрагменты, описанные в настоящей заявке, обычно исключают нестабильные фрагменты, за исключением случаев, когда такие нестабильные фрагменты являются переходными видами, которые можно использовать для получения соединения с достаточной химической стабильностью для одного или несколько описанных в настоящей заявке применений. Заместители, фрагменты или группы в соответствии с приведенными в настоящей заявке определениями, которые приводят к тем, которые содержат пятивалентный углерод, специально исключены.

[0079] “Алкил”, как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или как часть другого термина, если иное не указано или не следует из контекста, относится к метилу или совокупности смежных атомов углерода, один из которых является одновалентным, где один или несколько атомов углерода являются насыщенными (т.е. состоит из одного или более sp^3 углеродов) и ковалентно связаны вместе в нормальной, вторичной, третичной или циклической конфигурациях, т.е. в линейной, разветвленной, циклической конфигурации или в некоторой их комбинации. Когда смежные насыщенные атомы углерода находятся в циклической конфигурации, такие алкильные фрагменты, в некоторых аспектах, указаны как карбоциклилы, как далее определено в настоящей заявке.

[0080] При указании алкильного фрагмента или группы как алкильного заместителя, этот алкильный заместитель структуры Маркуша или другого органического фрагмента, с которым он связан, представляет собой метил или такую цепь из смежных атомов углерода, ковалентно присоединенную к структуре или фрагменту через sp^3 углерод алкильного заместителя. Алкильный заместитель, в контексте настоящей заявки, поэтому содержит по меньшей мере один насыщенный фрагмент и также может быть замещен циклоалкильным или ароматическими или гетероароматическими фрагментами или группами, или алкенильным или алкинильным фрагментом, приводя к ненасыщенному алкилу. Таким образом, необязательно замещенный алкильный заместитель может дополнительно содержать одну, две, три или более независимо выбранных двойных связей и/или тройных связей или может быть замещен алкенильным или алкинильным фрагментами или некоторой их комбинацией для определения ненасыщенного алкильного заместителя, и может быть замещен другими фрагментами, которые включают подходящие необязательные заместители, как описано в настоящей заявке. Количество атомов углерода в насыщенном алкиле может варьироваться и типично составляет 1-50, 1-30 или 1-20, и более типично 1-8 или 1-6, а в ненасыщенном алкильном фрагменте или группе типично варьируется между 3-50, 3-30 или 3-20, и более типично варьируется между 3-8.

[0081] Насыщенный алкильный фрагмент содержит насыщенные ациклические атомы углерода (т.е. ациклические sp^3 углероды) и не содержит sp^2 или sp атомы углерода, но может быть замещен необязательным заместителем, как описано в настоящей заявке, при условии, что такое замещение не осуществляется через sp^3 , sp^2 или sp атом углерода необязательного заместителя, так как это повлияет на идентичность основного алкильного фрагмента, замещенного таким образом по количеству атомов углерода, за исключением случаев, когда необязательный заместитель представляет собой Основной Компонент, как определено в настоящей заявке. Если иное не указано или не подразумевается контекстом, термин «алкил» будет обозначать насыщенный нециклический углеводородный радикал, где углеводородный радикал имеет указанное число ковалентно связанных насыщенных атомов углерода, так что такие термины, как « C_1 - C_6 алкил» или « C_1 - C_6 алкил» означают алкильный фрагмент или группу, содержащую 1 насыщенный атом углерода (т.е. представляет собой метил) или 2, 3, 4, 5 или 6 смежных нециклических насыщенных атомов углерода, а « C_1 - C_8 алкил» относится к алкильному фрагменту или группе, содержащей 1 насыщенный атом углерода или 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 смежных насыщенных нециклических атомов углерода. Обычно насыщенный алкил представляет собой C_1 - C_6 или C_1 - C_4 алкильный фрагмент, не содержащий sp^2 или sp атомы углерода в своей непрерывной углеродной цепи, причем последний иногда называют низшим алкилом, а в некоторых аспектах он будет относиться к насыщенному C_1 - C_8 алкильному фрагменту, имеющему от 1 до 8 смежных ациклических sp^3 атомов углерода, не содержащему sp^2 или sp атомы углерода в своей непрерывной углеродной цепи, когда число атомов углерода не указано. В других аспектах, когда диапазон смежных атомов углерода определяет термин «алкил», но без указания его как насыщенного или ненасыщенного, тогда этот термин включает насыщенный алкил с указанным диапазоном и ненасыщенный алкил, в котором нижний предел диапазона увеличен на два атома углерода. Например, термин « C_1 - C_8 алкил, без ограничения насыщенным алкилом» включает насыщенный C_1 - C_8 алкил и C_3 - C_8 ненасыщенный алкил.

[0082] Когда указан насыщенный алкильный заместитель, фрагмент или группа, виды включают такие, которые получены путем удаления атома водорода из исходного алкана (т.е. алкильный фрагмент является одновалентным), и могут включать метил, этил, 1-пропил (*n*-пропил), 2-пропил (изопропил, $-CH(CH_3)_2$), 1-бутил (*n*-бутил), 2-метил-1-пропил (изобутил, $-CH_2CH(CH_3)_2$), 2-бутил (*втор*-бутил, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$), 2-метил-2-пропил (*трет*-бутил, $-C(CH_3)_3$), амил, изоамил, *втор*-амил и другие линейные и разветвленные алкильные фрагменты.

[0083] "Алкилен", как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или как часть другого термина, если иное не указано или не следует из контекста, относится к насыщенному, разветвленному или прямоцепочечному углеводородному бирадикалу, замещенному или незамещенному, где один или несколько из атомов углерода являются насыщенными (т.е. состоят из одного или нескольких атомов углерода sp^3) из указанного числа атомов углерода в диапазоне от 1 до 50 или от 1 до 30, обычно от

1 до 20 или от 1 до 12 атомов углерода, чаще от 1 до 8, 1 или 6, или от 1 до 4 атомов углерода, и имеющему два радикальных центра (т.е. двухвалентный), полученными путем удаления двух атомов водорода от одного и того же или двух разных насыщенных (т.е. sp^3) атомов углерода исходного алкана. Алкиленовая группа в некоторых аспектах представляет собой алкильный радикал, как описано в настоящей заявке, в котором атом водорода был удален от другого из его насыщенных атомов углерода или от углеродного радикала алкильного радикала с образованием дирадикала. В других аспектах алкиленовая группа представляет собой или также охватывается двухвалентным фрагментом, полученным в результате удаления атома водорода от насыщенного атома углерода исходного алкильного фрагмента, и примеры включают, без ограничения, метилен ($-CH_2-$), 1,2-этилен ($-CH_2CH_2-$), 1,3-пропилен ($-CH_2CH_2CH_2-$), 1,4-бутилен ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$) и подобные дирадикалы. Как правило, алкилен представляет собой углеводород с разветвленной или прямой цепью, содержащий только sp^3 атомы углерода (т.е. полностью насыщенный, несмотря на атомы углеродного радикала) и, в некоторых аспектах, незамещенный. В других аспектах алкилен содержит внутренний центр ненасыщенности в виде одной или нескольких функциональных групп с двойной и/или тройной связью, обычно 1 или 2 таких функциональных групп, чаще 1, так что концевые атомы углерода ненасыщенной алкиленовой группы представляют собой одновалентные sp^3 атомы углерода. В других аспектах алкилен замещен 1-4, обычно 1-3, или 1 или 2 заместителями, как определено в настоящей заявке для необязательных заместителей, по насыщенному атому(атомам) углерода насыщенной алкиленовой группы или насыщенному и/или ненасыщенному атому(атомам) углерода насыщенной алкиленовой группы, за исключением алкильной, арилалкильной, алкенильной, алкинильной и любой другой группы, когда полученный замещенный алкилен будет отличаться числом смежных неароматических атомов углерода по сравнению с незамещенным алкиленом, за исключением случаев, когда необязательный заместитель представляет собой Основной Компонент, определенный в настоящей заявке.

[0084] «Карбоциклил» как термин, используемый как таковой или как часть другого термина, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к радикалу моноциклической, бициклической или трициклической кольцевой системы, где каждый из атомов, образующих кольцевую систему (т.е. скелетные атомы), представляет собой атом углерода, и при этом один или несколько из этих атомов углерода в каждом кольце циклической кольцевой системы являются насыщенными (т.е. состоят из одного или нескольких атомов углерода sp^3). Таким образом, карбоциклил представляет собой циклическую конфигурацию насыщенных атомов углерода, но может также содержать ненасыщенный атом(атомы) углерода, и, следовательно, его карбоциклическое кольцо может быть насыщенным или частично ненасыщенным, или может быть конденсировано с ароматическим фрагментом, при этом точки конденсации циклоалкильного и ароматического кольца относятся к смежным ненасыщенным атомам углерода карбоциклильной части и смежным ароматическим атомам углерода ароматической части.

[0085] Если не указано иное, карбоциклил может быть замещен (т.е. необязательно замещен) фрагментами, описанными для алкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, алкиларила и т.п., или может быть замещен другим циклоалкильным фрагментом. Циклоалкильные фрагменты, группы или заместители включают циклопропил, циклопентил, циклогексил, адамантил или другие циклические фрагменты, которые имеют только атомы углерода в своих циклических кольцевых системах.

[0086] Когда карбоциклил используется в качестве группы Маркуша (т.е. заместителя), карбоциклил присоединяется к формуле Маркуша или другому органическому фрагменту, с которым он связан, через атом углерода, который присутствует в карбоциклической кольцевой системе карбоциклильного фрагмента, при условии, что углерод не является ароматическим углеродом. Когда ненасыщенный атом углерода алкеновой группы, содержащей карбоциклильный заместитель, присоединен к формуле Маркуша, с которой он связан, этот карбоциклил иногда называют циклоалкенильным заместителем. Число атомов углерода в карбоциклильном заместителе определяется общим числом скелетных атомов его карбоциклической кольцевой системы. Это число может варьироваться и обычно составляет от 3 до 50, от 1 до 30 или от 1 до 20, а чаще от 3 до 8 или от 3 до 6, если не указано иное, например, C₃-C₈ карбоциклил означает карбоциклильный заместитель, фрагмент или группу, содержащую 3, 4, 5, 6, 7 или 8 карбоциклических атомов углерода, а C₃-C₆ карбоциклил означает карбоциклильный заместитель, фрагмент или группу, содержащую 3, 4, 5 или 6 карбоциклических атомов углерода. Карбоциклил может быть получен путем удаления одного атома водорода от кольцевого атома исходного циклоалкана или циклоалкена. Типичные C₃-C₈ карбоциклилы включают, но не ограничиваются этим, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклопентадиенил, циклогексил, циклогексенил, 1,3-циклогексадиенил, 1,4-циклогексадиенил, циклогептил, 1,3-циклогептадиенил, 1,3,5-циклогептатриенил, циклооктил и циклооктадиенил.

[0087] Следовательно, карбоциклильные заместители, фрагменты или группы обычно имеют 3, 4, 5, 6, 7, 8 атомов углерода в своей карбоциклической кольцевой системе и могут содержать экзо- или эндоциклические двойные связи или эндоциклические тройные связи, или их комбинацию, где эндоциклические двойные или тройные связи или их комбинация не образуют циклическую сопряженную систему из $4n+2$ электронов. Бициклическая кольцевая система может иметь два общих атома углерода, а трициклическая кольцевая система может иметь в общей сложности 3 или 4 общих атома углерода. В некоторых аспектах карбоциклил представляет собой C₃-C₈ или C₃-C₆ карбоциклил, который может быть замещен (т.е. необязательно замещен) одним или несколькими фрагментами, от 1 до 4, обычно от 1 до 3, или 1 или 2, описанными в настоящей заявке для алкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила и алкиларила, и/или другими фрагментами, включая заместитель(заместители), определенные в настоящей заявке для необязательных заместителей, и в некоторых аспектах является незамещенным. В других аспектах циклоалкильный фрагмент, группа или заместитель представляет собой

C₃-C₆-циклоалкил, выбранный из группы, состоящей из циклопропила, цикlopентила и циклогексила, или представляет собой C₃-C₈-циклоалкил, который охватывает эту группу и, кроме того, включает другие циклические фрагменты, которые не имеют более 8 атомов углерода в их циклических кольцевых системах. Когда количество атомов углерода не указано, карбоциклильный фрагмент, группа или заместитель имеют от 3 до 8 атомов углерода в своей карбоциклической кольцевой системе.

[0088] «Карбоцикло», как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или как часть другого термина, если не указано иное или не подразумевается контекстом, относится к необязательно замещенному карбоциклилу, как определено выше, в котором другой атом водорода его циклоалкильной кольцевой системы был удален (т.е. является двухвалентным) и представляет собой C₃-C₅₀ или C₃-C₃₀ карбоцикло, обычно C₃-C₂₀ или C₃-C₁₂ карбоцикло, более типично C₃-C₈ или C₃-C₆ карбоцикло, и в некоторых аспектах является незамещенным или необязательно замещенным C₃, C₅ или C₆ карбоцикло. Когда количество атомов углерода не указано, карбоцикло фрагмент, группа или заместитель имеют от 3 до 8 атомов углерода в своей карбоциклической кольцевой системе.

[0089] В некоторых аспектах этот другой атом водорода удаляется от одновалентного атома углерода циклоалкила с получением двухвалентного атома углерода, который в некоторых случаях представляет собой спироуглеродный атом, прерывающий алкильный фрагмент этим карбоциклическим атомом углерода. В таких случаях спироатом углерода приписывается количеству атомов углерода в прерванной алкильной части и кольцевой системе карбоцикло, при этом указанный карбоцикло включен в алкильную часть. В этих аспектах карбоцикло фрагмент, группа или заместитель представляет собой C₃-C₆ карбоцикло в форме спирокольцевой системы и выбран из группы, состоящей из циклопроп-1,1-диила, циклобутил-1,1-диила, цикlopента-1,1-диила и циклогекс-1,1-диила, или представляет собой C₃-C₈ карбоцикло, который охватывает эту группу и также охватывается другими двухвалентными циклическими фрагментами, которые имеют не более 8 атомов углерода в своих циклических кольцевых системах. Карбоцикло может быть насыщенным или ненасыщенным карбоцикло и/или может быть незамещенным или незамещенным таким же образом, как описано для карбоциклильного фрагмента. В случае ненасыщенности один или оба одновалентных атома углерода карбоцикло фрагмента могут быть sp² атомами углерода из одной и той же или другой функциональной группы с двойной связью, или оба атома одновалентного углерода могут быть смежными или несмежными sp³ атомами углерода.

[0090] “Алкенил”, как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или как часть другого термина, если иное не указано или не следует из контекста, относится к органическому фрагменту, заместителю или группе, которые включают одну или несколько функциональных групп с двойной связью (например, фрагмент -CH=CH-) или 1, 2, 3, 4, 5 или 6 или более, обычно 1, 2 или 3 таких функциональных групп, более

типично одну такую функциональную группу, и в некоторых аспектах может быть замещен (т.е. необязательно замещен) арильным фрагментом или группой, такой как фенил, или может содержать неароматические связанные нормальные, вторичные, третичные или циклические атомы углерода, т.е. линейные, разветвленные, циклические или любую их комбинацию как часть основного фрагмента, если только алкенильный заместитель, часть или группа не являются винильной группой (например, группой $-\text{CH}=\text{CH}_2$). Алкенильный фрагмент, группа или заместитель, имеющие несколько двойных связей, могут иметь двойные связи, расположенные смежно (т.е. 1,3-бутадиенильный фрагмент) или несмежно с одним или несколькими промежуточными насыщенными атомами углерода или их комбинацией, при условии, что циклическое, смежное расположение двойных связей не образует циклическую сопряженную систему из $4n+2$ электронов (т.е. не является ароматическим).

[0091] Алкенильный фрагмент, группа или заместитель содержат по меньшей мере один sp^2 атом углерода, где этот атом углерода является двухвалентным и дважды связан с другим органическим фрагментом или структурой Маркуша, с которой он находится в ассоциации, или содержит по меньшей мере два sp^2 атома углерода в сопряжении друг с другом, при котором один из sp^2 атомов углерода является одновалентным и одинарно связан с другим органическим фрагментом или структурой Маркуша, с которой он находится в ассоциации. Обычно, когда алкенил используется в качестве группы Маркуша (т.е. в качестве заместителя), алкенил одинарно связан с формулой Маркуша или другим органическим фрагментом, с которым он находится в ассоциации через sp^2 -углерод алкеновой функциональной группы алкенильного фрагмента. В некоторых аспектах, когда указан алкенильный фрагмент, виды охватывают виды, соответствующие любому из необязательно замещенных алкильных или карбоциклических фрагментов, групп или заместителей, описанных в настоящей заявке, которые имеют одну или несколько *эндо* двойных связей, в которых sp^2 атом углерода является одновалентным, и одновалентные фрагменты, полученные в результате удаления атома водорода от sp^2 атома углерода исходного алкенового соединения. Примерами таких одновалентных фрагментов являются, без ограничения, винил ($-\text{CH}=\text{CH}_2$), аллил, 1-метилвинил, бутенил, изобутенил, 3-метил-2-бутенил, 1-пентенил, циклопентенил, 1-метилциклопентенил, 1-гексенил, 3-гексенил и циклогексенил. В некоторых аспектах термин алкенил охватывает указанные и/или другие линейные, циклические и разветвленные углеродсодержащие фрагменты, содержащие по меньшей мере одну функциональную группу с двойной связью, в которой один из sp^2 атомов углерода является одновалентным.

[0092] Количество атомов углерода в алкенильном фрагменте определяется количеством sp^2 атомов углерода алкеновой функциональной группы (групп), которое определяет его как алкенильный заместитель, и общим количеством смежных неароматических атомов углерода, присоединенных к каждому из этих sp^2 атомов углерода, не включающим какой-либо атом углерода другого фрагмента или структуры Маркуша, для которой алкенильный фрагмент представляет собой переменную группу, и

атомы углерода любого необязательного заместителя в алкенильном фрагменте. Это число находится в диапазоне от 1 до 50 или от 1 до 30, обычно от 1 до 20 или от 1 до 12, более типично от 1 до 8, от 1 до 6 или от 1 до 4 атомов углерода, когда функциональная группа с двойной связью дважды связана со структурой Маркуша (например, $=CH_2$), или находится в диапазоне от 2 до 50, обычно от 2 до 30, от 2 до 20 или от 2 до 12, более типично от 2 до 8, от 2 до 6 или от 2 до 4 атомов углерода, когда функциональная группа с двойной связью одинарно связана со структурой Маркуша (например, $-CH=CH_2$). Например, C_2-C_8 алкенил или C_2-C_8 алкенил означает алкенильный фрагмент, содержащий 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода, в котором по меньшей мере два sp^2 атома углерода находятся в сопряжении друг с другом, при этом один из этих атомов углерода является одновалентным, и C_2-C_6 алкенил или C_2-C_6 алкенил означает алкенильный фрагмент, содержащий 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода, в котором по меньшей мере два sp^2 атома углерода находятся в сопряжении друг с другом, при этом один из этих атомов углерода является одновалентным. В некоторых аспектах алкенильный заместитель или группа представляет собой алкенильный фрагмент C_2-C_6 или C_2-C_4 , содержащий только два sp^2 атома углерода, которые находятся в сопряжении друг с другом, при этом один из этих атомов углерода является одновалентным, а в других аспектах этот алкенильный фрагмент является незамещенным или замещен 1-4 или более, обычно 1-3, более типично 1 или 2 независимо выбранными фрагментами, как описано в настоящей заявке, включая заместители, определенные в настоящей заявке для необязательных заместителей, за исключением алкила, арилалкила, гетероарилалкила, алкенила, алкинила и любого другого фрагмента, когда замещенный алкенил будет отличаться числом смежных неароматических атомов углерода по сравнению с незамещенным алкенилом, где замещение(замещения) может быть по любому из смежных sp^2 - и sp^3 -углеродных атомов алкенильного фрагмента, если таковые имеются. Как правило, алкенильный заместитель представляет собой C_2-C_6 или C_2-C_4 алкенильный фрагмент, содержащий только два sp^2 атома углерода, которые находятся в сопряжении друг с другом. Когда число атомов углерода не указано, алкенильный фрагмент имеет от 2 до 8 атомов углерода.

[0093] Термин «алкенилен», как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или как часть другого термина, если иное не указано или не следует из контекста, относится к органическому фрагменту, заместителю или группе, которые включают одну или несколько двойных связей, как описано ранее для алкенила, содержат указанное число атомов углерода и имеют два радикальных центра, полученных удалением двух атомов водорода от одного и того же или двух разных sp^2 атомов углерода функциональной группы алкена или удалением двух атомов водорода от двух отдельных функциональных групп алкена в исходном алкене. В некоторых аспектах алкениленовый фрагмент представляет собой фрагмент алкенильного радикала, как описано в настоящей заявке, в котором атом водорода удален от одного и того же или другого sp^2 атома углерода функциональной группы с двойной связью алкенильного радикала, или от sp^2

атома углерода из другого фрагмента с двойной связью, чтобы обеспечить дирадикал. Как правило, алкениленовые фрагменты охватывают дирадикалы, содержащие структуру $\text{C}=\text{C}$ - или $-\text{C}=\text{C}-\text{X}^1-\text{C}=\text{C}-$, где X^1 отсутствует или представляет собой необязательно замещенный насыщенный алкилен, как определено в настоящей заявке, который обычно представляет собой $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкилен, который чаще является незамещенным. Число атомов углерода в алкениленовом фрагменте определяется числом sp^2 атомов углерода его функциональной группы (групп) алкена, которая определяет его как алкениленовый фрагмент, и общим числом смежных неароматических атомов углерода, присоединенных к каждому из его sp^2 атомов углерода, не включающим какие-либо атомы углерода другого фрагмента или структуры Маркуша, в которой алкенильный фрагмент присутствует в качестве переменной группы. Это число, если не указано иное, находится в диапазоне от 2 до 50 или от 2 до 30, обычно от 2 до 20 или от 2 до 12, более типично от 2 до 8, от 2 до 6 или от 2 до 4 атомов углерода. Например, $\text{C}_2\text{-C}_8$ алкенилен или $\text{C}_2\text{-C}_8$ алкенилен означает алкениленовую группу, содержащую 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода, в которой по меньшей мере два sp^2 атома углерода, из которых один является двухвалентным, или оба являются одновалентными, находятся в сопряжении друг с другом, и $\text{C}_2\text{-C}_6$ алкенилен или $\text{C}_2\text{-C}_6$ алкенилен означает алкенильный фрагмент, содержащий 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода, где по меньшей мере два являются sp^2 атомами углерода, из которых один является двухвалентным или оба являются одновалентными, находятся в сопряжении друг с другом. В некоторых аспектах алкениленовый фрагмент представляет собой алкенилен $\text{C}_2\text{-C}_6$ или $\text{C}_2\text{-C}_4$, имеющий два sp^2 атома углерода, которые находятся в сопряжении друг с другом, при этом оба sp^2 атома углерода являются одновалентными, и в некоторых аспектах являются незамещенным. Когда количество атомов углерода не указано, алкениленовая группа имеет от 2 до 8 атомов углерода и является незамещенной или замещенной таким же образом, как описано для алкенильного фрагмента.

[0094] «Алкинил», как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или как часть другого термина, если иное не указано или не следует из контекста, относится к органическому фрагменту, заместителю или группе, которые включают одну или несколько функциональных групп с тройной связью (например, фрагмент $-\text{C}\equiv\text{C}-$) или 1, 2, 3, 4, 5 или 6 или более, обычно 1, 2 или 3 таких функциональных групп, более типично одну такую функциональную группу, и в некоторых аспектах может быть замещен (т.е. необязательно замещен) арильным фрагментом, таким как фенил, или алкенильным фрагментом, или связанные нормальные, вторичные, третичные или циклические атомы углерода, т.е. является линейным, разветвленным, циклическим или любой их комбинацией, если только алкинильный заместитель, фрагмент или группа не является $-\text{C}\equiv\text{CH}$). Алкинильный фрагмент, группа или заместитель, имеющие несколько тройных связей, могут иметь тройные связи, расположенные смежно или несмежно с одним или несколькими промежуточными насыщенными или ненасыщенными атомами углерода или их комбинацией, при условии, что циклическое, непрерывное расположение

тройных связей не образует циклическую сопряженную систему из $4n+2$ электронов (т.е. не является ароматическим).

[0095] Алкинильный фрагмент, группа или заместитель содержит по меньшей мере два *sp*-атома углерода, где атомы углерода сопряжены друг с другом и где один из *sp*-атомов углерода связан одинарной связью с другим органическим фрагментом или структурой Маркуша, с которой он находится в ассоциации. Когда алкинил используется в качестве группы Маркуша (т.е. является заместителем), алкинил одинарно связан с формулой Маркуша или другим органическим фрагментом, с которым он связан через тройственно связанный углерод (т.е. *sp*-углерод) концевой алкиновой функциональной группы. В некоторых аспектах, когда указан алкинильный фрагмент, группа или заместитель, виды включают любые из необязательно замещенных алкильных или карбоциклических групп, фрагментов или заместителей, описанных в настоящей заявке, которые имеют одну или несколько *эндо* тройных связей, и одновалентные фрагменты, полученные в результате удаления атома водорода от *sp*-углерода исходного алкинового соединения. Примерами таких одновалентных фрагментов являются, без ограничения, $-C\equiv CH$, $-C\equiv C-CH_3$ и $-C\equiv C-Ph$.

[0096] Число атомов углерода в алкинильном заместителе определяется числом *sp* атомов углерода функциональной группы алкена, которое определяет ее как алкинильный заместитель, и общим числом смежных неароматических атомов углерода, присоединенных к каждому из этих *sp* атомов углерода, не включая любой атом углерода другого фрагмента или структуры Маркуша, для которой алкинильный фрагмент представляет собой переменную группу. Это число может варьироваться в пределах от 2 до 50, обычно от 2 до 30, от 2 до 20 или от 2 до 12, чаще от 2 до 8, от 2 до 6 или от 2 до 4 атомов углерода, когда функциональная группа с тройной связью связана одинарно со структурой Маркуша (например, $-CH\equiv CH$). Например, C_2-C_8 алкинил или $C2-C8$ алкинил означает алкинильный фрагмент, содержащий 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода, в котором по меньшей мере два являются *sp*-атомами углерода в сопряжении друг с другом, при этом один из этих атомов углерода является одновалентным, а C_2-C_6 алкинил или $C2-C6$ алкинил означает алкинильный фрагмент, содержащий 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода, в котором по меньшей мере два являются *sp*-атомами углерода, которые находятся в сопряжении друг с другом, при этом один из этих атомов углерода является одновалентным. В некоторых аспектах алкинильный заместитель или группа представляет собой алкинильный фрагмент C_2-C_6 или C_2-C_4 , содержащий два *sp* атома углерода, которые находятся в сопряжении друг с другом, при этом один из этих атомов углерода является одновалентным, а в других аспектах этот алкинильный фрагмент является незамещенным. Когда количество атомов углерода не указано, алкинильный фрагмент, группа или заместитель имеют от 2 до 8 атомов углерода. Алкинильный фрагмент может быть замещен или незамещен таким же образом, как описано для алкинильного фрагмента, за исключением того, что не допускается замещение одновалентного *sp*-углерода.

[0097] «Арил», как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или как часть другого термина, если иное не указано или не следует из контекста, относится к органическому фрагменту, заместителю или группе, имеющим ароматическую или конденсированную ароматическую кольцевую систему без кольцевых гетероатомов, содержащим или состоящим из 1, 2, 3 или 4-6 ароматических колец, каждое из которых независимо необязательно замещено, обычно состоящим из 1-3 ароматических колец, более типично из 1 или 2 ароматических колец, каждое из которых независимо необязательно замещено, где кольца состоят только из атомов углерода, которые участвуют в циклически сопряженной системе из $4n+2$ электронов (правило Хюккеля), обычно 6, 10 или 14 электронов, некоторые из которых могут дополнительно участвовать в экзоциклическом сопряжении с гетероатомом (кросс-сопряженные, например, хинон). Арильные заместители, фрагменты или группы обычно образованы шестью, восемью, десятью или более смежными ароматическими атомами углерода, вплоть до 24, и включают C_6 - C_{24} арил, и в некоторых аспектах C_6 - C_{20} или C_6 - C_{12} арил. Арильные заместители, фрагменты или группы необязательно замещены и в некоторых аспектах являются незамещенными или замещены 1, 2, 3 или более, обычно 1 или 2, независимо выбранными заместителями, определенными в настоящей заявке для алкильного, алкенильного, алкинильного или другого фрагмента, описанного в настоящей заявке, включая другой арил или гетероарил, с образованием биарила и других необязательных заместителей, как определено в настоящей заявке. В других аспектах арилы представляют собой C_6 - C_{10} арилы, такие как фенил, нафталинил и фенантрил. Поскольку для ароматичности нейтрального арильного фрагмента требуется четное число электронов, следует понимать, что данный диапазон для этого фрагмента не будет охватывать виды с нечетным числом ароматических атомов углерода. Когда арил используется в качестве группы Маркуша (т.е. заместителя), арил присоединяется к формуле Маркуша или другому органическому фрагменту, с которым он находится в ассоциации, через ароматический углерод арильной группы.

[0098] «Гетероцикл», как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или как часть другого термина, если иное не указано или не следует из контекста, относится к карбоциклилу, в котором один или несколько, но не все атомы углерода скелета со связанными с ними атомами водорода в карбоциклической кольцевой системе замещены независимо выбранными гетероатомами или гетероатомными группами, необязательно замещенными, где это допустимо, включая, помимо прочего, N/NH, O, S, Se, B, Si и P, где два или более гетероатомов или гетероатомных групп, обычно 2, могут быть смежными или разделены одним или несколькими атомами углерода в одной и той же кольцевой системе, обычно 1-3 атомами углерода. Эти гетероатомы или гетероатомные группы обычно представляют собой N/NH, O и S. Гетероцикл обычно содержит одновалентный скелетный атом углерода или одновалентный гетероатом или гетероатомную группу и имеет в общей сложности от одного до десяти гетероатомов и/или гетероатомных групп, обычно в общей сложности от 1 до 5, или, более типично, в

общей словжности от 1 до 3, или 1, или 2, при условии, что не все атомы скелета в любом из гетероциклических колец в гетероциклиле являются гетероатомами и/или гетероатомными группами (т.е. по меньшей мере один атом углерода не замещен в каждом кольце, при этом по меньшей мере один был замещен в одном из колец), где каждый гетероатом или гетероатомная группа в кольце(кольцах), необязательно замещенный, где это допустимо, независимо выбран из группы, состоящей из N/NH, O и S, при условии, что ни одно кольцо не содержит два смежных атома O или S. Примеры гетероциклилов и гетероарилов, вместе именуемые гетероциклами, представлены в Paquette, Leo A.; "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W. A. Benjamin, New York, 1968), особенно главы 1, 3, 4, 6, 7 и 9; "The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, New York, с 1950 г. по настоящее время), в частности тома 13, 14, 16, 19 и 28; и J. Am. Chem. Soc. 1960, 82:5545-5473, особенно 5566-5573).

[0099] Когда гетероциклил используется в качестве группы Маркуша (т.е. заместителя), насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо гетероциклила присоединяется к структуре Маркуша или другому фрагменту, с которым он связывается, через атом углерода или гетероатом этого гетероциклического кольца, где такое присоединение не приводит к нестабильной или недопустимой формальной степени окисления этого атома углерода или гетероатома. Гетероциклил в этом контексте представляет собой одновалентный фрагмент, в котором гетероциклическое кольцо гетероциклической кольцевой системы, определяющей его как гетероциклил, не является ароматическим, но может быть конденсировано с карбоциклическим, арильным или гетероарильным кольцом и включает фенил- (т.е. бензо) конденсированные гетероциклические фрагменты.

[0100] Гетероциклил представляет собой C₃-C₅₀ или C₃-C₃₀ карбоциклил, обычно C₃-C₂₀ или C₃-C₁₂ карбоциклил, более типично C₃-C₈ или C₃-C₆ карбоциклил, где 1, 2 или 3 или более, но не все атомы углерода его циклоалкильной кольцевой системы замещены вместе с присоединенными атомами водорода, типично 1, 2, 3 или 4, более типично 1 или 2, замещены гетероатомом или гетероатомной группой, независимо выбранной из группы, состоящей из N/NH, O и S, необязательно замещенной, где это допустимо, и, таким образом, представляет собой гетероциклил C₃-C₅₀ или C₃-C₃₀, типично гетероциклил C₃-C₂₀ или C₃-C₁₂, более типично гетероциклил C₃-C₆ или C₅-C₆, в котором нижний индекс указывает общее количество скелетных атомов (включая атомы углерода и гетероатомы) гетероциклической кольцевой системы (систем) гетероциклила. В некоторых аспектах гетероциклил содержит от 0 до 2 N, от 0 до 2 O или от 0 до 1 S скелетных гетероатомов, необязательно замещенных, или некоторую их комбинацию, при условии, что по меньшей мере один из указанных гетероатомов присутствует в гетероциклической кольцевой системе гетероциклила. Гетероциклил может быть насыщенным или частично ненасыщенным и/или незамещенным, или замещенным по скелетному атому углерода оксогруппой (=O), как в пирролидин-2-оне, и/или по скелетному гетероатому одной или двумя оксогруппами, т.е. как содержащий окисленный гетероатом, например, но не

ограничиваясь этим, $-N(=O)$, $-S(=O)-$ или $-S(=O)_2-$. Полностью насыщенный или частично ненасыщенный гетероциклил может быть замещен или дополнительно замещен алкилом, (гетеро)арилом, (гетеро)арилалкилом, алкенилом, алкинилом или другим фрагментом, как описано в настоящей заявке, включая необязательные заместители, определенные в настоящей заявке, или комбинацию 2, 3 или более, обычно 1 или 2 таких заместителей. В некоторых аспектах гетероциклил выбран из группы, состоящей из пирролидинила, пиперидинила, морфолинила и пиперазинила.

[0101] «Гетероцикло», как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или как часть другого термина, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к гетероциклильному фрагменту, группе или заместителю, как определено выше, где атом водорода от его одновалентного атома углерода, атом водорода от другого скелетного атома (атома углерода или азота, если последний присутствует) или электрон из скелетного атома азота, где это допустимо, удален, или электрон из кольцевого атома азота, который еще не является одновалентным, удален и заменен связью (т.е. он двухвалентный). В некоторых аспектах замещенный второй водород представляет собой водород одновалентного атома углерода исходного гетероциклила, образуя, таким образом, спиро атом углерода, который в некоторых случаях может прерывать алкильный фрагмент с этим карбоциклическим атомом углерода. В таких случаях спиро атом углерода относят к количеству атомов углерода прерванной алкильной группы, при этом гетероцикло указан как включенный в алкильную группу.

[0102] «Гетероарил», как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или как часть другого термина, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к арильному фрагменту, группе или заместителю, как определено в настоящей заявке, в котором один или несколько, но не все ароматические углероды ароматической кольцевой системы арила замещены гетероатомом. Гетероарил обычно содержит в общей сложности от одного до четырех скелетных гетероатомов в кольце(кольцах) гетероарильной кольцевой системы, при условии, что не все скелетные атомы любой кольцевой системы в гетероариле являются гетероатомами, которые необязательно замещены, где это допустимо, и имеют от 0 до 3 N, от 1 до 3 N или от 0 до 3 N скелетных гетероатомов, типично от 0 до 1 O и/или от 0 до 1 S скелетных гетероатомов, при условии, что присутствует по меньшей мере один скелетный гетероатом. Гетероарил может быть моноциклическим, бициклическим или полициклическим. Полициклический гетероарил обычно представляет собой C_5 - C_{50} или C_5 - C_{30} гетероарил, более типично C_5 - C_{20} или C_5 - C_{12} гетероарил, бициклический гетероарил обычно представляет собой C_5 - C_{10} гетероарил, а моноциклический гетероарил обычно представляет собой C_5 - C_6 гетероарил, где нижний индекс указывает общее количество скелетных атомов (включая атомы углерода и гетероатомы) ароматической кольцевой системы(систем) гетероарила. В некоторых аспектах гетероарил представляет собой бициклический арильный фрагмент, в котором один 1, 2, 3, 4 или более, типично 1, 2 или 3 атома углерода ароматического кольца

(колец) и присоединенные к ним атомы водорода исходного бициклического арильного фрагмента замещены независимо выбранным гетероатомом или гетероатомной группой, или представляет собой моноциклический арильный фрагмент, в котором один 1, 2, 3 или более, типично 1 или 2 атома углерода ароматического кольца (колец) и присоединенные к ним атомы водорода исходного моноциклического арильного фрагмента замещены независимо выбранным гетероатомом или гетероатомной группой, где гетероатом или гетероатомная группа необязательно замещены, где это допустимо, включая N/NH, O и S, при условии, что не все скелетные атомы любой ароматической кольцевой системы в исходном арильном фрагменте замещены гетероатомами, и более типично замещены кислородом (-O-), серой (-S-), азотом (=N-) или -NR-, так что гетероатом азота необязательно замещен, где R представляет собой -H, азот-защитную группу или необязательно замещенный C₁-C₂₀ алкил, или представляет собой необязательно замещенный C₆-C₂₄ арил или C₅-C₂₄ гетероарил с образованием гетеробиарила. В других аспектах 1, 2 или 3 атома углерода ароматического кольца (колец) и присоединенные к ним атомы водорода исходной арильной группы замещены азотом, замещенным другой органической группой, таким образом сохраняется циклическая сопряженная система. В других аспектах ароматический углеродный радикал исходного арильного фрагмента замещен ароматическим азотным радикалом. В любом из этих аспектов гетероатом азота, серы или кислорода участвует в сопряженной системе либо посредством пи-связи с соседним атомом в кольцевой системе, либо через неподеленную пару электронов на гетероатоме. В других аспектах гетероарил имеет структуру гетероцикла, определенную в настоящей заявке, в которой его кольцевая система была ароматизирована.

[0103] Как правило, гетероарил является моноциклическим, который, в некоторых аспектах, имеет 5-членную или 6-членную гетероароматическую кольцевую систему. 5-членный гетероарил представляет собой моноциклический C₅-гетероарил, содержащий от 1 до 4 ароматических атомов углерода и необходимое количество ароматических гетероатомов в его гетероароматической кольцевой системе. Шестичленный гетероарил представляет собой моноциклический C₆-гетероарил, содержащий от 1 до 5 ароматических атомов углерода и необходимое количество ароматических гетероатомов в его гетероароматической кольцевой системе. Гетероарила, которые являются 5-членными, имеют четыре, три, два или один ароматический гетероатом, а шестичленные гетероарила включают гетероарила, имеющие пять, четыре, три, два или один ароматический гетероатом.

[0104] C₅-гетероарила, также называемые 5-членными гетероарилами, представляют собой одновалентные фрагменты, полученные путем удаления атома водорода от скелетного ароматического углерода или электрона из скелетного ароматического гетероатома, где это допустимо, из исходного ароматического гетероциклического соединения, которое в некоторых аспектах выбрано из группы, состоящей из пиррола, фурана, тиафена, оксазола, изоксазола, тиазола, изотиазола,

имидазола, пиразола, триазола и тетразола. В других аспектах исходный гетероцикл выбран из группы, состоящей из тиазола, имидазола, оксазола и триазола, и обычно представляет собой тиазол или оксазол, более типично тиазол.

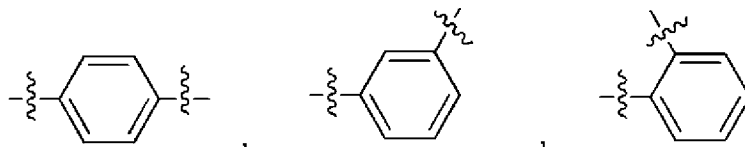
[0105] C₆-гетероарилы, которые являются 6-членными, представляют собой одновалентные фрагменты, полученные путем удаления атома водорода от ароматического углерода или электрона из ароматического гетероатома, где это допустимо, из исходного ароматического гетероциклического соединения, которое в определенных аспектах выбрано из группы, состоящей из пиридина, пиридазина, пиримидина и триазина. Гетероарил может быть замещен или дополнительно замещен алкилом, (гетеро)арилалкилом, алкенилом или алкинилом, или арилом, или другим гетероарилом с образованием биарила, или другими группами, как описано в настоящей заявке, включая необязательные заместители, определенные в настоящей заявке, или комбинацией 2, 3 или более, типично 1 или 2 таких заместителей.

[0106] «Арилалкил» или «гетероарилалкил», как эти термины используются в настоящей заявке, как таковые или как часть другого термина, относятся к арильному или гетероарильному фрагменту, связанному с алкильным фрагментом, т.е. (арил)-алкил-, где алкил и арильные группы являются такими, как описано выше. Как правило, арилалкил представляет собой (C₆-C₂₄ арил)-C₁-C₁₂ алкильный фрагмент, группу или заместитель, а гетероарилалкил представляет собой (C₅-C₂₄ гетероарил)-C₁-C₁₂ алкильный фрагмент, группу или заместитель. Когда (гетеро)арилалкил используется в качестве группы Маркуша (т.е. заместителя), алкильный фрагмент (гетеро)арилалкила присоединяется к формуле Маркуша, с которой он связан через sp³ углерод его алкильного фрагмента. В некоторых аспектах арилалкил представляет собой (C₆-C₂₄ арил)-C₁-C₁₂ алкил- или (C₆-C₂₀ арил)-C₁-C₂₀ алкил-, типично (C₆-C₁₂ арил)-C₁-C₁₂ алкил- или (C₆-C₁₀ арил)-C₁-C₁₂ алкил-, более типично (C₆-C₁₀ арил)-C₁-C₆ алкил, и примеры включают, без ограничения, C₆H₅-CH₂-, C₆H₅-CH(CH₃)CH₂- и C₆H₅-CH₂-CH(CH₂CH₂CH₃)-. (Гетеро)арилалкил может быть незамещенным или замещен таким же образом, как описано для (гетеро)арильной и/или алкильной группы.

[0107] «Арилен» или «гетероарилен», как эти термины используются в настоящей заявке, как таковые или как часть другого термина, если иное не указано или не подразумевается контекстом, означают ароматический или гетероароматический бирадикал, который образует две ковалентные связи (т.е. он двухвалентен) внутри другого органического фрагмента, для которого связи находятся в орто-, мета- или пара-конфигурации. Арилен и некоторые гетероарилены включают двухвалентные соединения путем удаления атома водорода из исходного арильного или гетероарильного фрагмента, группы или заместителя, как определено в настоящей заявке. Другие гетероарилены представляют собой двухвалентные виды, в которых атомы водорода были удалены от двух разных ароматических атомов углерода исходного ароматического гетероцикла с образованием бирадикалов, или удален атом водорода от ароматического атома углерода или гетероатома и другой атом водорода или электрон от другого ароматического

гетероатома из исходного ароматического гетероцикла с образованием бирадикалов, в которых один ароматический атом углерода и один ароматический гетероатом являются одновалентными, или каждый из двух разных ароматических гетероатомов является одновалентным. Гетероарилены также включают те, в которых гетероатом(ы) и/или гетероатомная группа(группы) заменяют один или несколько, но не все ароматические атомы углерода исходного арилена.

[0108] Неограничивающие примеры ариленов, которые необязательно замещены в остальных положениях, представляют собой фенил-1,2-ен, фенил-1,3-ен и фенил-1,4-ен, как показано в следующих структурах:



[0109] "Гетероалкил", как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не следует из контекста, относится к необязательно замещенному углеводороду с прямой или разветвленной цепью, полностью насыщенному или содержащему от 1 до 3 степеней ненасыщенности и содержащему от 1 до 12 атомов углерода и от 1 до 6 гетероатомов, типично от 1 до 5 гетероатомов, более типично один или два гетероатома или гетероатомных групп, выбранных из группы, состоящей из O, N/NH, Si и S, необязательно замещенных, где это допустимо, и включает каждый атом азота и серы, независимо необязательно окисленный до N-оксида, сульфоксида или сульфона, или при этом один или несколько атомов азота необязательно замещены или кватернизированы. Гетероатом(гетероатомы) или гетероатомная группа(группы) O, N/NH, S и/или Si могут находиться в любом внутреннем положении гетероалкильной группы или в концевом положении необязательно замещенной алкильной группы гетероалкила. В некоторых аспектах гетероалкил является полностью насыщенным или имеет 1 степень ненасыщенности и содержит от 1 до 6 атомов углерода и от 1 до 2 гетероатомов, а в других аспектах гетероалкил является незамещенным. Неограничивающими примерами являются $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$, $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{O}-\text{CH}_3$ и $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$. До двух гетероатомов могут быть последовательными, как показано на примере $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$ и $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$.

[0110] Гетероалкил обычно обозначается числом его смежных гетероатомов и неароматических атомов углерода, которое включает те смежные атомы углерода, которые присоединены к гетероатому (атомам), если не указано иное (например, как описано для аминокислоты) или не следует из контекста. Таким образом, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$ и $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$ оба являются C_4 -гетероалкилами, а $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{O}-\text{CH}_3$ и $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ оба являются C_5 -гетероалкилами. Гетероалкил может быть незамещенным или замещенным (т.е. необязательно замещенным) по своему гетероатому или гетероатомному

компоненту любой из групп, описанных в настоящей заявке, включая необязательный заместитель, определенный в настоящей заявке, и/или по алкильному компоненту 1-4 или более, типично 1-3 или 1 или 2 независимо выбранными группами, описанными в настоящей заявке, включая необязательный заместитель(заместители), как определено в настоящей заявке, за исключением алкила, (гетеро)арилалкила, алкенила, алкинила, другого гетероалкила или любой другой группы, когда замещенный алкенил будет отличаться по числу смежных неароматических атомов углерода по сравнению с незамещенным аминоклилом.

[0111] Аминоклил, определенный в настоящей заявке, представляет собой типичный гетероалкил, в котором концевой атом углерода алкильной части, отличный от его одновалентного атома углерода, замещен аминоклипом. При указании в качестве заместителя для структуры Маркуша или другого органического фрагмента, с которым он связан, одновалентный атом углерода алкильной части присоединяется к другому органическому фрагменту, с которым он должен быть связан, который типично представляет собой другой атом углерода, отличный от присоединенного к аминоклипу. Аминоклил отличается от других гетероалкилов обозначением в нумерации с указанием только количества смежных атомов углерода в его алкиленовой части.

[0112] «Гетероалкилен», как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не подразумевается контекстом, означает двухвалентную группу, полученную из гетероалкила (обсуждаемого выше), путем удаления атома водорода или электрона гетероатома из исходного гетероалкила с образованием двухвалентного фрагмента, представленного, но не ограничиваясь этим, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ и $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$. В случае гетероалкилена его гетероатом(гетероатомы) может находиться внутри или может занимать один или оба конца его необязательно замещенной алкиленовой цепи, так что один или оба этих гетероатома являются одновалентными. Когда гетероалкилен является компонентом Линкерного Компонента, обе ориентации этого компонента в Линкерном Компоненте допускаются, если это не указано или не подразумевается контекстом. Гетероалкилен обычно обозначается количеством его смежных гетероатомов и неароматических атомов углерода, которое включает те смежные атомы углерода, которые присоединены к гетероатому(атомам), если иное не указано или не следует из контекста. Алкилендиамин представляет собой гетероалкилен, в котором два одновалентных атома углерода алкилена замещены аминоклипами так, что каждый из их атомов азота является одновалентным, и отличается от других гетероалкиленов обозначением в нумерации с указанием только числа смежных атомов углерода его алкиленового фрагмента.

[0113] «Аминоклил», как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не следует из контекста, относится к фрагменту, группе или заместителю, имеющему основной атом азота, связанный с одним концом радикала алкиленового фрагмента, определенного выше,

для получения первичного амина, в котором основной азот дополнительно не замещен, или для получения вторичного или третичного амина, в котором основной амин дополнительно замещен одной или двумя независимыми выбранными необязательными замещенными C_1 - C_{12} алкильными группами, соответственно, описанными выше. В некоторых аспектах необязательно замещенный алкил представляет собой C_1 - C_8 алкил или C_1 - C_6 алкил, а в других аспектах этот алкил является незамещенным. В других аспектах основной азот вместе с его заместителями определяет необязательно замещенный C_3 - C_8 -гетероциклил, содержащий основной азот в качестве атома скелета, типично в форме азотсодержащего C_3 - C_6 или C_5 - C_6 -гетероциклила, необязательно замещенного. Когда аминокл используется в качестве переменной группы в структуре Маркуша, алкиленовый фрагмент аминокла присоединяется к формуле Маркуша, с которой он связывается через sp^3 углерод этого фрагмента, который, в некоторых аспектах, является другим концом радикала указанного выше алкилена. Аминокл обычно обозначается числом смежных атомов углерода в его алкиленовой части. Таким образом, примером C_1 аминокла является, без ограничения, $-CH_2NH_2$, $-CH_2NHCH_3$ и $-CH_2N(CH_3)_2$, а примером C_2 аминокла является, без ограничения, $-CH_2CH_2NH_2$, $-CH_2CH_2NHCH_3$ и $-CH_2CH_2N(CH_3)_2$.

[0114] “Необязательно замещенный алкил”, “необязательно замещенный алкенил”, “необязательно замещенный алкинил”, “необязательно замещенный арилалкил”, “необязательно замещенный гетероцикл”, “необязательно замещенный арил”, “необязательно замещенный гетероарил”, “необязательно замещенный гетероарилалкил” и подобные термины, используемые в настоящей заявке, если иное не указано или не следует из контекста, относятся к алкилу, алкенилу, алкинилу, арилалкилу, гетероциклу, арилу, гетероарилу, гетероарилалкилу или другому заместителю, фрагменту или группе, определенным или раскрытым в настоящей заявке, где атом(атомы) водорода такого заместителя, фрагмента или группы необязательно был замещен другим фрагментом(фрагментами) или группой(группами), или где алициклическая углеродная цепь, которая включает один из таких заместителей, фрагмент или группу, прерывается замещением углеродного атома(атомов) этой цепи другим фрагментом(фрагментами) или группой(группами). В некоторых аспектах алкеновая функциональная группа замещает два смежных sp^3 атома углерода алкильного заместителя, при условии, что углеродный радикал алкильного фрагмента не замещен, таким образом, необязательно замещенный алкил становится ненасыщенным алкильным заместителем.

[0115] Необязательные заместители, замещающие водород(водороды) в любом из вышеуказанных заместителей, фрагментов или групп, независимо выбраны из группы, состоящей из C_6 - C_{24} арила, C_5 - C_{24} гетероарила, гидроксила, C_1 - C_{20} алкокси, C_6 - C_{24} арилокси, циано, галогена, нитро, C_1 - C_{20} фторалкокси и amino, который охватывает $-NH_2$ и моно-, ди- и тризамещенные аминоклуппы, и их защищенных производных, или выбраны из группы, состоящей из $-X$, $-OR'$, $-SR'$, $-NH_2$, $-N(R')(R^{op})$, $-N(R^{op})_3$, $=NR'$, $-CX_3$, $-CN$, $-NO_2$, $-NR'C(=O)H$, $-NR'C(=O)R^{op}$, $-NR'C(=O)R^{op}$, $-C(=O)R'$, $-C(=O)NH_2$, -

$C(=O)N(R')R^{op}$, $-S(=O)_2R^{op}$, $-S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2N(R')R^{op}$, $-S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2N(R')R^{op}$, $-S(=O)_2OR'$, $-S(=O)R^{op}$, $-OP(=O)(OR')(OR^{op})$, $-OP(OH)_3$, $-P(=O)(OR')(OR^{op})$, $-PO_3H_2$, $-C(=O)R'$, $-C(=S)R^{op}$, $-CO_2R'$, $-C(=S)OR^{op}$, $-C(=O)SR'$, $-C(=S)SR'$, $-C(=S)NH_2$, $-C(=S)N(R')(R^{op})_2$, $-C(=NR')NH_2$, $-C(=NR')N(R')R^{op}$ и их солей, где каждый X независимо выбран из группы, состоящей из галогенов: -F, -Cl, -Br и -I; и где каждый R^{op} независимо выбран из группы, состоящей из C_1 - C_{20} алкила, C_2 - C_{20} алкенила, C_2 - C_{20} алкинила, C_6 - C_{24} арила, C_3 - C_{24} гетероциклила, C_5 - C_{24} гетероарила, защитной группы и пролекарственного фрагмента, или два из R^{op} вместе с гетероатомом, с которым они связаны, определяют C_3 - C_{24} гетероциклил; и R' представляет собой водород или R^{op} , где R^{op} выбран из группы, состоящей из C_1 - C_{20} алкила, C_6 - C_{24} арила, C_3 - C_{24} гетероциклила, C_5 - C_{24} гетероарила и защитной группы.

[0116] Типично необязательные заместители, которые присутствуют, выбраны из группы, состоящей из -X, -OH, $-OR^{op}$, -SH, $-SR^{op}$, $-NH_2$, $-NH(R^{op})$, $-NR'(R^{op})_2$, $-N(R^{op})_3$, $=NH$, $=NR^{op}$, $-CX_3$, -CN, $-NO_2$, $-NR'C(=O)H$, $NR'C(=O)R^{op}$, $-CO_2H$, $-C(=O)H$, $-C(=O)R^{op}$, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)NR'R^{op}$, $-S(=O)_2R^{op}$, $-S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2N(R')R^{op}$, $-S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2N(R')(R^{op})$, $-S(=O)_2OR'$, $-S(=O)R^{op}$, $-C(=S)R^{op}$, $-C(=S)NH_2$, $-C(=S)N(R')R^{op}$, $-C(=NR')N(R^{op})_2$ и их солей, где каждый X независимо выбран из группы, состоящей из -F и -Cl, где R^{op} типично выбран из группы, состоящей из C_1 - C_6 алкила, C_6 - C_{10} арила, C_3 - C_{10} гетероциклила, C_5 - C_{10} гетероарила и защитной группы; и R' независимо выбран из группы, типично состоящей из водорода, C_1 - C_6 алкила, C_6 - C_{10} арила, C_3 - C_{10} гетероциклила, C_5 - C_{10} гетероарила и защитной группы, независимо выбранной из R^{op} .

[0117] Более типично, необязательные заместители, которые присутствуют, выбраны из группы, состоящей из -X, $-R^{op}$, -OH, $-OR^{op}$, $-NH_2$, $-NH(R^{op})$, $-N(R^{op})_2$, $-N(R^{op})_3$, $-CX_3$, $-NO_2$, $-NHC(=O)H$, $-NHC(=O)R^{op}$, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)NHR^{op}$, $-C(=O)N(R^{op})_2$, $-CO_2H$, $-CO_2R^{op}$, $-C(=O)H$, $-C(=O)R^{op}$, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)NH(R^{op})$, $-C(=O)N(R^{op})_2$, $-C(=NR')NH_2$, $-C(=NR')NH(R^{op})$, $-C(=NR')N(R^{op})_2$, защитной группы и их солей, где каждый X представляет собой -F, где R^{op} независимо выбран из группы, состоящей из C_1 - C_6 алкила, C_6 - C_{10} арила, C_5 - C_{10} гетероарила и защитной группы; и R' выбран из группы, состоящей из водорода, C_1 - C_6 алкила и защитной группы, независимо выбранной из R^{op} .

[0118] В некоторых аспектах необязательный алкильный заместитель, который присутствует, выбран из группы, состоящей из $-NH_2$, $-NH(R^{op})$, $-N(R^{op})_2$, $-N(R^{op})_3$, $-C(=NR')NH_2$, $-C(=NR')NH(R^{op})$ и $-C(=NR')N(R^{op})_2$, где R' и R^{op} имеет значение, определенное выше для любой из R' или R^{op} . В некоторых из этих аспектов R' и/или R^{op} заместители вместе с атомом азота, с которым они связаны, обеспечивают основную функциональную группу Основного Компонента (BU), например когда R^{op} независимо выбран из группы, состоящей из водорода и C_1 - C_6 алкила. Алкиленовая, карбоциклильная, карбоцикло, арильная, ариленовая, гетероалкильная, гетероалкиленовая, гетероциклильная, гетероцикло, гетероарильная и гетероариленовая группы, описанные выше, аналогичным образом являются замещенными или незамещенными, с исключениями, если они имеются, описанными в определениях этих групп.

[0119] Другие необязательные заместители замещают углеродный атом в ациклической углеродной цепи алкильного или алкиленового фрагмента, группы или заместителя с обеспечением C₃-C₁₂ гетероалкила или C₃-C₁₂ гетероалкилена, и для этой цели их типично выбирают из группы, состоящей из -O-, -C(=O)-, -C(=O)O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NH-, -NHC(=O)-, -C(=O)NH-, S(=O)₂NH-, -NHS(=O)₂-, -OC(=O)NH- и -NHC(=O)O, необязательно замещенных, где -NH- представляет собой необязательно замещенную гетероатомную группу, путем замещения атома водорода независимо выбранным заместителем из группы, ранее описанной для необязательного заместителя -NH-.

[0120] “Необязательно замещенный гетероатом”, как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не следует из контекста, относится к гетероатому или гетероатомной группе в функциональной группе или другом органическом фрагменте, где гетероатом дополнительно не замещен или замещен любым из вышеуказанных фрагментов, содержащих одновалентный углеродный атом, включая, но не ограничиваясь этим, алкил, циклоалкил, алкенил, арил, гетероциклил, гетероарил, гетероалкил и (гетеро)арилалкил-, или окислен путем замещения одним или двумя =O заместителями. В некоторых аспектах “необязательно замещенный гетероатом” относится к ароматическому или неароматическому -NH- фрагменту, который является незамещенным или в котором атом водорода замещен любым из вышеуказанных заместителей. В других аспектах “необязательно замещенный гетероатом” относится к ароматическому скелетному атому азота гетероарила, в котором электрон этого гетероатома замещен любым из вышеуказанных заместителей. Для охвата обоих этих аспектов азотный гетероатом иногда указан как необязательно замещенный N/NH.

[0121] Поэтому в некоторых аспектах необязательный заместитель атома азота, который присутствует, выбран из группы, состоящей из C₁-C₂₀ алкила, C₂-C₂₀ алкенила, C₂-C₂₀ алкинила, C₆-C₂₄ арила, C₅-C₂₄ гетероарила, (C₆-C₂₄ арил)-C₁-C₂₀ алкила-, и (C₅-C₂₄ гетероарил)-C₁-C₂₀ алкила-, необязательно замещенного, как эти термины определены в настоящей заявке. В других аспектах необязательные заместители атома азота, который присутствуют, независимо выбраны из группы, состоящей из C₁-C₁₂ алкила, C₂-C₁₂ алкенила, C₂-C₁₂ алкинила, C₆-C₂₄ арила, C₅-C₂₄ гетероарила, (C₆-C₂₄ арил)-C₁-C₁₂ алкила- и (C₅-C₂₄ гетероарил)-C₁-C₁₂ алкила-, необязательно замещенного, из группы, состоящей из C₁-C₈ алкила, C₂-C₈ алкенила, C₂-C₈ алкинила, C₆-C₁₀ арила, C₅-C₁₀ гетероарила, (C₆-C₁₀ арил)-C₁-C₈ алкила- и (C₅-C₁₀ гетероарил)-C₁-C₈ алкила, или из группы, состоящей из C₁-C₆ алкила, C₂-C₆ алкенила, C₂-C₆ алкинила, C₆-C₁₀ арила, C₅-C₁₀ гетероарила, (C₆-C₁₀ арил)-C₁-C₆ алкила- и (C₅-C₁₀ гетероарил)-C₁-C₆ алкила-.

[0122] Когда необязательно замещенный атом азота является точкой ковалентного присоединения Пептидного Расщепляемого Компонента к РАВ или фрагменту типа РАВ саморасщепляющегося Спейсерного Компонента, который иногда обозначается как J, необязательный заместитель этого атома азота, если он присутствует, ограничивается тем,

к которому присоединен одновалентный sp^3 атом углерода, который не оказывает неблагоприятного воздействия на электронодонорную способность атома азота по сравнению с незамещенным атомом азота, как только его электронодонорная способность восстанавливается при расщеплении Расщепляемого Компонента, чтобы обеспечить возможность саморасщепления для высвобождения Лекарственного Компонента в виде свободного лекарственного средства.

[0123] “О-связанный фрагмент”, как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не следует из контекста, относится к фрагменту, группе или заместителю, который присоединяется к структуре Маркуша или другому органическому фрагменту, с которым он связывается, непосредственно через атом кислорода О-связанного фрагмента. Одновалентный О-связанный фрагмент имеет такое присоединение через одновалентный кислород и типично представляет собой -ОН, -ОС(=О)R^b (ацилокси), где R^b представляет собой -Н, необязательно замещенный насыщенный C₁-C₂₀ алкил, необязательно замещенный ненасыщенный C₁-C₂₀ алкил, необязательно замещенный C₃-C₂₀ циклоалкил, где циклоалкильный фрагмент является насыщенным или частично ненасыщенным, необязательно замещенный C₃-C₂₀ алкенил, необязательно замещенный C₂-C₂₀ алкинил, необязательно замещенный C₆-C₂₄ арил, необязательно замещенный C₅-C₂₄ гетероарил или необязательно замещенный C₃-C₂₄ гетероцикл, или R^b представляет собой необязательно замещенный C₁-C₁₂ алкил, необязательно замещенный C₃-C₁₂ циклоалкил, необязательно замещенный C₃-C₁₂ алкенил или необязательно замещенный C₂-C₁₂ алкинил, и где одновалентный О-связанный фрагмент также охватывает эфирные группы, которые представляют собой C₁-C₁₂ алкилокси (т.е. C₁-C₁₂ алифатический эфир) фрагменты, необязательно замещенные, где алкильный фрагмент является насыщенным или ненасыщенным.

[0124] В других аспектах одновалентный О-связанный фрагмент представляет собой одновалентный фрагмент, выбранный из группы, состоящей из необязательно замещенного фенокси, необязательно замещенного C₁-C₈ алкилокси (т.е. C₁-C₈ алифатический эфир) и -ОС(=О)R^b, где R^b представляет собой необязательно замещенный C₁-C₈ алкил, который типично является насыщенным или представляет собой ненасыщенный C₃-C₈ алкил, необязательно замещенный.

[0125] В некоторых других аспектах О-связанный фрагмент представляет собой одновалентный фрагмент, выбранный из группы, состоящей из -ОН и насыщенного C₁-C₆ алкилового эфира, ненасыщенного C₃-C₆ алкилового эфира, необязательно замещенного, и -ОС(=О)R^b, где R^b типично представляет собой C₁-C₆ насыщенный алкил, C₃-C₆ ненасыщенный алкил, C₃-C₆ циклоалкил, C₂-C₆ алкенил, или фенил, необязательно замещенный, или выбран этой группы, за исключением -ОН и/или фенила, или R^b представляет собой одновалентный фрагмент, выбранный из группы, состоящей из C₁-C₆ насыщенного алкила, C₃-C₆ ненасыщенного алкила и C₂-C₆ алкенила, необязательно замещенного, или одновалентный О-связанный фрагмент представляет собой

незамещенный О-связанный заместитель, выбранный из группы, состоящей из насыщенного C_1-C_6 алкилового эфира, ненасыщенного C_3-C_6 алкилового эфира и $-OC(=O)R^b$, где R^b представляет собой незамещенный насыщенный C_1-C_6 алкил или незамещенный ненасыщенный C_3-C_6 алкил.

[0126] Другие иллюстративные О-связанные заместители представлены в определениях для карбамата, простого эфира и карбоната, раскрытых в настоящей заявке, где одновалентный атом кислорода карбаматной, эфирной или карбонатной функциональной группы связан со структурой Маркуша или другим органическим фрагментом, с которым она связана.

[0127] В других аспектах О-связанный фрагмент с углеродом является двухвалентным и охватывает $=O$ и $-X-(CH_2)_n-Y-$, где X и Y независимо представляют собой S и O , и нижний индекс n имеет значение 2 или 3, с образованием спиро кольцевой системы с углеродом, с которым X и Y оба связаны.

[0128] “Галоген”, как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не следует из контекста, относится к фтору, хлору, бромю или иоду, и типично представляет собой $-F$ или $-Cl$.

[0129] “Защитная группа”, как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не следует из контекста, относится к группе, которая предотвращает или существенно снижает способность атома или функциональной группы, с которой она связана, участвовать в нежелательных реакциях. Типичные защитные группы для атомов или функциональных групп приведены Greene (1999), “Protective groups in organic синтез, 3rd ed.”, Wiley Interscience. Защитные группы для гетероатомов, таких как кислород, сера и азот, иногда используются, чтобы свести к минимуму или избежать их нежелательных реакций с электрофильными соединениями. В других случаях защитная группа используется для снижения или устранения нуклеофильности и/или основности незащищенного гетероатома. Неограничивающие примеры защищенного кислорода представлены группой $-OR^{PR}$, где R^{PR} представляет собой защитную группу для гидроксила, где гидроксил обычно защищен в виде сложного эфира (например, ацетата, пропионата или бензоата). Другие защитные группы для гидроксила позволяют избежать его влияния на нуклеофильность металлоорганических реагентов или других высокоосновных реагентов, для чего гидроксил обычно защищают в виде простого эфира, включая без ограничения алкиловые или гетероциклические эфиры (например, метиловые или тетрагидропираниловые эфиры), алкоксиметиловые эфиры (например, метоксиметиловые или этоксиметиловые эфиры), необязательно замещенные ариловые эфиры и силиловые эфиры (например, триметилсилил (TMS), триэтилсилил (TES), трет-бутилдифенилсилил (TBDPS), трет-бутилдиметилсилил (TBS/TBDMS), триизопропилсилил (TIPS) и [2-(триметилсилил)этокси]метилсилил (SEM)). Азот-защитные группы включают группы для первичных или вторичных аминов, как в $-NHR^{PR}$ или $-N(R^{PR})_2$, где по меньшей мере один из R^{PR} представляет собой группу, защищающую атом азота, или оба R^{PR} вместе

определяют группу, защищающую атом азота.

[0130] Защитная группа является подходящей для защиты, если она может предотвратить или по существу избежать нежелательных побочных реакций и/или преждевременной потери защитной группы в условиях реакции, необходимых для осуществления желаемого химического преобразования(преобразований) на другом участке молекулы и в процессе очистки вновь образованной молекулы, когда это необходимо, и может быть удалена в условиях, которые не оказывают неблагоприятного воздействия на структуру или стереохимическую целостность этой вновь образованной молекулы. В некоторых аспектах подходящими защитными группами являются группы, описанные ранее для защиты функциональных групп. В других аспектах подходящая защитная группа представляет собой защитную группу, используемую в реакциях пептидного связывания. Например, подходящей защитной группой для основного атома азота ациклического или циклического Основного Компонента является кислотолабильная карбаматная защитная группа, такая как трет-бутилоксикарбонил (BOC).

[0131] «Сложный эфир», как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не следует из контекста, относится к заместителю, фрагменту или группе, имеющей структуру $-C(=O)-O-$ для определения функциональной группы сложного эфира, в которой карбонильный атом углерода этой структуры не связан непосредственно с другим гетероатомом, но непосредственно связан с водородом или другим атомом углерода органического фрагмента, с которым он объединяется, и при этом одновалентный атом кислорода либо присоединен к тому же органическому фрагменту по другому атому углерода с образованием лактона, либо к структуре Маркуша, либо к какому-либо другому органическому фрагменту. Как правило, сложные эфиры в дополнение к сложноэфирной функциональной группе содержат или состоят из органического фрагмента, содержащего от 1 до 50 атомов углерода, типично от 1 до 20 атомов углерода, более типично от 1 до 8, от 1 до 6 или от 1 до 4 атомов углерода, и от 0 до 10 независимо выбранных гетероатомов (например, O, S, N, P, Si, но обычно O, S и N), типично от 0 до 2 гетероатомов, где органическая часть связана со структурой $-C(=O)-O-$ (т.е. через сложноэфирную функциональную группу), с обеспечением, таким образом, структуры, имеющей формулу органический фрагмент- $C(=O)-O-$ или $-C(=O)-O-$ органический фрагмент.

[0132] Когда сложный эфир представляет собой заместитель или переменную группу структуры Маркуша или другого органического фрагмента, с которым он связан, этот заместитель связан со структурой или другим органическим фрагментом через одновалентный атом кислорода сложноэфирной функциональной группы, таким образом, он является одновалентным O-связанным заместителем, который иногда указан как ацилокси. В таких случаях органический фрагмент, присоединенный к карбонильному углероду сложноэфирной функциональной группы, типично представляет собой C_1-C_{20} алкил, C_2-C_{20} алкенил, C_2-C_{20} алкинил, C_6-C_{24} арил, C_5-C_{24} гетероарил, C_3-C_{24}

гетероциклил или представляет собой замещенное производного любого из них, например, имеющее 1, 2, 3 или 4 заместителя, более типично представляет собой C_1 - C_{12} алкил, C_2 - C_{12} алкенил, C_2 - C_{12} алкинил, C_6 - C_{10} арил, C_5 - C_{10} гетероарил, C_3 - C_{10} гетероциклил или замещенное производного любого из них, например, имеющее 1, 2 или 3 заместителя, или представляет собой C_1 - C_8 алкил, C_2 - C_8 алкенил, C_2 - C_8 алкинил, или фенил или замещенное производного любого из них, например, имеющее 1 или 2 заместителя, где каждый независимо выбранный заместитель имеет значение, определенное в настоящей заявке для необязательных алкильных заместителей, или является незамещенным C_1 - C_6 алкилом или незамещенным C_2 - C_6 алкенилом.

[0133] Иллюстративные сложные эфиры, в качестве примера, но не ограничения, представляют собой ацетат, пропионат, изопропионат, изобутират, бутират, валерат, изовалерат, капроат, изокапроат, гексаноат, гептаноат, октаноат, фенилацетат и бензоат или имеют структуру $-OC(=O)R^b$, в которой R^b является таким, как определено для ацилокси-О-связанных заместителей, и обычно выбирается из группы, состоящей из метила, этила, пропила, изопропила, 2-метил-проп-1-ила, 2,2-диметил-проп-1-ила, проп-2-ен-1-ил и винила.

[0134] «Простой эфир», как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не следует из контекста, относится к органическому фрагменту, группе или заместителю, который включает 1, 2, 3, 4 или более -О- (т.е. окси) групп, которые не связаны с карбонильной группой(группами), типично 1 или 2, при этом никакие две -О-группы не являются непосредственно смежными (т.е. непосредственно присоединенными друг к другу). Как правило, простой эфир имеет формулу -О-органический фрагмент, где органический фрагмент является таким, как описано для органического фрагмента, связанного с функциональной сложноэфирной группой, или таким, как описано для необязательно замещенной алкильной группы. Когда эфир указывается как заместитель или переменная группа структуры Маркуша или другого органического фрагмента, с которым он связан, кислород функциональной группы эфира присоединяется к формуле Маркуша, с которой он связан, и иногда обозначается как «алкокси» группа, которая является иллюстративным О-связанным заместителем. В некоторых аспектах эфирный О-связанный заместитель представляет собой C_1 - C_{20} алкокси или C_1 - C_{12} алкокси, необязательно замещенный 1, 2, 3 или 4 заместителями, типично 1, 2 или 3, а в других аспектах представляет собой C_1 - C_8 алкокси или C_1 - C_6 алкокси, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, где каждый независимо выбранный заместитель является таким, как определено в настоящей заявке для необязательных алкильных заместителей, и в других аспектах эфирный О-связанный заместитель представляет собой незамещенный, насыщенный или ненасыщенный C_1 - C_4 -алкокси, такой как, например, но не ограничиваясь этим, метокси, этокси, пропокси, изопропокси, бутокси и аллилокси (т.е. $-OCH_2CH=CH_2$).

[0135] "Амид", как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не следует из контекста,

относится к фрагменту, содержащему необязательно замещенную функциональную группу, имеющую структуру $R-C(=O)N(R^c)-$ или $-C(=O)N(R^c)_2$, с которой никакой другой гетероатом не является непосредственно связанным с карбонильным углеродом, и где каждый R^c независимо представляет собой водород, защитную группу или независимо выбранный органический фрагмент, и R представляет собой водород или органический фрагмент, где органический фрагмент, независимо выбранный из R^c , является таким, как описано в настоящей заявке для органического фрагмента, связанного со сложноэфирной функциональной группой, или является таким, как описано в настоящей заявке для необязательно замещенной алкильной группы. Когда амид указан как заместитель или переменная группа структуры Маркуша или другого органического фрагмента, с которым он связан, атом азота амида или карбонильный углеродный атом амидной функциональной группы связан с такой структурой или другим органическим фрагментом. Амиды обычно получают путем конденсации галогенангидрида кислоты, такого как хлорангидрид кислоты, с молекулой, содержащей первичный или вторичный амин. Альтернативно, используют реакции сочетания амидов, хорошо известные в области синтеза пептидов, которые в некоторых аспектах протекают через активированный сложный эфир молекулы, содержащей карбоновую кислоту. Примеры получения амидных связей методами пептидного связывания представлены в Benoiton (2006) "Chemistry of peptide synthesis", CRC Press; Bodansky (1988) "Peptide synthesis: A practical textbook" Springer-Verlag; Frinkin, M. et al. "Peptide Synthesis" Ann. Rev. Biochem. (1974) 43: 419-443. Реагенты, используемые при получении активированных карбоновых кислот, представлены в Han, et al. "Recent development of peptide coupling agents in organic synthesis" Tet. (2004) 60: 2447-2476.

[0136] Таким образом, в некоторых аспектах амиды получают путем взаимодействия карбоновой кислоты с амином в присутствии связующего агента. Используемый здесь термин «в присутствии связующего агента» включает приведение карбоновой кислоты в контакт с связующим агентом, тем самым превращая кислоту в ее активированное производное, такое как активированный сложный эфир или смешанный ангидрид, с выделением или без выделения полученного активированного производного кислоты, с последующим или одновременным контактированием полученного активированного производного с амином. В некоторых случаях активированное производное получают *in situ*. В других случаях активированное производное может быть выделено для удаления любых нежелательных примесей.

[0137] "Карбонат", как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не следует из контекста, означает заместитель, фрагмент или группу, которые содержат функциональную группу, имеющую структуру $-O-C(=O)-O-$, которая определяет карбонатную функциональную группу. Типично карбонатные группы, используемые в настоящем изобретении, состоят из органического фрагмента, связанного с $-O-C(=O)-O-$ структурой, где органический фрагмент является таким, как описано в настоящей заявке для органического фрагмента,

связанного со сложноэфирной функциональной группой, например органический фрагмент-O-C(=O)-O-. Когда карбонат указан как заместитель или переменная группа структуры Маркуша или другого органического фрагмента, с которым он связан, один из одновалентных атомов кислорода карбонатной функциональной группы присоединен к этой структуре или органическому фрагменту, а другой связан с углеродным атомом другого органического фрагмента, как описано выше для органического фрагмента, связанного со сложноэфирной функциональной группой, или является таким, как описано в настоящей заявке для необязательно замещенной алкильной группы. В таких случаях карбонат представляет собой иллюстративный О-связанный заместитель.

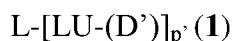
[0138] “Карбамат”, как этот термин используется в настоящей заявке как таковой или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не следует из контекста, означает заместитель, фрагмент или группу, которые содержат структуру необязательно замещенной карбаматной функциональной группы, представленную -O-C(=O)N(R^c)-, или -O-C(=O)N(R^c)₂, или -O-C(=O)NH(необязательно замещенный алкил)-, или -O-C(=O)N(необязательно замещенный алкил)₂, в которой независимо выбранный необязательно замещенный алкил(алкилы) является иллюстративным заместителем карбаматной функциональной группы, и типично представляет собой C₁-C₁₂ алкил или C₁-C₈ алкил, необязательно замещенный, более типично C₁-C₆ алкил или C₁-C₄ алкил, необязательно замещенный, где каждый R^c независимо выбран, при этом независимо выбранный R^c представляет собой водород, защитную группу или органический фрагмент, где органический фрагмент является таким, как описано в настоящей заявке для органического фрагмента, связанного со сложноэфирной функциональной группой, или является таким, как описано в настоящей заявке для необязательно замещенной алкильной группы. Типично карбаматные группы дополнительно включают органический фрагмент, независимо выбранный из R^c, где органический фрагмент является таким, как описано в настоящей заявке для органического фрагмента, связанного со сложноэфирной функциональной группой, связанный через -O-C(=O)-N(R^c)- структуру, где полученная структура имеет формулу органический фрагмент-O-C(=O)-N(R^c)- или -O-C(=O)-N(R^c)- органический фрагмент. Когда карбамат указан как заместитель или переменная группа структуры Маркуша или другого органического фрагмента, с которым он связан, одновалентный кислород (О-связанный) или азот (N-связанный) карбаматной функциональной группы присоединен к структуре Маркуша, с которой он связан. Связь карбаматного заместителя либо явно указана (N- или О-связанный), либо подразумевается из контекста, относящегося к этому заместителю. О-связанные карбаматы, описанные в настоящей заявке, являются иллюстративными одновалентными О-связанными заместителями.

[0139] “Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство”, как этот термин используется в настоящей заявке, если иное не указано или не следует из контекста, относится к конструкции, включающей Лигандный Компонент (L), включающий в себя или соответствующий по структуре нацеливающему агенту, и Лекарственный Компонент (D)

включающий в себя или соответствующий по структуре свободному лекарственному средству, где L и D связаны друг с другом через Линкерный Компонент (LU), где Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство способен селективно связываться с целевым фрагментом клетки-мишени. Термин “Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство” (LDC) в одном аспекте относится к множеству (т.е. композиции) отдельных соединений-конъюгатов, одинаковых или в некоторой степени различающихся по количеству единиц ауристатинного лекарственного средства, конъюгированных с каждым Лигандным Компонентом, и/или по местоположению на Лигандном Компоненте, с которым конъюгированы Лекарственные Единицы. В некоторых аспектах термин относится к совокупности (т.е. популяции или множеству) соединений-конъюгатов, имеющих по существу такой же Лигандный Компонент, и такой же Лекарственный Компонент и Линкерный Компонент, которые в некоторых аспектах имеют переменную нагрузку и/или распределение фрагментов ауристатинного Лекарственного средства-Линкер, присоединенных к каждому остатку антитела (как, например, когда количество Лекарственных Единиц любых двух соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство во множестве таких соединений одинаково, но положения их сайтов присоединения к Лигандному Компоненту разные). В этих случаях Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство описан путем усреднения лекарственной нагрузки соединений-конъюгатов.

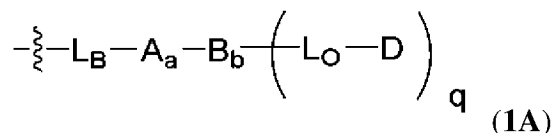
[0140] Среднее количество Лекарственных Единиц на Лигандный Компонент в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство представляет собой усредненное количество для популяции соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, иногда обозначенное нижним индексом p , который в некоторых аспектах отражает распределение этих соединений, различающихся преимущественно по количеству конъюгированных Лекарственных Единиц с Лигандным Компонентом и/или по их местоположению на Лигандном Компоненте, с которым они конъюгированы.

[0141] Соединение-конъюгат Лиганд-Лекарственное средство, как таковое или в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, по настоящему изобретению типично представлено структурой формулы 1:



[0142] или его соль, которая в некоторых аспектах представляет собой фармацевтически приемлемую соль, где L представляет собой Лигандный Компонент; LU представляет собой Линкерный Компонент; нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 24; и D' представляет собой от 1 до 4 Лекарственных Единиц. В некоторых аспектах Лигандный Компонент включает или соответствует по структуре антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, определяя, таким образом, включающий антитело Лигандный Компонент. В этих аспектах включающий антитело Лигандный Компонент способен селективно связываться с антигеном клетки-мишени для последующего высвобождения свободного лекарственного средства, где целевой антиген в одном аспекте представляет собой антиген раковой клетки, селективно распознаваемый

включающим антитело Лигандным Компонентом, и способен к интернализации в указанной раковой клетке вместе со связанным ADC соединением после указанного связывания для инициации внутриклеточного высвобождения свободного лекарственного средства после указанной интернализации. В любом из этих аспектов каждый фрагмент лекарственное средство-линкер в соединении-конъюгате Лиганд-Лекарственное средство имеет структуру формулы **1A**:



[0143] или его соль, которая в некоторых аспектах представляет собой фармацевтически приемлемую соль, где D в каждом фрагменте лекарственное средство-линкер представляет собой Лекарственный Компонент; волнистая линия указывает ковалентное связывание с L; L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающийся с лигандом; A представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент; нижний индекс a имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A, соответственно; B представляет собой необязательный Разветвляющийся Компонент; нижний индекс b имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие B, соответственно; L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент; D представляет собой Лекарственный Компонент, где Лекарственный Компонент соответствует по структуре свободному лекарственному средству; и нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 4,

[0144] где композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, включающая распределение или совокупность соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, представлена структурой формулы **1**, в которой нижний индекс p' заменен нижним индексом p, где нижний индекс p представляет собой число от около 2 до около 24.

[0145] «Лигандный Компонент», как этот термин используется в настоящей заявке, если иное не указано или не подразумевается из контекста, относится к нацеливающей части композиции или соединения Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, которая способна селективно связываться с распознаваемой ею молекулой-мишенью и включает или соответствует структуре нацеливающего агента. Лигандный Компонент (L) включает, без ограничения, Лигандные Компоненты из лиганды рецепторов, антитела к антигенам клеточной поверхности и субстраты транспортеров. В некоторых аспектах рецептор, антиген или транспортер для связывания соединением-конъюгатом из композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство присутствует в большем количестве на аномальных клетках по сравнению с нормальными клетками, чтобы вызвать желаемое улучшение переносимости или уменьшить потенциальное возникновение или тяжесть одного или нескольких нежелательных явлений, связанных с введением лекарственного средства в неконъюгированной форме. В других аспектах рецептор, антиген или транспортер для связывания соединением-конъюгатом из композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство присутствует в большем количестве на нормальных

клетках вблизи аномальных клеток, в отличие от нормальных клеток, которые удалены от участка аномальных клеток, чтобы свободное лекарственное средство селективно воздействовало на близлежащие аномальные клетки. Различные аспекты Лигандных Компонентов, в том числе включающие антитело Лигандные Компоненты, дополнительно описаны в вариантах осуществления изобретения.

[0146] “Нацеливающий агент”, как этот термин используется в настоящей заявке, если иное не указано или не подразумевается из контекста, относится к агенту, который способен селективно связываться с целевым фрагментом и который по существу сохраняет эту способность, когда он включен в Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство в качестве Лигандного Компонента. Таким образом, Лигандный Компонент Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство соответствует по структуре нацеливающему агенту, так что Лигандный Компонент представляет собой нацеливающую часть конъюгата. В некоторых аспектах нацеливающий агент представляет собой антитело или его фрагмент, которые селективно связываются с доступным антигеном, который характерен для аномальной клетки, или присутствует в более высоком числе копий по сравнению с нормальными клетками, или представляет собой доступный антиген, специфический для окружения, в котором эти клетки находятся, в такой степени, что достигается улучшенная переносимость по сравнению с введением свободного лекарственного средства. В других аспектах нацеливающий агент представляет собой лиганд рецептора, который селективно связывается с доступным рецептором, характерным для аномальных клеток или присутствующим в большем количестве на аномальных клетках, или с доступным рецептором на номинально нормальных клетках, характерных для среды, окружающей аномальные клетки. Как правило, нацеливающий агент представляет собой антитело, как определено в настоящей заявке, которое селективно связывается с целевой частью аномальной клетки млекопитающего, более типично с целевой частью аномальной клетки человека.

[0147] «Целевой фрагмент», как этот термин используется в настоящей заявке, представляет собой фрагмент, селективно распознаваемый нацеливающим агентом или нацеливающим фрагментом Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, который является его Лигандным Компонентом, который включает или соответствует по структуре нацеливающему агенту. В некоторых аспектах целевой фрагмент присутствует на аномальных клетках, внутри или поблизости от них и обычно присутствует в большем изобилии или количестве копий на этих клетках по сравнению с нормальными клетками или с окружением нормальных клеток, удаленных от участка аномальных клеток, чтобы обеспечить улучшенную переносимость по сравнению с введением свободного лекарственного средства или уменьшить вероятность одного или нескольких побочных эффектов от такого введения. В некоторых аспектах целевой фрагмент представляет собой антиген, доступный для селективного связывания антителом, которое является примером нацеливающего агента, который был включен или соответствует по структуре включающему антитело Лигандному Компоненту в композиции Конъюгатов Антитело-

Лекарственное средство или таком соединении. В других аспектах нацеливающий фрагмент представляет собой лиганд для внеклеточно доступного рецептора клеточной мембраны, который в некоторых аспектах интернализуется при связывании целевого фрагмента Лигандным Компонентом соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, где Лигандный Компонент включает или соответствует по структуре лиганду рецептора, и в других аспектах рецептор способен к пассивному или облегчающему транспорту соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство после его связывания с рецептором клеточной поверхности. В некоторых аспектах целевой фрагмент присутствует на аномальных клетках млекопитающих или на клетках млекопитающих, характерных для среды таких аномальных клеток. В некоторых из этих аспектов целевой фрагмент представляет собой антиген аномальной клетки млекопитающего, более типично целевой фрагмент аномальной клетки человека.

[0148] «Клетки-мишени», как этот термин используется в настоящей заявке, если иное не указано или не подразумевается из контекста, представляет собой предполагаемые клетки, с которыми предполагается взаимодействие Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство с целью ингибирования пролиферации или другой нежелательной активности аномальных клеток. В некоторых аспектах клетки-мишени представляют собой гиперпролиферирующие клетки или гиперактивированные иммунные клетки, которые являются типичными аномальными клетками. Как правило, эти аномальные клетки представляют собой клетки млекопитающих и, более типично, являются клетками человека. В других аспектах клетки-мишени находятся в непосредственной близости от аномальных клеток, так что действие Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство на близлежащие клетки оказывает предполагаемое воздействие на аномальные клетки. Например, близлежащие клетки могут быть эпителиальными клетками, характерными для аномальной сосудистой сети опухоли. Нацеливание на эти сосудистые клетки соединением-конъюгатом Лиганд-Лекарственное средство будет оказывать либо цитотоксическое, либо цитостатическое действие на эти клетки, что, как полагают, приводит к ингибированию доставки питательных веществ к близлежащим аномальным клеткам опухоли. Такое ингибирование косвенно оказывает цитотоксическое или цитостатическое действие на аномальные клетки, а также может оказывать прямое цитотоксическое или цитостатическое действие на близлежащие аномальные клетки за счет высвобождения лекарственной нагрузки вблизи этих клеток.

[0149] “Конъюгат антитело-лекарственное средство”, как этот термин используется в настоящей заявке, если иное не указано или не следует из контекста, представляет собой подгруппу Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство формулы 1 и поэтому относится к конструкции, включающей Лигандный Компонент (L), включающий в себя или соответствующий антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, и Лекарственный Компонент (D), включающий в себя или соответствующий по структуре биологически активному соединению, часто указанному как свободное лекарственное средство, где L и D связаны друг с другом через Линкерный Компонент (LU), где Конъюгат Антитело-

Лекарственное средство способен селективно связываться с целевым антигеном клетки-мишени, который в некоторых аспектах представляет собой антиген аномальной клетки, такой как раковая клетка, посредством его нацеливающего включающего антитело Лигандного Компонента.

[0150] Термин Конъюгат Антитело-Лекарственное средство (ADC) в одном аспекте относится к множеству (т.е. композиции) отдельных соединений-конъюгатов, имеющих одинаковое или в некоторой степени отличающееся количество Лекарственных Единиц, конъюгированных с каждым включающим антитело Лигандным Компонентом, и/или положениями на включающем антитело Лигандном Компоненте, с которыми конъюгированы Лекарственные Единицы. В некоторых аспектах термин относится к распределению или совокупности (т.е. популяции или множеству) соединений-конъюгатов, имеющих одинаковые фрагменты лекарственное средство-линкер и включающие антитело Лигандные Компоненты, которые делают возможными мутационные аминокислотные изменения и изменяющиеся паттерны гликозилирования, описанные в настоящей заявке, возникающие во время продукции антител из клеточной культуры, которые в некоторых аспектах имеют переменную нагрузку и/или распределение фрагментов лекарственное средство-линкер, присоединенных к каждому остатку антитела (как, например, когда количество Лекарственных Единиц любых двух соединений-конъюгатов Антитело-Лекарственное средство в множестве таких соединений одинаково, но положения их сайтов присоединения фрагментов лекарственное средство-линкер к включающему нацеливающему антителу Лигандному Компоненту различаются). В этих случаях Конъюгат Антитело-Лекарственное средство описан путем усреднения лекарственной нагрузки соединений-конъюгатов.

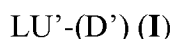
[0151] Среднее количество Лекарственных Единиц на Лигандный Компонент, представляющий собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в композиции Конъюгатов Антитело-Лекарственное средство, содержащих интактные фрагменты лекарственное средство-линкер, где Линкерные Компоненты являются неразветвленными, представляет собой усредненное количество для популяции соединений-конъюгатов Антитело-Лекарственное средство и в некоторых аспектах отражает распределение этих соединений, различающихся преимущественно по количеству конъюгированных Лекарственных Единиц с включающим антитело Лигандным Компонентом и/или по их местоположению. Когда Линкерные Компоненты являются разветвленными, тогда среднее количество отражает распределение фрагментов лекарственное средство-линкер для популяции соединений-конъюгатов Антитело-Лекарственное средство. В любом контексте r представляет собой число в пределах от около 2 до около 24, или от около 2 до около 20, и типично имеет значение около 2, около 4, или около 10, или около 8. В других контекстах r представляет собой количество Лекарственных Единиц, которые ковалентно связаны с одним включающим антитело Лигандным Компонентом Конъюгата Антитело-Лекарственное средство в популяции соединений-конъюгатов Антитело-Лекарственное средство, где соединения этой популяции в некоторых аспектах

преимущественно различаются по количеству и/или местоположениям Лекарственных Единиц или фрагментов лекарственное средство-линкер. В этом контексте p обозначен как p' и представляет собой целое число от 1 до 24, или от 1 до 20, типично от 1 до 12, или от 1 до 10, и более типично от 1 до 8. В других аспектах по существу все из доступных реакционноспособных функциональных групп нацеливающего агента, представляющего собой антитело, образуют ковалентные связи с фрагментами лекарственное средство-линкер с получением Лигандного Компонента, представляющего собой антитело, связанного с максимальным количеством фрагментов лекарственное средство-линкер, таким образом, p значение композиции Конъюгатов Антитело-Лекарственное средство такое же или почти такое же, как каждое из значений p' для каждого из соединений-конъюгатов Антитело-Лекарственное средство композиции, поэтому присутствуют только минорные количества соединений-конъюгатов Антитело-Лекарственное средство с более низкими значениями p' , если вообще присутствуют, как определено с использованием подходящего хроматографического метода, такого как электрофорез, НИС, обращеннофазовая ВЭЖХ или эксклюзионная хроматография.

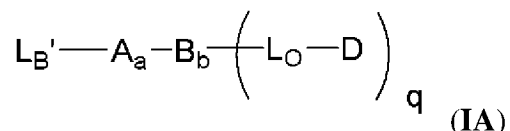
[0152] Среднее количество Лекарственных Единиц или фрагментов лекарственное средство-линкер на единицу Лигандного Компонента антитела в препарате, полученном в результате реакции конъюгации, в некоторых аспектах характеризуется обычными хроматографическими средствами, как описано выше, в сочетании с детекцией методом масс-спектропии. В других аспектах определяют количественное распределение соединений-конъюгатов по значениям p' . В этих случаях разделение, очистка и характеристика гомогенных соединений-конъюгатов Антитело-Лекарственное средство, в которых p' представляет собой определенное значение, из композиции Конъюгатов Антитело-Лекарственное средство от соединений с другой загрузкой Лекарственного Компонента или фрагментов лекарственное средство-линкер достигаться такими средствами, как вышеуказанный хроматографический метод.

[0153] “Соединение Лекарственное средство-Линкер”, как этот термин используется в настоящей заявке, если иное не указано или не следует из контекста, относится к соединению, имеющему Лекарственный Компонент, ковалентно присоединенный к предшественнику Линкерного Компонента (LU'), где LU' состоит из L_B' , иногда указанного как предшественник ковалентно связывающегося с лигандом фрагмента (L_B'), поскольку этот фрагмент содержит реакционноспособную или активируемую функциональную группу, где указанная реакционноспособная функциональная группа или активируемая функциональная группа после активации способна к взаимодействию с нацеливающим агентом с образованием ковалентной связи между ковалентно связывающимся с лигандом фрагментом (L_B) и Лигандным Компонентом, обеспечивая, таким образом, фрагмент лекарственное средство-линкер формулы **1A** для соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство формулы **1**, в частности ковалентной связи с включающим антитело Лигандным Компонентом, который включает или соответствует по структуре антителу,

[0154] Соединение Лекарственное средство-Линкер по настоящему изобретению типично имеет общую формулу **I**:



[0155] или его соль, которая в некоторых аспектах представляет собой фармацевтически приемлемую соль, где LU' представляет собой предшественника LU; и D' представляет собой от 1 до 4 Лекарственных Единиц, где соединение Лекарственное средство-Линкер дополнительно определено структурой формулы **IA**:



[0156] где L_B' состоит из реакционноспособной или активируемой функциональной группы, а остальные переменные группы имеют значение, определенное для формулы **IA**.

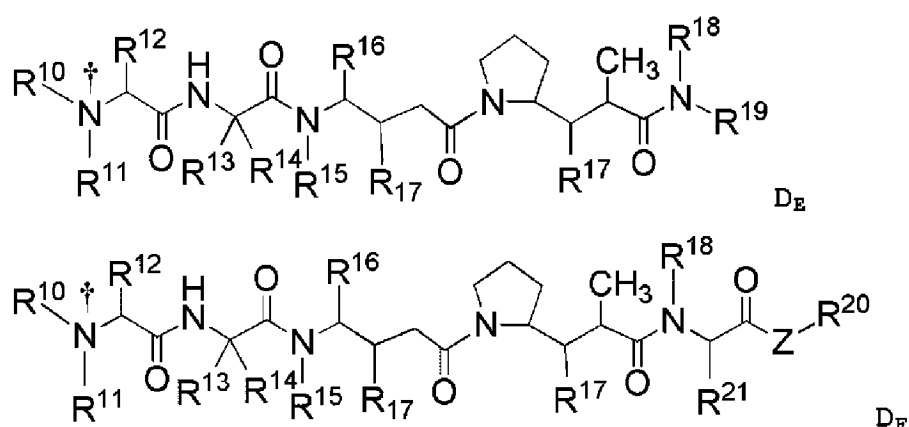
[0157] “Цитотоксическое средство”, как этот термин используется в настоящей заявке, если иное не указано или не следует из контекста, представляет собой соединение, способное индуцировать клеточную гибель или ингибировать пролиферацию или продолжающееся выживание клеток, которые типично являются аномальными клетками млекопитающего, *in vitro* или *in vivo*. Цитостатические средства, которые преимущественно проявляют терапевтический эффект путем ингибирования пролиферации аномальных клеток, а не путем непосредственного киллинга клеток, охватываются определением “цитотоксическое средство”. В некоторых аспектах цитотоксическое средство представляет собой свободное лекарственное средство как результат высвобождения Лекарственного Компонента из Конъюгата Антитело-Лекарственное средство.

[0158] “Лекарственный Компонент”, как эта фраза используется в настоящей заявке, если иное не указано или не следует из контекста, относится к остатку лекарственного средства, ковалентно присоединенному к Линкерному Компоненту (LU) в фрагменте лекарственное средство-линкер Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство (LDC) или ковалентно присоединенному к предшественнику Линкерного Компонента (LU') соединения Лекарственное средство-Линкер, и является высвобождаемым из фрагмента лекарственное средство-линкер или соединения Лекарственное средство-Линкер в виде свободного лекарственного средства. Свободное лекарственное средство может быть непосредственно включено в Лекарственный Компонент, или компонент свободного лекарственного средства может быть ковалентно присоединен к LU, или LU', или его промежуточному соединению с последующим дальнейшим формированием в полную структуру Лекарственного Компонента. Термин “Лекарственное средство” в контексте настоящей заявки отдельно или в сочетании с другим термином (таким как “Лекарственный Компонент”), не подразумевает, что соединение одобрено, подлежит одобрению или предполагается, что может быть одобрено правительственным органом для медицинского или ветеринарного лечения.

[0159] В некоторых аспектах свободное лекарственное средство, включенное в Лекарственный Компонент, представляет собой цитотоксическое соединение, типично соединение, которое содержит вторичный алифатический амин для удобства конъюгации, и включает ауристатиновые соединения, определенные в настоящей заявке.

[0160] “Ауристатиновое средство”, “ауристатиновое соединение” и подобные термины, используемые в настоящей заявке, если иное не указано или не следует из контекста, относятся к разрушающему тубулин средству на пептидной основе, обладающему цитотоксическим, цитостатическим или противовоспалительным действием, которое состоит из долапролинового и долаизолейцинового остатка или родственных им аминокислотных остатков.

[0161] Некоторые иллюстративные ауристатины имеют структуру D_E или D_F:



[0162] где Z представляет собой -O-, -S- или -N(R¹⁹)-, и где R¹⁰-R²¹ имеют значение, определенное в вариантах осуществления для ауристатиновых Лекарственных Единиц, и указанный атом азота (†) является атомом азота вторичного амина (например, один из R¹⁰, R¹¹ представляет собой водород, а другой представляет собой -CH₃). В этих аспектах ауристатин включен в Лекарственный Компонент через карбаматную функциональную группу, включающую этот атом азота. Эта карбаматная функциональная группа представляет собой иллюстративный второй Спейсерный Компонент (Y') и может претерпевать саморасщепление, которая в свою очередь присоединена к РАВ или РАВ-типа Спейсерному Компоненту (Y), поэтому нижний индекс у в любом из фрагментов лекарственное средство-линкер, описанных в настоящей заявке, равен 2.

[0163] Другие иллюстративные ауристатины включают, но не ограничиваются этим, АЕ, АФР, АЕВ, АЕВВ, ММАФ и ММАЕ, и те, которые описаны далее в вариантах осуществления изобретения. Синтез и структура ауристатинов описаны в публикациях патентных заявок США №№ 2003-0083263, 2005-0238649 2005-0009751, 2009-0111756 и 2011-0020343; Международной патентной публикации № WO 04/010957, Международной патентной публикации № WO 02/088172 и патентах США №№ 7659241 и 8343,928. Их структуры и способы их синтеза, раскрытые в этих документах, специально включены в настоящую заявку посредством ссылки.

[0164] “Его соль”, как эта фраза используется в настоящей заявке, если иное не

указано или не следует из контекста, относится к солевой форме соединения (например, лекарственному средству, соединению линкер-лекарственное средство или соединению LDC). Солевая форма соединения представляет собой одну или несколько внутренних солевых форм и/или предусматривает включение другой молекулы, такой как ацетат-ион, сукцинат-ион или другой противоион. Противоион в форме соли соединения обычно представляет собой органическую или неорганическую часть, которая стабилизирует заряд исходного соединения. Солевая форма соединения имеет в своей структуре один или несколько заряженных атомов. В случаях, когда несколько заряженных атомов являются частью солевой формы, присутствуют несколько противоионов и/или несколько заряженных противоионов. Следовательно, солевая форма соединения обычно имеет один или несколько заряженных атомов, соответствующих атомам несолевой формы соединения, и один или несколько противоионов. В некоторых аспектах несолевая форма соединения содержит по меньшей мере одну аминогруппу или другой основной фрагмент, и, соответственно, в присутствии кислоты получают кислотно-аддитивную соль с основным фрагментом. В других аспектах несолевая форма соединения содержит по меньшей мере одну карбоксильную группу или другой кислотный фрагмент, и, соответственно, в присутствии основания получают карбоксилатный или другой анионный фрагмент.

[0165] Примеры противоаниона и противокатионов в сложных солевых формах включают, но не ограничиваются этим, соли, такие как сульфат, трифторацетат, цитрат, ацетат, оксалат, хлорид, бромид, йодид, нитрат, бисульфат, фосфат, кислый фосфат, изоникотинат, лактат, салицилат, кислый цитрат, тартрат, олеат, таннат, пантотенат, битартрат, аскорбат, сукцинат, малеат, гентизинат, фумарат, глюконат, глюкуронат, сахарат, формиат, бензоат, глутамат, метансульфонат, этансульфонат, бензолсульфонат, п-толуолсульфонат и памоат (т.е. 1,1'-метилден-бис-(2-гидрокси-3-нафтоат)).

[0166] Выбор солевой формы соединения зависит от свойств, которыми должен обладать лекарственный препарат, включая адекватную растворимость в воде при различных значениях pH, в зависимости от предполагаемого способа(способов) введения, кристалличность с характеристиками текучести и низкую гигроскопичность (т.е. абсорбцию воды в зависимости от относительной влажности), пригодных для обращения и требуемого срока хранения путем определения химической стабильности и стабильности в твердом состоянии в ускоренных условиях (т.е. для определения деградации или изменений в твердом состоянии при хранении при 40°C и относительной влажности 75%).

[0167] «Фармацевтически приемлемая соль» представляет собой солевую форму соединения, которая подходит для введения субъекту, как описано в настоящей заявке, и в некоторых аспектах включает противокатионы или противоанионы, как описано Р. Н. Stahl and C. G. Wermuth, editors, *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, Weinheim/Zürich:Wiley-VCH/VHCA, 2002.

[0168] Термин «анти тело» в контексте настоящей заявки используется в самом

широком смысле, если иное не указано или не подразумевается контекстом, и конкретно включает интактные моноклональные антитела, поликлональные антитела, моноспецифические антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела) и фрагменты антител, которые проявляют желаемую биологическую активность, что требует, чтобы фрагмент антитела имел необходимое количество сайтов для присоединения к желаемому количеству фрагментов лекарственное средство-линкер и был способен к специфическому и селективному связыванию с антигеном раковой клетки-мишени. Нативная форма антитела представляет собой тетрамер и обычно состоит из двух идентичных пар цепей иммуноглобулина, каждая пара имеет одну легкую цепь и одну тяжелую цепь. В каждой паре переменные области легкой и тяжелой цепей (VL и VH) совместно в первую очередь ответственны за связывание с антигеном. Переменные домены легкой цепи и тяжелой цепи состоят из каркасной области, прерванной тремя гиперпеременными областями, также называемыми «определяющими комплементарность областями» или «CDR». В некоторых аспектах константные области распознаются иммунной системой и взаимодействуют с ней (см., например, Janeway et al., 2001, Immunol. Biology, 5th Ed., Garland Publishing, New York), чтобы проявлять эффекторную функцию. Антитело включает любой изотип (например, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA) или его подкласс (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2). Антитело может быть получено из любого подходящего вида. В некоторых аспектах антитело имеет человеческое или мышинное происхождение. Такие антитела включают человеческие, гуманизированные или химерные антитела.

[0169] В некоторых аспектах антитело находится в восстановленной форме, в которой антитело подверглось восстановлению своих шарнирных дисульфидных связей. Затем антитело вводят в Конъюгат Антитело-Лекарственное средство в качестве антитела, являющегося Лигандным Компонентом, путем взаимодействия одного или нескольких цистеиновых тиолов, полученных в результате такого восстановления, с соответствующим электрофилом соединения Линкер-Лекарственное средство, что приводит к ковалентному связыванию фрагмента линкер-лекарственное средство с включающим антитело Лигандным Компонентом или Линкерного промежуточного соединения, которое далее перерабатывается до его конечной формы в виде фрагмента лекарственное средство-линкер.

[0170] «Моноклональное антитело», как этот термин используется в настоящей заявке, относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, т.е. отдельные антитела, составляющие популяцию, идентичны, за исключением возможных естественных мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах, и/или различий в паттернах гликозилирования. Моноклональные антитела обладают высокой специфичностью и направлены против одного антигенного сайта. Определение «моноклональный» указывает на то, что антитело получено из по существу однородной популяции антител, и его не следует толковать как требующее получения антитела каким-либо конкретным способом.

[0171] Термины «селективно связывающийся» и «селективно связывается», используемые в настоящей заявке, если иное не указано или не подразумевается из контекста, относятся к антителу, его фрагменту или включающему антитело Лигандному Компоненту Конъюгата Антитело-Лекарственное средство, который способен связываться иммунологически селективным и специфическим образом с распознанным антигеном раковой клетки, а не с множеством других антигенов. Как правило, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает антиген раковой клетки-мишени с аффинностью по меньшей мере примерно 1×10^{-7} М, предпочтительно примерно от 1×10^{-8} до 1×10^{-9} М, 1×10^{-10} М или 1×10^{-11} М и связывается с этим заданным антигеном с аффинностью, которая по меньшей мере в два раза выше, чем его аффинность связывания с неспецифическим антигеном (например, BSA, казеином), отличным от близкородственного антигена, при этом указанная аффинность по существу сохраняется, когда антитело или его антигенсвязывающий фрагмент соответствует или включены в Конъюгат Антитело-Лекарственное средство в качестве Лигандного Компонента.

[0172] Термин «антиген», используемый в настоящей заявке, если иное не указано или не подразумевается из контекста, представляет собой молекулу, которая способна специфически связываться с неконъюгированным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, или с соединением-конъюгатом Антитело-Лекарственное средство, которое состоит из включающего антитело Лигандного Компонента, который включает или соответствует по структуре неконъюгированному антителу. В некоторых аспектах антиген представляет собой внеклеточно доступный белок клеточной поверхности, гликопротеин или углевод, преимущественно экспонируемый аномальными клетками по сравнению с нормальными клетками, удаленными от места расположения аномальных клеток, в частности белок или гликопротеин. В этих аспектах антиген клеточной поверхности способен к интернализации при селективном связывании соединением-конъюгатом композиции Конъюгатов Антитело-Лекарственное средство. После интернализации внутриклеточный процессинг Линкерного Компонента соединения-конъюгата Антитело-Лекарственное средство композиции высвобождает его Лекарственный Компонент в виде свободного лекарственного средства. Антигены, связанные с гиперпролиферирующими клетками, которые доступны на клеточной поверхности для соединения-конъюгата Антитело-Лекарственное средство, включают, в качестве примера, но не ограничиваясь этим, рак-специфический антиген, как описано в настоящей заявке.

[0173] Как правило, антиген связан с раком. В некоторых из этих аспектов антиген преимущественно экспонируется раковыми клетками по сравнению с нормальными клетками, которые не локализованы вблизи аномальных клеток, в частности раковые клетки, экспонирующие антиген, представляют собой раковые клетки млекопитающих. В других аспектах антиген раковой клетки представляет собой внеклеточно доступный антиген, преимущественно экспонируемый соседними нормальными клетками, которые характерны для окружающей среды раковых клеток, по сравнению с нормальными

клетками, удаленными от места расположения раковых клеток. Например, близлежащие клетки могут быть эпителиальными клетками, характерными для аномальной сосудистой сети опухоли. Нацеливание на эти сосудистые клетки Конъюгатом Антитело-Лекарственное средство будет оказывать цитотоксическое или цитостатическое действие на эти клетки, что, как полагают, приводит к ингибированию доставки питательных веществ к близлежащим раковым клеткам опухоли. Такое ингибирование будет косвенно оказывать цитотоксическое или цитостатическое действие на раковые клетки, а также может оказывать прямое цитотоксическое или цитостатическое действие на близлежащие раковые клетки после высвобождения Лекарственного Компонента в виде свободного лекарственного средства после иммунологического селективного связывания соединением-конъюгатом Антитело-Лекарственное средство (ADC). В любом из этих аспектов антиген клеточной поверхности способен к интернализации, что обеспечивает внутриклеточную доставку свободного лекарственного средства при его высвобождении из Конъюгата в клетку-мишень.

[0174] Предпочтительными интернализируемыми антигенами являются те, которые экспрессируются на поверхности раковых клеток с числом копий 10000 на клетку или более, 20000 на клетку или более или 40000 на клетку или более. Антигены, связанные с раковыми клетками, которые доступны на клеточной поверхности для ADC и могут интернализироваться, включают антиген, экспрессируемый на клетках лимфомы Ходжкина, особенно на клетках Рида-Штернберга, как показано на примере клеток Karpas 299 и некоторых раковых клеток лимфом высокой степени злокачественности, иногда называемых к Ki-1 лимфомами. Другие антигены включают раковые клетки почечно-клеточной аденокарциномы, как показано на примере клеток 789-О, раковые клетки В-клеточной лимфомы или лейкоза, включая неходжкинскую лимфому, хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL) и острый лимфолейкоз (ALL), как показано на примере клеток СНО, раковые клетки острого миелоидного лейкоза (AML), как показано на примере HL-60, и некоторые транспортные рецепторы, которые повсеместно экспрессируются на этих и других раковых клетках.

[0175] “Линкерный Компонент”, как этот термин используется в настоящей заявке, если иное не указано или не следует из контекста, относится к органическому фрагменту в Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство, находящемуся между, и ковалентно связанному с ними, Лекарственным Компонентом и Лигандным Компонентом (L), как эти термины определены в настоящей заявке, или представляет собой органический фрагмент в соединении Лекарственное средство-Линкер, который ковалентно связан с Лекарственным Компонентом и содержит реакционноспособную функциональную группу или фрагмент для взаимодействия с нацеливающим агентом с образованием ковалентной связи между L, который включает или соответствует по структуре нацеливающему агенту, и Линкерным Компонентом (LU). Поскольку Линкерный Компонент в фрагменте лекарственное средство-линкер способен к образованию такой связи, он считается предшественником Линкерного Компонента в Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство

и иногда указан как LU' . Линкерный Компонент включает первичный линкер (L_R) и вторичный линкер (L_O), который расположен между L_R и D в фрагменте лекарственное средство-линкер Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство или между L_R и D соединения Лекарственное средство-Линкер, который в последнем случае может быть представлен как L_R' для ясного указания, что он является предшественником L_R в Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство.

[0176] “Первичный линкер”, как этот термин используется в настоящей заявке, если иное не указано или не следует из контекста, относится к необходимому компоненту, входящему в состав Линкерного Компонента (LU) в Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство, который ковалентно связан с Лигандным Компонентом и остальной частью LU . Один компонент первичного линкера (L_R) представляет собой ковалентно связывающийся с лигандом (L_B) фрагмент, который в некоторых аспектах Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство (LDC) и соединений Лекарственное средство-Линкер, описанных в настоящей заявке, обеспечивает самостабилизирующийся (L_{SS}) линкер, определяя, таким образом, L_{SS} первичный линкер, и в других аспектах LDC обеспечивает самостабилизированный (L_S) линкер, получаемый из L_{SS} , определяя, таким образом, L_S первичный линкер, как эти термины далее описаны в настоящей заявке. Первичный линкер необязательно содержит Разветвляющийся Компонент (B) и первый необязательный Удлиняющий Компонент (A), в зависимости от значения нижних индексов a и b в Формуле 1A, при условии, что A присутствует, когда L_R представляет собой L_{SS} или L_S первичный линкер.

[0177] L_{SS} первичный линкер в LDC или соединении Лекарственное средство-Линкер характеризуется сукцинимидным (M^2) или малеимидным (M^1) фрагментом, соответственно, в непосредственной близости от Основного Компонента, тогда как L_S первичный линкер в композиции LDC или ее соединении характеризуется группой амида янтарной кислоты (M^3) в непосредственной близости от Основного Компонента. L_{SS} или L_S первичный линкер по настоящему изобретению также характеризуется первым необязательным Удлиняющим Компонентом (A), который присутствует и включает необязательно замещенную C_1 - C_{12} алкиленовую группу, связанную с азотом имида малеимидной или сукцинимидной кольцевой системы M^1 или M^2 , или азотом амида M^3 , где алкиленовая группа в некоторых аспектах замещена ациклическим Основным Компонентом и может быть дополнительно замещена необязательными заместителями, или в других аспектах является необязательно замещенной и включает циклический Основной Компонент, который необязательно замещен.

[0178] Малеимидный (M^1) фрагмент предшественника ковалентно связывающегося с лигандом фрагмента первичного линкера L_{SS} в соединении Лекарственное средство-Линкер, иногда показанный как L_{SS}' для ясного указания, что он является предшественником L_{SS} в Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство, способен к взаимодействию с атомом серы реакционноспособной тиоловой функциональной группы нацеливающего агента, приводя к тию-замещенному сукцинимидному фрагменту (M^2) в

ковалентно связывающемся с лигандом фрагменте L_{SS} первичного линкера Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, где тио-заместитель представляет собой Лигандный Компонент, включающий или соответствующий по структуре нацеливающему агенту. В аспектах, в которых нацеливающий агент представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, антитело становится связанным с M^2 через атом серы цистеинового остатка, полученного в результате восстановления дисульфидной связи или введенного методом генной инженерии. В результате, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является ковалентно связанным с L_{SS} первичным линкером в качестве включающего антитело Лигандного Компонента. Последующий гидролиз M^2 в L_{SS} первичном линкере приводит к L_S первичному линкеру, в котором M^2 преобразован в группу амида янтарной кислоты (M^3). Этот линкерный фрагмент может существовать в виде смеси двух региоизомеров (M^{3A} и M^{3B}), в зависимости от относительной реакционной способности двух карбонильных групп сукцинимидной кольцевой системы к гидролизу.

[0179] “Ковалентно связывающийся с лигандом фрагмент”, как этот термин используется в настоящей заявке, если иное не указано или не следует из контекста, относится к фрагменту Линкерного Компонента (LU) в Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство, который соединяет его Лигандный Компонент (L) и остальную часть Линкерного Компонента и получен в результате взаимодействия между соответствующим предшественником ковалентно связывающегося с лигандом фрагмента (L_B') предшественника Линкерного Компонента (LU') в соединении Лекарственное средство-Линкер и нацеливающим агентом, таким как антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Например, когда L_B' включает малеимидный фрагмент (M^1), взаимодействие этого фрагмента с реакционноспособной тиоловой функциональной группой нацеливающего агента преобразует L_B' в ковалентно связывающийся с лигандом (L_B) фрагмент, таким образом получают тио-замещенный сукцинимидный фрагмент. Когда нацеливающий агент представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, тио-заместитель включает атом серы антитела, составляющего Лигандный Компонент, который в некоторых аспектах обеспечивается цистеиновым остатком, полученным в результате восстановления внутрицепочечной дисульфидной связи или методом генной инженерии.

[0180] В другом примере, когда L_B' включает функциональную группу активированной карбоновой кислоты, взаимодействие этой функциональной группы с реакционноспособной аминогруппой нацеливающего агента, такой как эpsilon-аминогруппа лизинового остатка в антителе или его антигенсвязывающем фрагменте, превращает функциональную группу в амид, при этом эта амидная функциональная группа, образующаяся в результате этой реакции, является общей для L_B и присоединенного Лигандного Компонента, который в случае антитела или антигенсвязывающего фрагмента представляет собой включающий антитело Лигандный Компонент. Другие L_B фрагменты и их преобразование из L_B' -содержащих фрагментов

описаны в вариантах осуществления изобретения. В еще одном примере нацеливающий агент, имеющий реакционноспособную аминогруппу, дериватизируют бифункциональной молекулой с получением промежуточного соединения, что в некоторых случаях приводит к реакционноспособной тиоловой функциональной группе, которую конденсируют с L_B' фрагментом. В результате этой конденсации образованный таким образом L_B фрагмент имеет атомы, относимые за счет бифункциональной молекулы и L_B' .

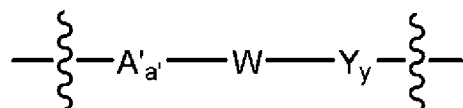
[0181] «Предшественник ковалентно связывающегося с лигандом фрагмента» представляет собой фрагмент Линкерного Компонента соединения Лекарственное средство-Линкер или его промежуточного соединения, который включает реакционноспособную или активируемую функциональную группу, где реакционноспособная функциональная группа или активируемая функциональная группа после активации способна ковалентно связываться с нацеливающим агентом, таким как антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в процессе получения Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство (LDC), включая Конъюгат Антитело-Лекарственное средство (ADC), после чего фрагмент, являющийся предшественником связывающегося с лигандом фрагмента (L_B'), превращается в ковалентно связывающийся с лигандом (L_B) фрагмент. В некоторых аспектах L_B' фрагмент имеет функциональную группу, способную взаимодействовать с нуклеофилом или электрофилом, нативным для антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, или вводится в антитело или антигенсвязывающий фрагмент путем химического преобразования или методом генной инженерии (см. выше) для его преобразования в состоящий из антитела Лигандный Компонент. В некоторых из этих аспектов нуклеофил представляет собой N-концевую аминогруппу легкой или тяжелой цепи антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или эпсилон-аминогруппу лизинового остатка этой легкой или тяжелой цепи.

[0182] В других аспектах нуклеофил представляет собой сульфгидрильную группу цистеинового остатка, введенную методом генной инженерии в легкую или тяжелую цепь антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или путем химического восстановления межцепочечного дисульфида антитела или антигенсвязывающего фрагмента. Еще в некоторых аспектах электрофил представляет собой альдегид, введенный путем селективного окисления углеводного фрагмента в гликановый компонент антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, или представляет собой кетон из неприродной аминокислоты, введенный в легкую или тяжелую цепь антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с использованием генно-инженерной пары тРНК/тРНК-синтетаза. Эти и другие способы введения реакционноспособной функциональной группы для обеспечения сайта конъюгации в антителе описаны в обзоре Behrens and Liu «Methods for site-specific Drug Conjugation to antibodies» mAB (2014) 6(1): 46-53.

[0183] “Вторичный линкер”, “вторичный линкерный фрагмент” и подобные термины, используемые в настоящей заявке, если иное не указано или не следует из контекста, относятся к органическому фрагменту в Линкерном Компоненте (LU), где

вторичный линкер (L_O) представляет собой компонент LU, который соединяет Лекарственный Компонент с первичным линкером (L_R) и содержит ковалентно связывающийся с лигандом (L_B) фрагмент, первый необязательный Удлиняющий Компонент и/или необязательный Разветвляющийся Компонент (B), а в некоторых аспектах обеспечивает самостабилизирующийся (L_{SS}) первичный линкер Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство (LDC), такого как Конъюгат Антитело-Лекарственное средство (ADC), или соединения Лекарственное средство-Линкер, полезного для получения Конъюгата, или обеспечивает самостабилизированный (L_S) первичный линкер LDC/ADC соединения в результате гидролиза L_{SS} . В случаях, когда L_R представляет собой L_{SS} или L_S , присутствует первый необязательный Удлиняющий Компонент. В этих аспектах L_R присоединяется к L_O через гетероатом или функциональную группу из первого необязательного Удлиняющего Компонента (A), который присутствует.

[0184] Вторичный линкер соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство или соединения Лекарственное средство-Линкер типично имеет структуру:

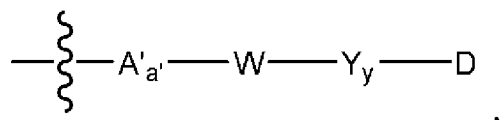


[0185]

[0186] когда нижний индекс b имеет значение 0, где волнистая линия смежная с A' указывает место ковалентного присоединения L_O к первичному линкеру; волнистая линия смежная с Y указывает место ковалентного присоединения L_O к Лекарственному Компоненту; A' представляет собой второй необязательный Спейсерный Компонент, или в некоторых аспектах представляет собой субъединицу первого необязательного Удлиняющего Компонента, который присутствует, нижний индекс a' имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A' , соответственно; Y представляет собой Спейсерный Компонент, и нижний индекс y имеет значение 0, 1 или 2, указывая на отсутствие или присутствие одного или двух Спейсерных Компонентов, соответственно; и W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент, где Пептидный Расщепляемый Компонент обеспечивает сайт распознавания, который имеет в целом бóльшую селективность в отношении протеаз гомогената опухолевой ткани по сравнению с протеазами в гомогенате нормальной ткани, где опухолевая ткань состоит из раковых клеток-мишеней, а нормальная ткань состоит из не являющихся мишенью нормальных клеток, при этом такая нецелевая цитотоксичность Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство ответственна, по меньшей мере частью, за нежелательное явление, часто связанное с введением терапевтически эффективного количества субъекту-млекопитающему, нуждающемуся в этом. Когда нижний индекс b имеет значение 0, A' , если присутствует, становится субъединицей A, в этом случае вторичный линкер имеет структуру $-W-Y_y-$. В любом из этих аспектов W, Y и D расположены в линейной конфигурации относительно остальной части LU/LU', как представлено формулой $-W-Y_y-D$, в которой W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент и нижний

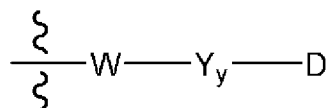
индекс y имеет значение 0, 1 или 2. Когда нижний индекс y равен 1 или 2, после протеазного расщепления следует саморасщепление саморасщепляющегося Спейсерного Компонента, присоединенного к W , для высвобождения D или $Y'-D$, если второй Спейсерный Компонент (Y') присутствует, который расщепляется с полным высвобождением D в виде свободного лекарственного средства.

[0186] Вторичный линкер (L_O), связанный с D в Линкерном Компоненте, как проиллюстрировано, когда только один Лекарственный Компонент присоединен к LU , где W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент, обычно представлен структурой



[0188]

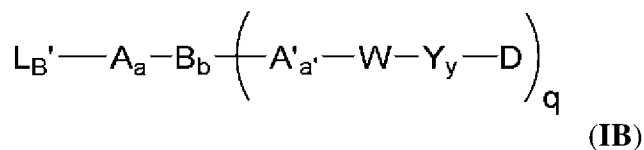
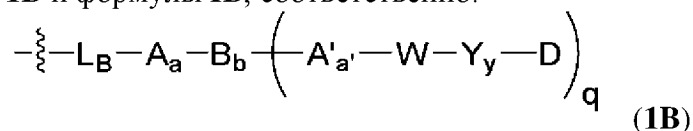
когда нижний индекс b имеет значение 1, или



[0189] поскольку $A'_{a'}$ рассматривается как субъединица первого необязательного Удлиняющего Компонента, когда нижний индекс b равен 0, а нижний индекс a' равен 1;

[0190] где D представляет собой Лекарственный Компонент, а остальные переменные группы имеют значение, определенное для L_O ;

[0191] фрагмент лекарственное средство-линкер или соединение Лекарственное средство-Линкер, включающее этот вторичный линкер, типично имеет структуру формулы **1B** и формулы **1B'**, соответственно:



[0192] где L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающийся с лигандом, определенный в настоящей заявке, который представляет собой компонент первичного линкера (L_R) Линкерного Компонента (LU) фрагмента лекарственное средство-линкер соединения-онъюгата Лиганд-Лекарственное средство; и $L_{B'}$ представляет собой фрагмент, ковалентно связывающийся с лигандом, определенный в настоящей заявке, который представляет собой компонент первичного линкера (L_R') Линкерного Компонента (LU') в соединении Лекарственное средство-Линкер, и иногда указан как предшественник ковалентно связывающегося с лигандом фрагмента, предшественник первичного линкера и предшественник Линкерного Компонента для L_R ,

L_B и L_U , соответственно, Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, когда соединение Лекарственное средство-Линкер используют при получении Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство; A представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент; нижний индекс a имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A , соответственно; B представляет собой необязательный Разветвляющийся Компонент, нижний индекс b имеет значение 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие B , соответственно, где A' представляет собой субъединицу A , когда нижний индекс b равен 0, нижний индекс a равен 1 и нижний индекс a' равен 1; нижний индекс q имеет значение от 1 до 4, где L_B/L_B' и A и B , если присутствует, являются компонентами L_R/L_R' , и при условии, что нижний индекс q имеет значение от 2 до 4, когда нижний индекс b имеет значение 1, и нижний индекс q имеет значение 1, когда нижний индекс b имеет значение 0; и остальные переменные группы имеют значение, определенное для L_O .

[0193] “Малеимидный фрагмент” в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не следует из контекста, относится к компоненту первичного линкера соединения Лекарственное средство-Линкер, который в некоторых аспектах представляет собой компонент самостабилизирующегося линкера, где этот первичный линкер иногда представлен как L_R' или L_{SS}' для ясного указания, что он является предшественником L_R/L_{SS} в Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство. Малеимидный фрагмент (M^1) способен участвовать в реакции присоединения по Михаэлю (т.е. присоединение 1,4-конъюгата) по атому серы реакционноспособной тиоловой функциональной группы нацеливающего агента, такого как антители или его антигенсвязывающий фрагмент, с получением тио-замещенного сукцинимидного (M^2) фрагмента, где тио-заместитель представляет собой Лигандный Компонент, который включает или соответствует структуре нацеливающего агента, как проиллюстрировано в настоящей заявке для включающего антители Лигандного Компонента композиции Конъюгатов Антитело-Лекарственное средство или такого соединения. Этот M^1 фрагмент соединения Лекарственное средство-Линкер связан с остальной частью первичного линкера, типично с первым необязательным Удлиняющим Компонентом (A), который присутствует, когда M^1 фрагмент представляет собой компонент L_{SS}' , или с вторичным линкером (L_O), если оба A и B отсутствуют, через атом азота его имида.

[0194] За исключением атома азота имида, M^1 фрагмент обычно незамещен, но может быть асимметрично замещен по циклической двойной связи его малеимидной кольцевой системы. Такое замещение может привести к региохимически предпочтительному сопряженному присоединению атома серы реакционноспособной тиоловой функциональной группы нацеливающего агента к менее затрудненному или более электронно-дефицитному атому углерода с двойной связью (в зависимости от более доминирующего вклада) малеимидной кольцевой системы. Это сопряженное присоединение приводит к образованию сукцинимидного (M^2) фрагмента, который тио-замещен Лигандным Компонентом через атом серы из тиольной функциональной группы, обеспечиваемой нацеливающим агентом.

[0195] “Сукцинимидный фрагмент” в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не следует из контекста, относится к одному типу ковалентно связывающегося с лигандом (L_B) фрагмента первичного линкера, который, в свою очередь, является компонентом Линкерного Компонента Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, такого как Конъюгат Антитело-Лекарственное средство, и является результатом реакции присоединения по Михаэлю атома серы реакционноспособной тиоловой функциональной группы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента к малеимидной кольцевой системе малеимидного фрагмента (M^1), который представляет собой один тип предшественника ковалентно связывающегося с лигандом фрагмента (L_B') в соединении Лекарственное средство-Линкер или его M^1 -содержащем промежуточном соединении. Сукцинимидный (M^2) фрагмент поэтому состоит из тιο-замещенной сукцинимидной кольцевой системы, в которой атом азота имиды замещен остальной частью первичного линкера, который типично будет представлять собой первый необязательный Удлиняющий Компонент (А), который присутствует. В некоторых аспектах этот атом азота связан с первым необязательным Удлиняющим Компонентом (А), который присутствует, через необязательно замещенный C_1 - C_{12} алкиленовый фрагмент, включающий этот Компонент. Когда первичный линкер представляет собой самостабилизирующийся линкер, этот алкиленовый фрагмент включает циклический Основной Компонент в первый необязательный Удлиняющий Компонент, который присутствует, или замещен ациклическим Основным Компонентом, как описано ниже, либо является необязательно замещенным, и имеет свой M^2 фрагмент необязательно замещенным заместителем(заместителями) на сукцинимидной кольцевой системе, которая могла присутствовать на M^1 предшественнике.

[0196] Таким образом, необязательно замещенный C_1 - C_{12} алкиленовый фрагмент А, в необязательной комбинации с [HE], который представляет собой необязательный Усиливающий Гидролиз Компонент, либо ковалентно связан непосредственно с необязательным вторичным линкером (L_O), который присутствует, когда нижний индекс b имеет значение 0, либо опосредованно с L_O через -[HE]-В-, когда нижний индекс b имеет значение 1, в фрагменте лекарственное средство-линкер формулы **1В** или соединении Лекарственное средство-Линкер формулы **1В**. В этих случаях, когда нижний индекс b имеет значение 0, нижний индекс a равен 1 и нижний индекс a' равен 1, А представлен формулой $-A_1[HE]-A_2-$, где A_1 представляет собой первую субъединицу А и включает необязательно замещенную C_1 - C_{12} алкиленовую группу в необязательной комбинации с HE, и A' , ранее указанный как компонент L_O , становится A_2 , который теперь является второй субъединицей А. В этих случаях, когда нижний индекс b равен 1 и нижний индекс a равен 1 и нижний индекс a' равен 1, A' представляет собой компонент вторичного линкера, и А представляет собой единый компонент в необязательной комбинации с [HE] или необязательно включает две субъединицы, который представлен формулой $-A[HE]-A_O-$, где A_O представляет собой необязательную субъединицу А. Когда A_O присутствует,

А также представлен формулой $-A_1[HE]-A_2-$.

[0197] Если присутствует в самостабилизирующемся линкере (L_{SS}) в Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство, гидролиз сукцинимидной кольцевой системы тио-замещенного сукцинимидного (M^2) фрагмента, который является рН-контролируемым из-за присутствия вблизи него основной функциональной группы ациклического или циклического Основного Компонента, обеспечивает в некоторых случаях региохимические изомеры групп амида янтарной кислоты (M^3) в самостабилизированном линкере (L_S) в результате его асимметричного замещения тио-заместителем. Относительные количества этих изомеров будут присутствовать, по меньшей мере частью, из-за разницы в реакционной способности двух карбонильных углеродов M^2 , что можно отнести за счет, по меньшей мере частью, любого заместителя(заместителей), которые присутствовали в M^1 предшественнике. Также ожидают, что гидролиз будет происходить до некоторой степени, когда L_R , содержащий M^2 фрагмент, который не содержит Основной Компонент, но является высоковариабельным по сравнению с контролируемым гидролизом, обеспечиваемым Основным Компонентом.

[0198] В некоторых аспектах эти необязательные заместители на сукцинимидной кольцевой системе M^2 не присутствуют, а первый необязательный Удлиняющий Компонент присутствует и состоит из необязательно замещенного C_1-C_{12} алкиленового фрагмента, необязательно присоединенного к $[HE]$, который представляет собой необязательный Усиливающий Гидролиз Компонент, в положении, удаленном от его сайта связывания с атомом азота имиды. В этом аспекте А представляет собой единый компонент или дополнительно включает A' , который представляет собой необязательную субъединицу А, которая присутствует, когда нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a' равен 1, и присоединен к $[HE]$, который также присутствует, таким образом, А имеет формулу $-A[HE]-A'-$, или когда нижний индекс b имеет значение 1 и нижний индекс a' равен 1, A' представляет собой присутствующий компонент вторичного линкера, таким образом, А представлен формулой $-A[HE]-A_O-$.

[0199] “Группа амида янтарной кислоты” в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не следует из контекста, относится к компоненту самостабилизированного линкера (L_S) Линкерного Компонента в Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство, таком как Конъюгат Антитело-Лекарственное средство, и имеет структуру гемикислотного остатка амида янтарной кислоты с замещением азота амида другим компонентом L_S , при этом такой компонент типично представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент (А), или его субъединицу, который присутствует и включает C_1-C_{12} алкиленовую группу, необязательно присоединенную к $[HE]$. Возможные структуры для А, когда нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a равен 0 или 1, указаны формулой $-A[HE]-A'_{a'}$ -, в которой A' , ранее связанный с вторичным линкером, либо отсутствует, таким образом нижний индекс a' равен 0, либо, когда нижний индекс a' равен 1, A' присутствует в качестве субъединицы А. Когда эта субъединица присутствует, А представлен формулой $A_1[HE]-A_2-$, где A_1 представляет собой первую субъединицу А,

которая состоит из необязательно замещенной C_1 - C_{12} алкиленовой группы, необязательно присоединенной к [HE], и A_2 представляет собой вторую субъединицу A, ранее указанную как A' . Возможные структуры для A, когда нижний индекс b равен 1 и нижний индекс a равен 1, указаны формулой $-A[HE]-A_O-$, в которой A_O представляет собой необязательную субъединицу A, если присутствует. Когда эта субъединица отсутствует, A представляет собой единый отдельный компонент, а когда A_O присутствует, A представлен формулой $A_1[HE]-A_2-$, где A_1 представляет собой первую субъединицу A, которая состоит из необязательно замещенной C_1 - C_{12} алкиленовой группы, необязательно присоединенной к [HE], и A_2 , ранее указанный как A_O , представляет собой вторую субъединицу A.

[0200] В некоторых аспектах алкиленовый фрагмент включает циклический Основной Компонент, а в других аспектах замещен ациклическим Основным Компонентом, и в любом аспекте он в иных случаях является необязательно замещенным, при этом группа амида янтарной кислоты (M^3) имеет дополнительное замещение группой L-S-, где L представляет собой Лигандный Компонент, такой как Лигандный Компонент, включающий в себя или соответствующий по структуре нацеливающему агенту, такому как антители или его антигенсвязывающий фрагмент, и S представляет собой атом серы из этого нацеливающего агента, антитела или антигенсвязывающего фрагмента. M^3 фрагмент получают, когда тиио-замещенная сукцинимидная кольцевая система сукцинимидного (M^2) фрагмента в самостабилизирующемся первичном линкере подвергается расщеплению одной из ее связей карбонил-азот в результате гидролиза, которое происходит с участием Основного Компонента.

[0201] Таким образом, M^3 фрагмент содержит свободную карбоновокислотную функциональную группу и амид функциональной группы, азотный гетероатом которого связан с остальной частью первичного линкера и замещен L-S- по углероду, который является альфа относительно этой карбоновокислотной или амидной функциональной группы, в зависимости от участка гидролиза его M^2 предшественника. Не ограничиваясь теорией, считается, что вышеуказанный гидролиз, приводящий к M^3 фрагменту, обеспечивает Линкерный Компонент (LU) в Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство, где менее вероятной будет преждевременная потеря конъюгатом его нацеливающего Лигандного Компонента (L) в результате элиминации тиио-заместителя.

[0202] “Самостабилизирующийся линкер” в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не следует из контекста, относится к первичному линкеру Линкерного Компонента (LU) в Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство, таком как Конъюгат Антитело-Лекарственное средство, который имеет M^2 -содержащий компонент, или первичному линкеру предшественника Линкерного Компонента (LU') в соединении Лекарственное средство-Линкер, имеющем M^1 -содержащий компонент, где этот компонент может быть обозначен как $L_{SS'}$, чтобы указать, что он является предшественником M^2 -содержащего компонента L_{SS} в LDC. Самостабилизирующийся линкер впоследствии подвергается превращению в контролируемых условиях гидролиза в соответствующий самостабилизированный линкер (L_S). Этому гидролизу способствует

Основной Компонент L_{SS} , так что LDC/ADC, включающий L_{SS} , становится более устойчивым к преждевременной потере своего Лигандного Компонента благодаря тому, что его Линкерный Компонент (LU) теперь состоит из L_S . Первичный линкер L_{SS} , в дополнение к его M^1 или M^2 фрагменту, дополнительно включает первый необязательный Удлиняющий Компонент (A), который должен присутствовать, где A состоит из C_1 - C_{12} алкиленовой группы, необязательно в комбинации с [HE], где эта комбинация иногда обозначается как A_1 , когда A дополнительно включает необязательную субъединицу (A_O), которая присутствует, когда нижний индекс b равен 1, или A дополнительно включает A' , когда нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a' равен 1, где при любом значении нижнего индекса b эта дополнительно присутствующая субъединица обозначается как A_2 . Когда A может существовать как отдельная дискретная единица или в виде двух дискретных единиц, обе возможности представлены формулой $-A[HE]-A_O-$, когда нижний индекс b равен 1, или $A[HE]-A'_{a'}$, когда нижний индекс b равен 0, которая для любого значения нижнего индекса b становится $-A[HE]-$ или $-A_1[HE]-A_2-$, в зависимости от отсутствия или присутствия, соответственно, второй субъединицы. В любом варианте A в L_{SS} его алкиленовая группа включает циклический Основной Компонент или замещена ациклическим Основным Компонентом, а в иных случаях является необязательно замещенной.

[0203] Таким образом, когда первичный линкер соединения Лекарственное средство-Линкер представляет собой L_{SS} , иногда обозначаемый как L_{SS}' , чтобы указать, что он является предшественником L_{SS} в Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство, этот первичный линкер содержит первый необязательный Удлиняющий Компонент (A), который должен присутствовать, и малеимидный (M^1) фрагмент, через который должен быть присоединен нацеливающий агент, который в случае антитела или его антигенсвязывающего фрагмента обеспечивает включающий антитело Лигандный Компонент. В этих аспектах C_1 - C_{12} алкиленовая группа A L_{SS} связана с имидным азотом малеимидной кольцевой системы M^1 и с остальной частью Линкерного Компонента, последнюю из которых необязательно получают через $[HE]-A_O-B-$, когда индекс b равен 1, или $[HE]-A'_{a'}$, когда индекс b равен 0, в зависимости от отсутствия или присутствия A_O/A' и [HE]. В некоторых из этих аспектов [HE], который представляет собой фрагмент, усиливающий гидролиз, включает или состоит из необязательно замещенного электроноакцепторного гетероатома или функциональной группы, которые в некоторых аспектах в дополнение к BU могут повышать скорость гидролиза M^2 фрагмента в соответствующем L_{SS} фрагменте соединения LDC/ADC. После включения соединения Лекарственное средство-Линкер в соединение LDC/ADC L_{SS} теперь содержит сукцинимидный (M^2) фрагмент, который тию-замещен Лигандным Компонентом (т.е. присоединение Лигандного Компонента к его фрагменту лекарственное средство-линкер произошло посредством присоединения по Михаэлю атома серы реакционноспособной тиоловой функциональной группы нацеливающего агента к малеимидной кольцевой системе M^1).

[0204] В некоторых аспектах циклический Основной Компонент (сBU) соответствует по структуре ациклическому Основному Компоненту посредством формальной циклизации с основным азотом этого Компонента, так что структура циклического Основного Компонента включена в первый необязательный Удлиняющий Компонент как необязательно замещенный спиро C_4 - C_{12} гетероцикло. В таких конструкциях спиро углерод связан с азотом имида малеимида в M^1 и, следовательно, с этим азотом в M^2 , и дополнительно связан с остальной частью первичного линкера L_{SS} , который включает описанный выше первый необязательный Удлиняющий Компонент (A), который необязательно присутствует, через $[-HE]-A_O-$ или $[HE]-A_a'-$, в фрагменте лекарственное средство-линкер формулы **1B** или соединении Лекарственное средство-Линкер формулы **1B**. В этих аспектах циклический BU способствует гидролизу сукцинимидного фрагмента M^2 до его соответствующей формы(форм) раскрытого кольца, представленной M^3 , качественно сходным образом с ациклическим Основным Компонентом, который также может быть усилен посредством $[HE]$.

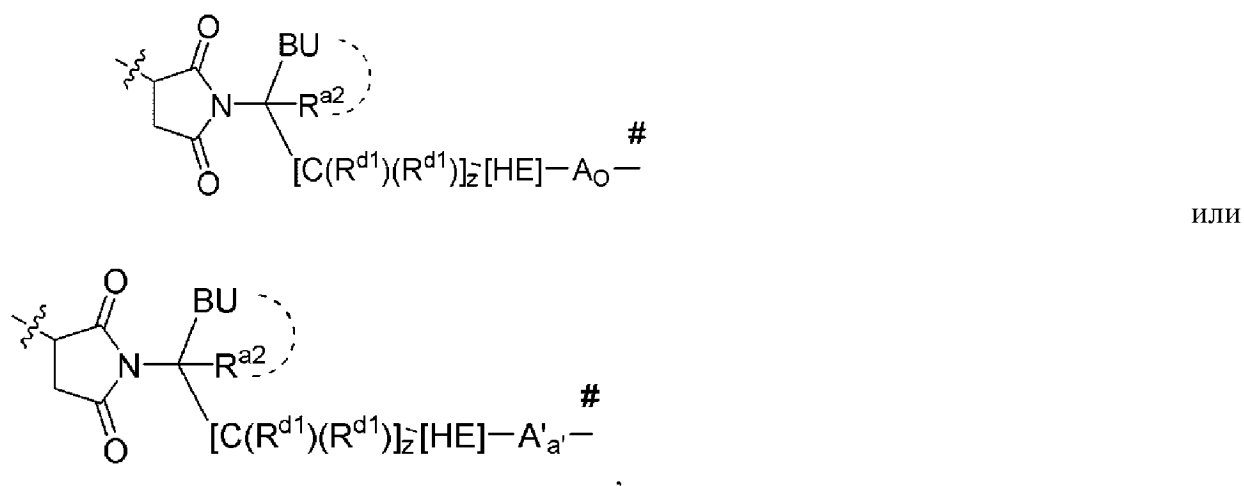
[0205] В некоторых аспектах $L_B'-A-B_b-$ первичного линкера L_{SS} , который иногда показан как L_{SS}' для ясного указания, что он является предшественником самостабилизирующегося (L_{SS}) первичного линкера в соединении Лекарственное средство-Линкер формулы **1B**, представленный общей формулой $M^1-A(BU)-[HE]-A_O-B-$, когда нижний индекс b равен 1, или $M^1-A(BU)-[HE]-A_a'-$, когда нижний индекс b равен 0, где M^1 представляет собой малеимидный фрагмент и A представляет собой C_1 - C_{12} алкилен, который включает BU или замещен им, либо является необязательно замещенным и присутствует в необязательной комбинации с $[HE]$, который представляет собой необязательный гидролиз-усиливающий фрагмент, где эта формула становится $M^1-A(BU)-[HE]-B-$ или $M^1-A(BU)[HE]-$, когда A представляет собой единую дискретную единицу, или $M^1-A_1(BU)-[HE]-A_2-B-$ или $M^1-A_1(BU)-[HE]-A_2-$, когда A состоит из двух субъединиц, где A_1 и A_2 являются субъединицами A.

[0206] В других аспектах L_{SS} первичный линкер в фрагменте лекарственное средство-линкер формулы **1B** ADC формулы **1A** представлен общей формулой $-M^2-A(BU)-[HE]-A_O-B-$, когда нижний индекс b равен 1, или $-M^2-A(BU)-[HE]-A_a'-$, когда нижний индекс b равен 0, где M^2 представляет собой сукцинимидный фрагмент, A представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент, который присутствует и состоит из C_1 - C_{12} алкилена, который включает или замещен BU, либо является необязательно замещенным и присутствует в необязательной комбинации с $[HE]$, который представляет собой необязательный гидролиз-усиливающий фрагмент, и A_O/A' представляет собой необязательную субъединицу A. Когда A представляет собой единую дискретную единицу, L_{SS} представлен формулой $-M^2-A(BU)-[HE]-B-$ или $-M^2-A(BU)-[HE]-$, а когда A состоит из двух субъединиц, L_{SS} представлен формулой $-M^2-A_1(BU)-[HE]-A_2-$ или $-M^2-A_1(BU)-[HE]-A_2-B-$, когда нижний индекс b равен 0 или 1, соответственно.

[0207] В некоторых других аспектах L_S первичный линкер в фрагменте лекарственное средство-линкер формулы **1B** в LDC/ADC формулы **1A** представлен общей

формулой $-M^3-A(BU)-[HE]-A_O-B-$, когда нижний индекс b равен 1, или $-M^3-A(BU)-[HE]-A_{a'}-$, когда нижний индекс b равен 0, где M^3 представляет собой группу амида янтарной кислоты, и A представляет собой C_1-C_{12} алкилен, который включает или замещен BU , либо является необязательно замещенным и присутствует в необязательной комбинации с $[HE]$, который представляет собой необязательный гидролиз-усиливающий фрагмент, и A_O/A' представляет собой необязательную субъединицу фрагмента A , где $-A(BU)-[HE]-A_O-$ или $-A(BU)-[HE]-A_{a'}-$ становится $-A(BU)-[HE]-$, когда A представляет собой единую дискретную единицу, или $-A_1(BU)-[HE]-A_2-$, когда A представляет собой или состоит из двух субъединиц.

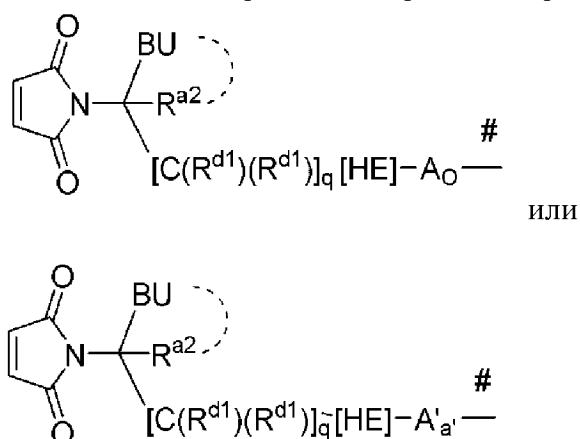
[0208] Иллюстративные, но не ограничивающие $-L_B-A-$ структуры, включающие L_{SS} первичный линкер в фрагменте лекарственное средство-линкер формулы **1B** для некоторых Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство формулы **1**, представлены ниже:



[0209] где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к Лигандному Компоненту, знак решетка (#) в верхней структуре, для которой нижний индекс b равен 1, указывает место ковалентного присоединения в формуле **1B** к Разветвляющемуся Компоненту (B) или в нижней структуре, в которой нижний индекс b равен 0, к W необязательного вторичного линкера (L_O), который присутствует, и где изогнутая пунктирная линия указывает необязательную циклизацию, которая имеет место, когда BU представляет собой циклический Основной Компонент, или отсутствует, когда BU представляет собой ациклический Основной Компонент, где $[HE]$ представляет собой необязательный гидролиз-усиливающий фрагмент, A_O/A' представляет собой необязательную субъединицу A , нижний индекс z равен 0 или целому числу от 1 до 6; каждый R^{d1} независимо выбран из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного C_1-C_6 алкила, или два из R^{d1} , углеродный атом(атомы), с которым они связаны, и любые промежуточные атомы углерода определяют необязательно замещенный C_3-C_8 карбоцикло, а остальные R^{d1} , если присутствуют, независимо представляют собой водород или необязательно замещенный C_1-C_6 ; и R^{a2} представляет собой $-H$ или необязательно замещенный C_1-C_8 алкил, когда BU представляет собой ациклический Основной Компонент, а когда BU представляет собой циклический

Основной Компонент, R^{a2} должен быть отличен от -H, и вместе с углеродным атомом, с которым BU и R^{a2} связаны, определяют необязательно замещенный спиро C_4-C_{12} гетероцикло, имеющий скелетный вторичный или третичный основной атом азота, таким образом, ациклический или циклический BU способен повышать скорость гидролиза показанного сукцинимидного (M^2) фрагмента для обеспечения группы амида янтарной кислоты (M^3) при подходящем pH по сравнению с соответствующим Конъюгатом, в котором R^{a2} представляет собой водород и BU замещен водородом, и для циклического Основного Компонента по существу сохраняет повышение скорости гидролиза фрагмента лекарственное средство-линкер, соответствующего LDC/ADC, в котором в R^{a2} представляет собой водород и BU представляет собой ациклический BU, по сравнению с вышеуказанным Конъюгатом, в котором R^{a2} представляет собой водород и BU замещен водородом.

[0210] Иллюстративные, но не ограничивающие, L_B '-A- структуры, включающие L_{SS} ', которые иногда присутствуют в соединениях Лекарственное средство-Линкер формулы I, используемых как промежуточные соединения при получении композиций Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, представлены ниже:



[0211] где BU и другие переменные группы имеют значение, определенное выше для L_B -A- структур LDCs/ADC, имеющих L_{SS} первичные линкеры. Когда соединение Лекарственное средство-Линкер, имеющее предшественник самостабилизирующего линкера (L_{SS}'), который включает малеимидный фрагмент, используют при получении LDC/ADC, этот L_{SS}' фрагмент преобразуют в L_{SS} первичный линкер, включающий сукцинимидный фрагмент. Перед конденсацией с реакционноспособной тиоловой функциональной группой из нацеливающего агента, такого как антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, основной атом азота BU типично является протонированным или защищенным кислотолабильной защитной группой.

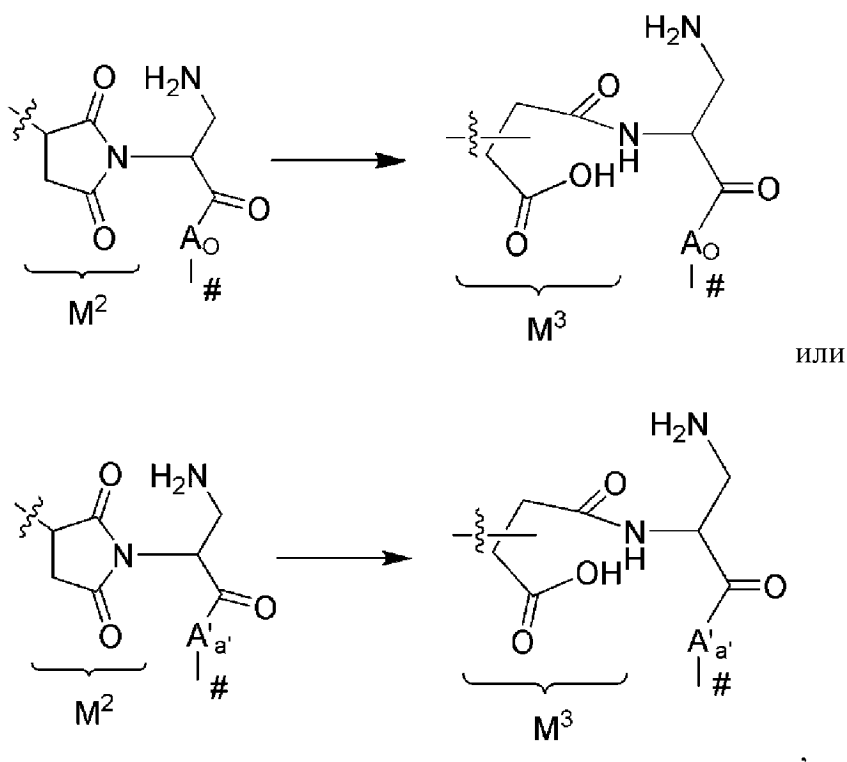
[0212] “Самостабилизированный линкер” представляет собой органический фрагмент, полученный из M^2 -содержащего фрагмента самостабилизирующего линкера (L_{SS}) в Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство, таком как Конъюгат Антитело-Лекарственное средство, который подвергся гидролизу в контролируемых условиях, чтобы обеспечить соответствующий M^3 -фрагмент самостабилизированного линкера (L_S),

где этот компонент LU с меньшей вероятностью будет обращать реакцию конденсации нацеливающего фрагмента с M^1 -содержащим фрагментом, который обеспечивал исходный M^2 -содержащий LSS-фрагмент. В дополнение к M^3 фрагменту самостабилизированный линкер (LS) включает первый необязательный Удлиняющий Компонент (A), который присутствует и включает циклический Основной Компонент или замещен ациклическим Основным Компонентом, где A ковалентно связан с M^3 и остальной частью первичного линкера L_S (т.е. B) или с вторичным линкером (L_O), когда B отсутствует. Фрагмент M^3 получают путем превращения сукцинимидного фрагмента (M^2) L_{SS} в Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство, где фрагмент M^2 имеет тио-замещенную сукцинимидную кольцевую систему, полученную в результате присоединения по Михаэлю атома серы реакционноспособной тиоловой функциональной группы нацеливающего агента к малеимидной кольцевой системе M^1 фрагмента L_{SS}' в соединении Лекарственное средство-Линкер, где этот производный от M^2 фрагмент имеет пониженную реакционную способность для удаления своего тио-заместителя по сравнению с соответствующим заместителем в M^2 . В этих аспектах M^2 -производный фрагмент имеет структуру амида янтарной кислоты (M^3), соответствующего M^2 , где M^2 подвергся гидролизу одной из своих карбонил-азотных связей сукцинимидной кольцевой системы, чему способствует основная функциональная группа BU из-за ее соответствующей близости в результате этого присоединения. Таким образом, продукт этого гидролиза имеет функциональную группу карбоновой кислоты и амидную функциональную группу, замещенную по ее атому азота амида, который соответствует атому азота имида в M^2 -содержащем L_{SS} -предшественнике L_S , с остальной частью первичного линкера, которая будет включать, как минимум, необязательный Удлиняющий Компонент, который присутствует. В некоторых аспектах основная функциональная группа представляет собой первичный, вторичный или третичный амин ациклического Основного Компонента или вторичный или третичный амин циклического Основного Компонента. В других аспектах основной азот BU представляет собой гетероатом необязательно замещенной основной функциональной группы, как в гуанидино группе. В любом аспекте реакционная способность основной функциональной группы BU для гидролиза, катализируемого основанием, регулируется значением pH за счет снижения состояния протонирования основного атома азота.

[0213] Таким образом, самостабилизированный линкер (L_S) типично имеет структуру M^3 фрагмента, ковалентно связанного с первым необязательным Удлиняющим Компонентом, который присутствует и включает циклический Основной Компонент или замещен ациклическим Основным Компонентом. В некоторых аспектах A представляет собой единую дискретную единицу, а в других аспектах состоит из двух или более субъединиц, типично представленный A_1 - A_2 , если присутствуют две субъединицы, с A/A_1 необязательно в комбинации с [HE]. Удлиняющий Компонент A, в свою очередь, ковалентно связан с B первичного линкера L_S или с W фрагмента L_O с его M^3 , A, A'_a /B и BU компонентами, расположенными, как представлено общей формулой $-M^3-A(BU)-[HE]-$

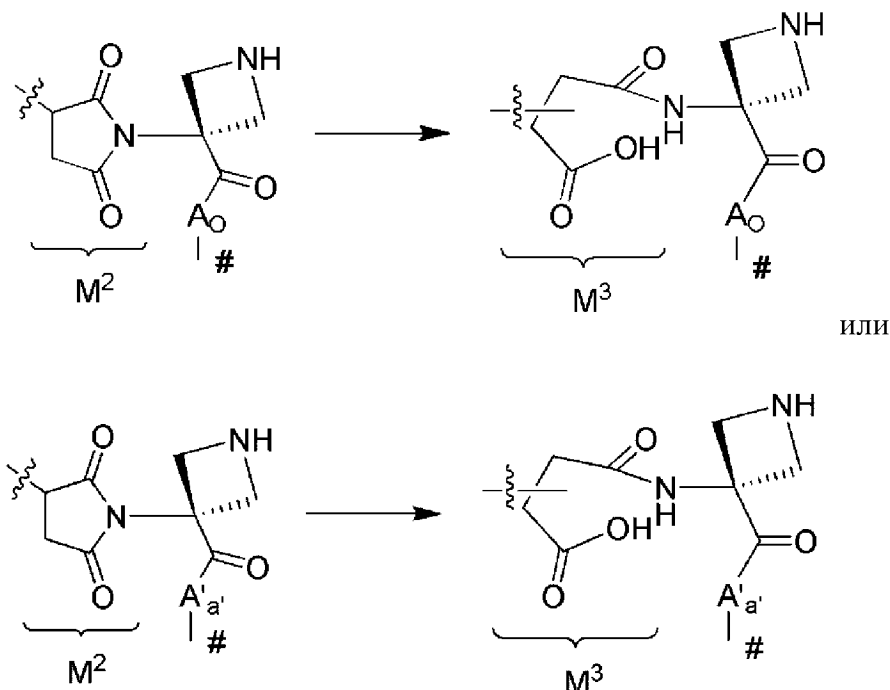
$A'_{a'}$ - или M^3 -A(BU)-[HE]- A_O -B-, в которой нижний индекс b равен 0 или 1, соответственно. Когда A представляет собой единую дискретную единицу, L_S представлен формулой $-M^3$ -A(BU)-[HE]-B-, когда нижний индекс b равен 1, или $-M^3$ -A(BU)-[HE]-, а когда A состоит из двух субъединиц L_S представлен формулой $-M^3$ - A_1 (BU)- A_2 - или $-M^3$ - A_1 (BU)- A_2 -B-, в которой нижний индекс b равен 0 или 1, соответственно, где BU представляет собой любой тип Основного Компонента (циклический или ациклический).

[0214] Иллюстративные неограничивающие структуры $-L_B$ -A- в L_{SS} и L_S первичных линкерах для LDC/ADC, в которых L_B представляет собой M^2 или M^3 ; и A(BU)/ A_1 (BU) и [HE] в этих структурах расположены, как указано выше, где BU представляет собой ациклический Основной Компонент, показаны в качестве примера, а не ограничения, структурами:



[0212] где $-CH(CH_2NH_2)C(=O)-$ фрагмент представляет собой A, когда A представляет собой единую дискретную единицу, таким образом, A_O или A' отсутствует, или A представляет собой A_1 - A_2 -, когда A_O/A' присутствует как A_2 , и где A/ A_1 замещен BU, где BU представляет собой ациклический Основной Компонент, который представляет собой $-CH_2NH_2$, имеющий основной атом азота, необязательно протонированный, и $-C(=O)-$ в этом фрагменте представляет собой необязательный гидролиз-усиливающий фрагмент [HE], который присутствует, и где знак решетка в верхней структуре указывает ковалентное присоединение к B, а знак решетка в нижней структуре указывает ковалентное присоединение к W фрагмента L_O . Эти иллюстративные структуры содержат сукцинимидный (M^2) фрагмент или группу амида янтарной кислоты (M^3), соответственно, последнюю получают в результате гидролиза M^2 сукцинимидного кольца с участием $-CH_2NH_2$ при преобразовании L_{SS} в L_S .

[0213] Иллюстративные неограничивающие структуры $-L_B-A-$ в L_{SS} и L_S первичных линкерах для LDC/ADC, в которых L_B представляет собой M^2 или M^3 ; и $A(BU)/A_1(BU)$, A_O/A' и $[HE]$ в этих структурах расположены, как указано выше, где BU представляет собой циклический Основной Компонент, показаны в качестве примера, а не ограничения следующими структурами:



[0215] где эти $-M^2-A(BU)-[HE]-A_O/A'_{a'}$ - и $-M^3-A(BU)-[HE]-A_O/A'_{a'}$ - структуры становятся $-M^2-A(BU)-[HE]-$ и $-M^3-A(BU)-[HE]-$, когда A_O отсутствует или нижний индекс a' равен 0, таким образом, A присутствует как единая дискретная единица, или становятся $-M^2-A_1(BU)-[HE]-A_2-$ и $-M^3-A^1(BU)-[HE]-A_2-$, когда A_O/A' присутствует в качестве субъединицы A, указанной как A_2 , и при этом в любой структуре BU представляет собой циклический Основной Компонент в форме необязательно протонированного азетидин-3,3-диила, структура которого представляет собой иллюстративный гетероцикло Основной Компонент, включенный в A/A_1 . Этот гетероцикло соответствует аминоалкилу ациклического Основного Компонента в $-A_1(BU)-$ или $-A(BU)-$ фрагменте, в котором основной азот ациклического Основного Компонента был формально циклизован, по меньшей мере частью, обратно через R^{a2} с атомом углерода, который находится в положении альфа относительно азота сукцинимиды в M^2 , к которому присоединен ациклический Основной Компонент.

[0218] Волнистая линия в каждой из вышеуказанных $-L_B-A-$ структур указывает место ковалентного присоединения атома серы Лигандного Компонента, полученного из реакционноспособной тиоловой функциональной группы нацеливающего агента в результате реакции присоединения по Михаэлю этого атома серы к малеимидной кольцевой системе M^1 фрагмента в структурно соответствующем соединении Лекарственное средство-Линкер или его M^1 -содержащем промежуточном соединении.

Знак решетка (#) в верхней структуре указывает место ковалентного присоединения к В, который представляет собой остальную часть первичного линкера L_{SS} или L_S , а в нижней структуре указывает место ковалентного присоединения к W в L_O . Поскольку сукцинимидная кольцевая система M^2 асимметрично замещена в связи с ее тио-заместителем, региохимические изомеры группы амида янтарной кислоты (M^3), определенной в настоящей заявке, различающиеся по положению относительно высвобожденной группы карбоновой кислоты, могут присутствовать в результате гидролиза M^2 . В представленных выше структурах карбонильная функциональная группа, показанная в смежном положении с A_O , иллюстрирует усиливающий гидролиз фрагмент [HE], определенный в настоящей заявке.

[0219] Указанные выше $-M^3-A(BU)-[HE]-A_O/A'_a$ -, $-M^3-A(BU)-$ и $-M^3-A_1(BU)-[HE]-A_2$ - фрагменты, где BU представляет собой ациклический или циклический Основной Компонент, являются иллюстративными $-L_B-A-$ структурами, которые включают первичные линкеры самостабилизированных линкеров (L_S), названные так потому, что в этих структурах менее вероятна элиминация тио-заместителя Лигандного Компонента и, таким образом, потеря этого нацеливающего фрагмента, по сравнению с соответствующими L_{SS} фрагментами, включающими формулы $-M^2-A(BU)-[HE]-A_O/A'_a$ -, $-M^2-A(BU)-$ или $-M^2-A_1(BU)-[HE]-A_2$ -, из которых они получены. Не ограничиваясь теорией, считается, что повышенная стабильность является результатом большей конформационной гибкости в M^3 по сравнению с M^2 , которая больше не ограничивает тио-заместитель в конформации, благоприятной для элиминации E^2 .

[0220] «Основной Компонент» в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не подразумевается из контекста, относится к органическому фрагменту в первичном линкере самостабилизирующегося линкера (L_{SS}), как описано в настоящей заявке, который переносится в соответствующий фрагмент L_S посредством BU, участвующего в катализируемом основанием гидролизе сукцинимидной кольцевой системы в фрагменте M^2 , содержащем L_{SS} (т.е. катализирует присоединение молекулы воды к одной из связей карбонил-азот сукцинимида). В некоторых аспектах гидролиз, катализируемый основанием, инициируется в контролируемых условиях, которые являются переносимыми для нацеливающего Лигандного Компонента, присоединенного к L_{SS} . В других аспектах гидролиз, катализируемый основанием, инициируется при контакте соединения Лекарственное средство-Линкер, включающего L_{SS}' , с нацеливающим агентом, в котором присоединение по Михаэлю атома серы реакционноспособной тиольной функциональной группы нацеливающего агента конкурирует с гидролизом M^1 фрагмента L_{SS}' соединения Лекарственное средство-Линкер. Не ограничиваясь теорией, следующие аспекты описывают различные соображения по конструированию подходящего Основного Компонента. В одном таком аспекте основная функциональная группа ациклического Основного Компонента и его относительное положение в L_{SS} по отношению к его компоненту M^2 выбирают на основании способности BU образовывать водородную связь с карбонильной группой M^2 , что эффективно увеличивает его электрофильность и,

следовательно, его восприимчивость к воздействию воды. В другом таком аспекте этот выбор осуществляют таким образом, чтобы молекула воды, нуклеофильность которой повышается за счет водородной связи с основной функциональной группой BU, была направлена к карбонильной группе M^2 . В третьем таком аспекте этот выбор осуществляется таким образом, чтобы основной азот при протонировании не увеличивал электрофильность карбониллов сукцинимидов за счет индуктивного отщепления электронов до такой степени, которая способствовала бы преждевременному гидролизу, требующему компенсации нежелательного избытка соединения Лекарственное средство-Линкер. В другом таком аспекте некоторая комбинация этих механистических эффектов способствует катализу для контролируемого гидролиза L_{SS} до L_S .

[0221] Как правило, ациклический Основной Компонент, который может действовать посредством любого из вышеуказанных механистических аспектов, состоит из 1 атома углерода или от 2 до 6 смежных атомов углерода, чаще из 1 атома углерода или 2 или 3 смежных атомов углерода, где атом(атомы) углерода соединяют основную функциональную аминогруппу ациклического основного звена с остальной частью первичного линкера L_{SS} , к которому он присоединен. Для того чтобы атом азота основного амина находился в необходимой близости, чтобы способствовать гидролизу сукцинимидного фрагмента (M^2) до его соответствующего амида янтарной кислоты с открытым кольцом (M^3), несущая амин углеродная цепь ациклического Основного Компонента обычно присоединена к А фрагмента -LB-A- L_{SS} по альфа-углероду C_1 - C_{12} алкилена этого фрагмента относительно сайта присоединения А к азоту сукцинимидов M^2 (и, следовательно, к азоту малеимида соответствующей M^1 -А-структуры). Как правило, этот альфа-углерод в ациклическом основном звене имеет (S) стереохимическую конфигурацию или конфигурацию, соответствующую конфигурации альфа-углерода L-аминокислот.

[0222] Как описано ранее, BU в ациклической форме или BU в циклизированной форме обычно соединены с M^1 или M^2 L_{SS} или M^3 L_S через необязательно замещенную C_1 - C_{12} алкиленовую группу, где эта группа включает циклический Основной Компонент или замещена ациклическим Основным Компонентом и связана с атомом азота малеимида или сукцинимидов M^1 или M^2 , соответственно, или с атомом азота амида M^3 . В некоторых аспектах C_1 - C_{12} алкиленовая группа, необязательно замещенная иным образом, включающая циклический Основной Компонент, ковалентно связана с [HE], и ее обычно получают через посредство простого эфира, сложного эфира, карбоната, мочевины, дисульфида, амидкарбамата или другой функциональной группы, более обычно через эфирную, амидную или карбаматную функциональную группу. Аналогичным образом, BU в ациклической форме обычно связан с M^1 или M^2 L_{SS} или M^3 L_S через необязательно замещенную C_1 - C_{12} алкиленовую группу А в $L_{B'}-A-$, где $L_{B'}$ представляет собой M^1 , или в - L_B-A- , где L_B представляет собой M^2 или M^3 , то есть замещение ациклическим Основным Компонентом по тому же атому углерода C_1 - C_{12} алкиленового фрагмента, который присоединен к азоту имина малеимидной или сукцинимидной кольцевой системы M^1 или

M^2 или азоту амида M^3 , что является результатом гидролиза сукцинимидной кольцевой системы M^2 .

[0223] В некоторых аспектах циклическое основное звено включает структуру ациклического ВУ путем формальной циклизации ациклического Основного Компонента до необязательно замещенного C_1 - C_{12} алкила (R^{a2}), независимо выбранного из A/A_1 , который связан с тем же альфа-углеродом, что и ациклический Основной Компонент, таким образом образуя спироциклическую кольцевую систему, так что циклический Основной Компонент включается в структуру A/A_1 , а не является заместителем A/A_1 , как в случае, когда ВУ является ациклическим. В этих аспектах формальная циклизация осуществляется с основным азотом амина ациклического Основного Компонента, таким образом обеспечивая циклический Основной Компонент в виде необязательно замещенного симметричного или асимметричного спиро C_4 - C_{12} гетероцикло, в зависимости от относительных длин углеродных цепей в двух альфа-углеродных заместителях, где основной азот теперь является основным скелетным гетероатомом. Для того чтобы эта циклизация по существу сохранила основные свойства ациклического Основного Компонента в циклическом Основном Компоненте, основной атом азота ациклического основного звена должен быть атомом первичного или вторичного амина, а не третичного амина, поскольку это приведет к кватернизованному скелетному азоту в гетероцикле циклического Основного Компонента. В этом аспекте формальной циклизации ациклического Основного Компонента в циклический Основной Компонент, чтобы по существу сохранить способность основного азота способствовать гидролизу M^2 в M^3 при преобразовании L_{SS} в L_S , получаемая структура циклического Основного Компонента в этих первичных линкерах обычно будет иметь свой основной азот, расположенный так, что присутствуют не более трех, а обычно один или два, промежуточных атома углерода между основным атомом азота и спиро-углеродом спиро C_4 - C_{12} гетероциклического компонента. Циклические Основные Компоненты, включенные в A/A_1 , и первичные линкеры L_{SS} и L_S , содержащие их в качестве компонентов, дополнительно описаны в вариантах осуществления изобретения.

[0224] «Фрагмент, усиливающий гидролиз» в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не подразумевается из контекста, относится к электроноакцепторной группе или группе, которая необязательно присутствует в первом необязательном Удлиняющем Компоненте (А) в L_B '-А- или - L_B -А- первичного линкера L_{SS} и продукта его гидролиза L_S . Фрагмент, усиливающий гидролиз [HE], когда он присутствует в качестве компонента A/A_1 L_{SS} в фрагменте лекарственное средство-линкер LDC/ADC, в котором A/A_1 связан с азотом имида фрагмента M^2 , в некоторых аспектах увеличивается или имеет минимальные эффекты на электрофильность сукцинимидных карбонильных групп в этом фрагменте, в зависимости от его близости к этому фрагменту M^2 из-за электроноакцепторного эффекта [HE], для облегчения его превращения в фрагмент M^3 первичного линкера L_S . Когда A/A_1 включает или замещен Основным Компонентом или ациклическим Основным Компонентом, соответственно, потенциальный эффект [HE] на

карбонильные группы M^2 для увеличения скорости гидролиза до M^3 путем индукции и вышеуказанного эффекта(эффектов) любого типа BU регулируют таким образом, чтобы преждевременный гидролиз M^1 не происходил в заметной степени во время получения Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство из соединения Лекарственное средство-Линкер, включающего структуру L_B-A- формулы $M^1-A(BU)-[HE]-A_O/A'_a-$, с двумя вариациями, представленными формулами $M^1-A(BU)-$ и $M^1-A_1(BU)-[HE]-A_2-$, в которых A/A_1 присутствует в комбинации с $[HE]$. Вместо этого комбинированные эффекты BU и $[HE]$ для стимуляции гидролиза, которые преобразуют структуру $-L_B-A-$ общей формулы - $M^2-A(BU)-[HE]-A_O/A'_a-$ или, более конкретно, формулы $-M^2-A(BU)-$ или $-M^2-A_1(BU)-A_2-$ соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство в ее соответствующую формулу - $M^3-A(BU)-[HE]-A_O/A'_a-$, $-M^3-A(BU)-$ или $M^3-A_1(BU)-[HE]-A_2-$ в контролируемых условиях (например, когда pH намеренно повышают, чтобы уменьшить состояние протонирования Основного Компонента), таковы, что не требуется чрезмерный молярный избыток соединения Лекарственное средство-Линкер для компенсации гидролиза его фрагмента M^1 . Таким образом, присоединение по Михаэлю атома серы реакционноспособной тиоловой функциональной группы нацеливающего агента к малеимидной кольцевой системе M^1 , которое обеспечивает нацеливающий Лигандный Компонент, присоединенный к сукцинимидной кольцевой системе M_2 , обычно происходит со скоростью, которая эффективно конкурирует с гидролизом M^1 . Не ограничиваясь какой-либо теорией, считается, что при низком pH, как, например, когда основной амин BU находится в форме соли TFA, преждевременный гидролиз M^1 в продукте Лекарственное средство-Линкер происходит намного медленнее, чем когда pH повышают до значения, которое подходит для основного катализа с использованием соответствующего буферного агента, и что приемлемый молярный избыток соединения Лекарственное средство-Линкер может адекватно компенсировать любые потери из-за преждевременного гидролиза M^1 , которые происходят во время завершения или почти завершения присоединения по Михаэлю атома серы реакционноспособной тиоловой функциональной группы нацеливающего агента к фрагменту M^1 соединения Лекарственное средство-Линкер.

[0225] Как обсуждалось ранее, усиление гидролиза карбонила любым типом Основного Компонента зависит от основности его функциональной группы и расстояния между этой основной функциональной группой и карбонильными группами M^1/M^2 . Как правило, $[HE]$ представляет собой карбонильную группу или другую карбонил-содержащую функциональную группу, расположенную на удалении от конца C_1-C_{12} алкилена A/A_1 , который связан с M^2 или полученным из него M^3 , а также обеспечивает ковалентное присоединение к A_2 или к необязательному вторичному линкеру, который присутствует, когда В отсутствует, а А представляет собой единую дискретную единицу. Карбонил-содержащие функциональные группы, отличные от кетона, включают сложные эфиры, карбаматы, карбонаты и мочевины. Когда $[HE]$ представляет собой карбонил-содержащую функциональную группу, отличную от кетона, в фрагменте лекарственное средство-линкер соединения ADC, имеющего первичный линкер L_{SS} , карбонильный

фрагмент этой функциональной группы, который является общим с A/A_1 , обычно связан с в ином случае необязательно замещенным C_1 - C_{12} алкиленом A/A_1 удаленно от его сайта присоединения к атому азота имида M^2 , как в случае, когда $[HE]$ представляет собой $-C(=O)-X-$, где X представляет собой $-O-$ или необязательно замещенный $-NH-$. В некоторых аспектах фрагмент $[HE]$ может быть достаточно удален от азота имида, с которым A/A_1 ковалентно связан, так что не будет никаких заметных или незначительных эффектов на гидролитическую чувствительность сукцинимидных карбонил-азотных связей M^2 -содержащего фрагмента, а вместо этого управляется преимущественно посредством BU.

[0226] “Удлиняющий Компонент” в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не следует из контекста, относится к необязательному органическому фрагменту в первичном или вторичном линкере Линкерного Компонента в соединении Лекарственное средство-Линкер или фрагменте лекарственное средство-линкер Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, таких как Конъюгат Антитело-Лекарственное средство, который физически разделяет нацеливающий Лигандный Компонент (L) и необязательный вторичный линкер, когда этот линкер присутствует. Когда Линкерный Компонент включает L_{SS} или L_S первичный линкер, присутствует первый необязательный Удлиняющий Компонент, поскольку он обеспечивает Основной Компонент для этих типов первичных линкеров. Присутствие первого необязательного Удлиняющего Компонента (A) в L_R также может потребоваться в любом типе первичного линкера, когда существует недостаточное пространственное облегчение из-за отсутствия Лигандного Компонента, чтобы необязательный Удлиняющий Компонент обеспечивал возможность эффективного процессинга вторичного линкера для высвобождения Лекарственного Компонента в виде свободного лекарственного средства. Альтернативно или в дополнение к пространственному облегчению, эти необязательные компоненты могут быть включены для облегчения синтеза при получении соединения Лекарственное средство-Линкер. В некоторых аспектах, когда нижний индекс b равен 1, первый или второй необязательный Удлиняющий Компонент (A или A', соответственно) представляет собой единый компонент или может содержать несколько субъединиц (как например, когда A содержит две субъединицы, представленные как $-A_1-[HE]-A_2-$). В других аспектах, когда нижний индекс b равен 0, типично A представляет собой один отдельный компонент, или содержит две отдельные субъединицы, когда нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a' равен 1. В некоторых других аспектах B/A' содержит 2-4 независимо выбранные отдельные субъединицы.

[0227] В некоторых аспектах, когда L_R представляет собой L_{SS}/L_S , в дополнение к ковалентному присоединению к M^1 соединения Лекарственное средство-Линкер или M^2/M^3 фрагмента лекарственное средство-линкер в LDC/ADC соединении, A связан с Разветвляющимся Компонентом (B) или W необязательного вторичного линкера (L_O), который присутствует, необязательно через A_O/A'_a , как в A[HE] (A_O/A' отсутствует) или $A_1-[HE]-A_2$ (A_O/A' присутствует), представленным, как правило, как A-[HE]- A_O/A'_a -, где

A/A_1 и A_0/A_a , если присутствует как A_2 , также является компонентом L_{SS}/L_S .

[0228] В некоторых аспектах A или A' , или субъединица любого из этих Удлиняющих Компонентов имеет формулу $-L^P(\text{ПЭГ})-$, в которой L^P представляет собой Параллельный Соединительный Компонент, и ПЭГ представляет собой ПЭГ Компонент, как определено ниже. Таким образом, в некоторых из этих аспектов Линкерный Компонент в фрагменте лекарственное средство-линкер Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство или соединении Лекарственное средство-Линкер, в котором нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a' равен 1, имеет формулу $-A_1-[\text{HE}]-L^P(\text{ПЭГ})-$, в которой A' представляет собой $-L^P(\text{ПЭГ})-$ и присутствует как A_2 . В других из этих аспектов, в которых нижний индекс b равен 1 и A_0 присутствует как A_2 , Линкерный Компонент в фрагменте лекарственное средство-линкер Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство или соединении Лекарственное средство-Линкер имеет формулу $-A_1-[\text{HE}]-L^P(\text{ПЭГ})-\text{B}-$. В некоторых других аспектах нижний индекс b равен 1 и нижний индекс a' равен 1, конъюгат Лиганд-Лекарственное средство или соединение Лекарственное средство-Линкер имеет формулу $-A-[\text{HE}]-A_0-\text{B}-L^P(\text{ПЭГ})$, в которой A' представляет собой $L^P(\text{ПЭГ})$.

[0229] В некоторых аспектах, когда нижний индекс a равен 1, таким образом, первый необязательный Удлиняющий Компонент (A) присутствует, этот Компонент типично содержит по меньшей мере один углеродный атом, где этот атом соединяет L_B/L_B' с $[\text{HE}]$. В некоторых из этих аспектов, в которых L_B' такой, как в L_{SS}' первичном линкере соединения Лекарственное средство-Линкер, этот Удлиняющий Компонент включает C_1 - C_{12} алкиленовую группу, замещенную Основным Компонентом или включающую Основной Компонент, либо является необязательно замещенным и имеет один из атомов углерода его радикала, присоединенным к атому азота малеимида, и другие - к $[\text{HE}]$, где $[\text{HE}]$ представляет собой необязательный гидролиз-усиливающий фрагмент, который присутствует. В других аспектах, когда L_R' является отличным от L_{SS}' , но тем не менее включает малеимидный фрагмент или какой-либо другой L_B' фрагмент, L_B' присоединен к необязательному первому Удлиняющему Компоненту (A), который в некоторых аспектах представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_{12} алкилен, который необязательно находится в комбинации с $[\text{HE}]$. Таким образом, в некоторых аспектах, в которых L_R' представляет собой L_{SS}' , первый необязательный Удлиняющий Компонент присутствует и включает C_1 - C_{12} алкиленовую группу, $[\text{HE}]$ и необязательную субъединицу (A_0 , когда нижний индекс b равен 1, или A'_a , когда нижний индекс b равен 0), все из которых являются компонентами L_R' , когда L_R' представляет собой L_{SS} , где A присоединен к B , который является компонентом L_R' , или W , который является компонентом L_0 , на удалении от сайта связывания C_1 - C_{12} алкиленовой группы с атомом азота имида. В других аспектах, когда нижний индекс a равен 1 и A присутствует в виде единой дискретной единицы или состоит из двух субъединиц, A имеет общую формулу $-A-[\text{HE}]-A_0/A_a-$, где A_0/A_a представляет собой необязательную субъединицу A , или, более конкретно, имеет формулу $-A_1-[\text{HE}]-A_2-$, когда A_0 присутствует в виде второй

субъединицы A и нижний индекс b равен 1, или когда нижний индекс a' равен 1 и нижний индекс b равен 0, следовательно A' присутствует как вторая субъективная A. В таких аспектах A_0/A_2 или A'/A_2 представляет собой α -аминокислоту, β -аминокислоту или другой амин-содержащий кислотный остаток.

[0230] "Разветвляющийся Компонент" в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не следует из контекста, относится к трифункциональному или мультифункциональному органическому фрагменту, который является необязательным компонентом Линкерного Компонента (LU). Разветвляющийся Компонент (B) присутствует в первичном линкере фрагмента лекарственное средство-линкер формулы 1A LDC/ADC формулы 1A, когда присутствует множество $-L_O-D$ фрагментов, представляет собой единый фрагмент лекарственное средство-линкер. В LDC/ADC, имеющих вышеописанную общую формулу, отсутствие или присутствие Разветвляющегося Компонента указано нижним индексом b в B_b , в котором нижний индекс b равен 0 или 1, соответственно. Разветвляющийся Компонент является по меньшей мере трифункциональным для включения в первичный линкер. Соединения Лекарственное средство-Линкер или LDC/ADC, имеющие Разветвляющийся Компонент, каждый из которых из-за множества $-L_O-D$ фрагментов на фрагмент лекарственное средство-линкер формулы $-LU-D$ типично содержит вторичный линкер (L_O), имеющий формулу $-A'_a-W-Y_y-$, где A' представляет собой второй необязательный Удлиняющий Компонент; нижние индексы a' равны 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A', соответственно; W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент; Y представляет собой Спейсерный Компонент; и нижний индекс y равен 0, 1 или 2, указывая на отсутствие или присутствие одного или двух Спейсерных Компонентов, соответственно.

[0231] В некоторых аспектах природный или неприродный аминокислотный остаток или остаток другого амин-содержащего кислотного соединения, имеющего функционализированную боковую цепь, служит в качестве трифункционального Разветвляющегося Компонента для присоединения двух фрагментов $-L_O-D$. В некоторых из этих аспектов B представляет собой лизиновый остаток, глутаминовую кислоту или аспарагиновую кислоту в L- или D-конфигурации, в которой функциональная группа эpsilon-амино, gamma-карбоновой кислоты или beta-карбоновой кислоты, соответственно, вместе с их амино и карбоксильными концами, связывает B в остальной части LU. Разветвляющийся Компонент с большей функциональностью для присоединения 3 или 4 фрагментов $-L_O-D$ обычно состоит из необходимого количества трифункциональных субъективных.

[0232] «Природная аминокислота» в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не подразумевается из контекста, относится к встречающейся в природе аминокислоте, а именно к аргинину, глутамину, фенилаланину, тирозину, триптофану, лизину, глицину, аланину, гистидину, серину, пролину, глутаминовой кислоте, аспарагиновой кислоте, треонину, цистеину, метионину, лейцину, аспарагину, изолейцину

и валину или их остатку, в L- или D-конфигурации, если иное не указано или не подразумевается контекстом.

[0233] «Неприродная аминокислота» в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не подразумевается из контекста, относится к альфа-аминосодержащей кислоте или ее остатку, который имеет основную структуру природной аминокислоты, но имеет группу боковой цепи, присоединенную к альфа-углероду, которого нет в природных аминокислотах.

[0234] «Неклассическая аминокислота» в контексте настоящей заявки, если не указано иное или не подразумевается из контекста, относится к амин-содержащему кислотному соединению, в котором аминовый заместитель не связан с альфа-углеродом карбоновой кислоты и, следовательно, не является альфа-аминокислотой. Неклассические аминокислоты включают β -аминокислоты, в которых метилен встроен между карбоновой кислотой и функциональными группами амина в природной аминокислоте или неприродной аминокислоте.

[0235] «Пептид» в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не подразумевается из контекста, относится к полимеру из двух или более аминокислот, в котором карбоксильная группа одной аминокислоты образует амидную связь с альфа-аминогруппой следующей аминокислоты в пептидной последовательности. Способы получения амидных связей в полипептидах дополнительно указаны в определении амида. Пептиды могут состоять из встречающихся в природе аминокислот в L- или D-конфигурации и/или неприродных и/или неклассических аминокислот.

[0236] «Протеаза» в контексте настоящей заявки, относится к белку, способному к ферментативному расщеплению связи карбонил-азот, такой как амидная связь, обычно присутствующая в пептиде. Протеазы подразделяются на шесть основных классов: сериновые протеазы, треониновые протеазы, цистеиновые протеазы, протеазы глутаминовой кислоты, протеазы аспарагиновой кислоты и металлопротеазы, названные так по каталитическому остатку в активном центре, который в первую очередь отвечает за расщепление связи карбонил-азот своего субстрата. Протеазы характеризуются различной специфичностью, которая зависит от идентичности остатков на N-конце и/или C-конце связи карбонил-азот и их различного распределения (внутриклеточного и внеклеточного).

[0237] Регуляторные протеазы, как правило, являются внутриклеточными протеазами, которые необходимы для регуляции клеточной активности, которая иногда становится aberrантной или нерегулируемой в аномальных или других нежелательных клетках. В некоторых случаях, когда Пептидный Расщепляемый Компонент направлен на протеазу, имеющую предпочтительное внутриклеточное распределение, эта протеаза является регуляторной протеазой, которая участвует в поддержании или пролиферации клеток. Эти протеазы включают катепсины. Катепсины включают сериновые протеазы катепсин А, катепсин G, протеазы аспарагиновой кислоты катепсин D, катепсин E и цистеиновые протеазы, катепсин B, катепсин C, катепсин F, катепсин H, катепсин K, катепсин L1, катепсин L2, катепсин O, катепсин S, катепсин W и катепсин Z.

[0238] «Пептидный Расщепляемый Компонент» в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не подразумевается из контекста, относится к органической части во вторичном линкере фрагмента лекарственное средство-линкер соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство или соединения Лекарственное средство-Линкер, который обеспечивает сайт распознавания для протеазы и способен ферментативно высвободить конъюгированный Лекарственный Компонент (D) в виде свободного лекарственного средства при ферментативном действии этой протеазы.

[0239] Сайт распознавания для расщепления протеазой иногда ограничивается сайтами, распознаваемыми протеазами, обнаруженными в аномальных клетках, таких как раковые клетки, или в номинально нормальных клетках, являющихся мишенями для Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, которые специфичны для окружающей среды близлежащих аномальных клеток, но которые также могут быть обнаружены в нормальных клетках. Для этой цели пептид обычно устойчив к циркулирующим протеазам, чтобы свести к минимуму преждевременное высвобождение свободного лекарственного средства или его предшественника, которое в противном случае могло бы вызвать нецелевые нежелательные явления в результате системного воздействия этого лекарственного средства. В некоторых аспектах пептид будет содержать одну или несколько D-аминокислот или неприродных или неклассических аминокислот для обеспечения такой устойчивости. В некоторых из этих аспектов последовательность будет содержать дипептид или трипептид, в котором сайт P2' содержит D-аминокислоту, а сайт P1' содержит одну из 20 встречающихся в природе L-аминокислот, отличных от L-пролина.

[0240] В этих аспектах реактивный сайт, скорее всего, действует ферментативно после иммунологически селективного связывания с антигеном-мишенью. В некоторых из этих аспектов антиген-мишень находится на аномальных клетках, так что сайт распознавания, скорее всего, подвергается ферментативному воздействию после клеточной интернализации соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство в аномальные клетки-мишени. Следовательно, эти аномальные клетки должны представлять целевой антиген в более высоком количестве копий по сравнению с нормальными клетками, чтобы смягчить нежелательные явления при воздействии на мишени. В других из этих аспектов целевой антиген находится на нормальных клетках, которые находятся в окружении, и характерны для окружения, аномальных клеток, так что сайт распознавания, скорее всего, подвергается ферментативному воздействию после клеточной интернализации соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство в эти целевые нормальные клетки. Следовательно, эти нормальные клетки должны представлять целевой антиген в более высоком количестве копий по сравнению с нормальными клетками, удаленными от места расположения раковых клеток, чтобы смягчить нежелательные явления при воздействии на мишени.

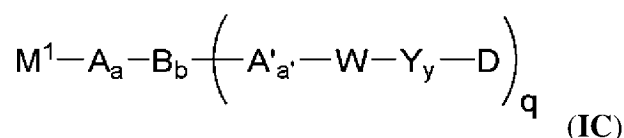
[0241] В любом из вышеуказанных аспектов реактивность протеаз по отношению к сайту распознавания выше в гомогенате опухолевой ткани по сравнению с гомогенатом

нормальной ткани. Эта более высокая реактивность в некоторых аспектах обусловлена большей активностью внутриклеточной протеазы в клетках-мишенях опухолевой ткани по сравнению с активностью внутриклеточной протеазы в нормальных клетках нормальной ткани и/или сниженной активностью протеазы в интерстициальном пространстве нормальной ткани по сравнению с активностью Пептидных Расщепляемых Компонентов традиционных Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство. В этих аспектах внутриклеточная протеаза представляет собой регуляторную протеазу, и пептидная связь Пептидного Расщепляемого Компонента способна селективно расщепляться внутриклеточной регуляторной протеазой по сравнению с сывороточными протеазами, в дополнение к селективному расщеплению протеазами гомогената опухолевой ткани по сравнению с протеазами в гомогенате нормальной ткани.

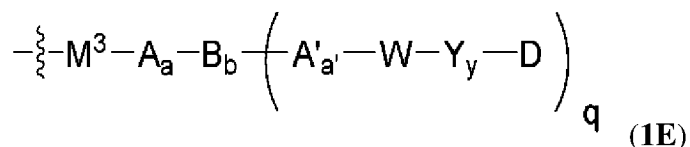
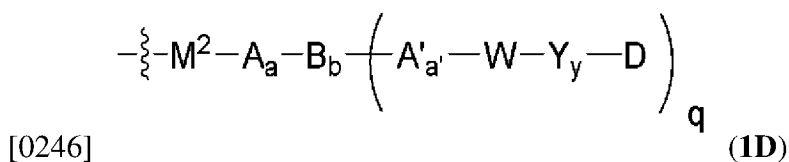
[0242] Вторичный линкер, содержащий Пептидный Расщепляемый Компонент, типично имеет формулу $-A'_a-W-Y_y-$, где A' представляет собой второй необязательный Спейсерный Компонент, когда нижний индекс b равен 1; нижний индекс a' равен 0 или 1, W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент; Y представляет собой необязательный Спейсерный Компонент; и нижний индекс y равен 0, 1 или 2. Когда нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a' равен 1, A' становится субъединицей A , таким образом, вторичный линкер имеет формулу $-W-Y_y-$. Для любой формулы вторичного действие протеазы на пептидную последовательность, включающую Пептидный Расщепляемый Компонент, приводит к непосредственному высвобождению D , когда нижний индекс y равен 0, или когда нижний индекс y равен 1, приводит к фрагменту лекарственное средство-линкер формулы $Y-D$ в качестве предшественника свободного лекарственного средства, в котором Y типично претерпевает саморасщепление с обеспечением свободного лекарственного средства, или когда нижний индекс y равен 2, приводит к первому фрагменту лекарственное средство-линкер формулы $Y-Y'-D$, в которой Y представляет собой первый Спейсерный Компонент, который претерпевает саморасщепление с получением второго фрагмента лекарственное средство-линкер формулы $Y'-D$, в котором Y' представляет собой второй Спейсерный Компонент, который расщепляется с полным высвобождением D в виде свободного лекарственного средства.

[0243] В некоторых аспектах соединения Лекарственное средство-Линкер, в которых вторичный линкер содержит Пептидный Расщепляемый Компонент, представлены структурами формулы **1C**:

[0244]



[0245] и соответствующие фрагменты лекарственное средство-линкер Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство представлены структурами формулы **1D** или формулы **1E**:



[0247] где W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент, и $\text{M}^1\text{-A}_a\text{-B}_b\text{-}$ формулы **1C**, $\text{-M}^2\text{-A}_a\text{-B}_b\text{-}$ формулы **1D** и $\text{-M}^3\text{-A}_a\text{-B}_b\text{-}$ формулы **1E** представляют собой первичные линкеры, где M^1 представляет собой малеимидный фрагмент; M^2 представляет собой сукцинимидный фрагмент; M^3 представляет собой группу амида янтарной кислоты; Y представляет собой необязательный Спейсерный Компонент, таким образом, нижний индекс у равен 0 или 1, или Y_y представляет собой -Y-Y' , таким образом, нижний индекс у равен 2, и Y и Y' представляют собой первый и второй Спейсерный Компонент, соответственно, а остальные переменные группы имеют значение, определенное для соединений Лекарственное средство-Линкер формулы **1A** и для фрагментов лекарственное средство-линкер формулы **1A**. L_{SS} первичные линкеры соединений Лекарственное средство-Линкер, которые содержат M^1 фрагмент, и L_{SS} первичные линкеры фрагментов лекарственное средство-линкер в некоторых LDC/ADC, которые содержат M^2 фрагменты, в настоящем изобретении имеют формулы, в которых A, или его субъединица, замещен Основным Компонентом или включает его. Другие первичные линкеры представляют собой L_s первичные линкеры, которые получены из указанного выше $\text{M}^2\text{-содержащего}$ L_{SS} первичного линкера формулы **1C** в результате гидролиза их сукцинимидных фрагментов с получением $\text{M}^3\text{-содержащих}$ фрагментов формулы **1D**.

[0249] В любом из описанных выше аспектов амидная связь, которая специфическим образом расщепляется протеазой, продуцируемой клеткой-мишенью или присутствующей в ней, является связью с амино группой Спейсерного Компонента (Y) или Лекарственного Компонента, если Y отсутствует. Таким образом, действие протеазы на пептидную последовательность в W приводит к высвобождению D в виде свободного лекарственного средства или его предшественника $\text{Y}_y\text{-D}$, который спонтанно фрагментируется с обеспечением свободного лекарственного средства.

[0250] “Спейсерный Компонент” в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не следует из контекста, относится к фрагменту в вторичном линкере (L_o) формулы $\text{-A}'_{a'}\text{-W-Y}_y\text{-}$, в которой нижний индекс у равен 1 или 2, указывая на присутствие 1 или 2 Спейсерных Компонентов в соединении Лекарственное средство-Линкер или Линкерном Компоненте фрагмента лекарственное средство-линкер Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, где A' представляет собой второй необязательный Спейсерный Компонент, который в некоторых аспектах, как описано в настоящей заявке, становится частью первичного линкера, с которым вторичный линкер ковалентно связан, в качестве субъединицы первого необязательного Спейсерного Компонента, который присутствует,

нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A' ; Y представляет собой Спейсерный Компонент и W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент формулы $-P_n\ldots[P3]-[P2]-[P1]-$ или $-P_n\ldots[P3]-[P2]-[P1]-[P-1]-$, где нижний индекс n находится в пределах от 0 до 12 (например, 0-10, 3-12 или 3-10), и $P1$, $P2$ и $P3$ представляют собой аминокислотные остатки, которые обеспечивают селективность к протеазному расщеплению гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с гомогенатом нормальной ткани, как описано в настоящей заявке. Когда нижний индекс u равен 1, Спейсерный Компонент ковалентно связан с W и с Лекарственным Компонентом (D), а когда нижний индекс u равен 2 - с другим таким фрагментом (Y'), ковалентно связанным с D . Действие протеазы на W инициирует высвобождение D в виде свободного лекарственного средства, как описано более подробно в вариантах осуществления изобретения.

[0250] “Саморасщепляющийся фрагмент” в контексте настоящей заявки относится к бифункциональному фрагменту в саморасщепляющемся Спейсерном Компоненте (Y), где саморасщепляющийся фрагмент ковалентно связан с гетероатомом D , или с общей для Y и D функциональной группой, необязательно замещенной, где это приемлемо, и также ковалентно связан с Пептидным Расщепляемым Компонентом через другой необязательно замещенный гетероатом (J), где J представляет собой $-NH-$ или подходяще замещенный атом азота в амидной функциональной группе, поэтому саморасщепляющийся фрагмент включает эти компоненты лекарственное средство-линкер в нормально стабильную трехчленную молекулу, если только не является активированным.

[0252] При расщеплении пептидной связи между $P1/P-1$ и Y , D или первый фрагмент линкер-лекарственное средство, который представляет собой $Y'-D$, спонтанно отделяется от трехкомпонентной молекулы путем саморасщепления саморасщепляющегося фрагмента его саморасщепляющегося Спейсерного Компонента. В некоторых аспектах компонент саморасщепляющегося Спейсерного Компонента, который находится между $Y'-D$ или D и необязательно замещенным гетероатомом J фрагмента Y , связанным с W , имеет формулу $-C_6-C_{24}$ арилен- $C(R^8)(R^9)-$, $-C_5-C_{24}$ гетероарил- $C(R^8)(R^9)-$, $-C_6-C_{24}$ арилен- $C(R^8)=C(R^9)-$ или $-C_5-C_{24}$ гетероарил- $C(R^8)=C(R^9)-$, необязательно замещенный, где R^8 и R^9 имеют значения, описанные в вариантах осуществления изобретения, и обычно представляют собой C_6-C_{10} арилен- CH_2- или C_5-C_{10} гетероарил- CH_2- , где (гетеро)арил- CH_2- необязательно замещен, где компонент саморасщепляющегося Спейсерного Компонента способен претерпевать фрагментацию с образованием имино-хинонметиды или родственной структуры путем 1,4- или 1,6-элиминирования с одновременным высвобождением D или $Y'-D$ при расщеплении расщепляемой протеазой связи между J и W . В некоторых аспектах саморасщепляющийся Спейсерный Компонент, содержащий вышеуказанный компонент, связанный с J , представлен необязательно замещенной группой p -аминобензилового спирта (РАВ), орто- или пара-аминобензилацетатами или другими ароматическими соединениями, которые электронно подобны группе РАВ (т.е. РАВ-типа), такими как производные 2-

аминоимидазол-5-метанола (см., например, Hay et al., 1999, Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237), или такими, в которых фенильная группа п-аминобензилового спирта (РАВ) замещена гетероариленом.

[0253] Не ограничиваясь какой-либо теорией, ароматический углерод ариленовой или гетероариленовой группы РАВ или фрагмента РАВ-типа саморасщепляющегося Спейсерного Компонента, который включен в Линкерный Компонент, замещен J, где электронодонорный гетероатом группы J присоединен к сайту расщепления W, так что электронодонорная способность этого гетероатома ослабляется (т.е. его EDG способность маскируется включением саморасщепляющегося фрагмента саморасщепляющегося Спейсерного Компонента в Линкерный Компонент). Другой заместитель гетеро(арилена) представляет собой бензильный углерод, который присоединен к необязательно замещенному гетероатому D необязательно замещенной функциональной группы, общей для Y и D, или второму Спейсерному Компоненту (Y'), связанному с Лекарственным Компонентом (D), где бензильный углерод присоединен к другому ароматическому атому углерода центрального арилена или гетероарилена, где ароматический углерод, несущий аттенуированный электронодонорный гетероатом, является смежным с бензильным углеродом (т.е. 1,2-взаимосвязь) или два дополнительных положения удалены (т.е. 1,4-связь) от этого бензильного атома углерода. Функционализированный EDG гетероатом выбирают таким образом, чтобы при процессинге сайта расщепления W восстанавливалась электронодонорная способность замаскированного гетероатома, запуская таким образом 1,4- или 1,6-элиминирование для отделения -D в виде свободного лекарственного средства от бензильного заместителя, или когда высвобождается Y'-D, последующее саморасщепление Y' обеспечивает свободное лекарственное средство для обеспечения терапевтического эффекта. Примеры саморасщепляющихся фрагментов и саморасщепляющихся Спейсерных Компонентов, содержащих эти саморасщепляющиеся фрагменты, проиллюстрированы вариантами осуществления изобретения.

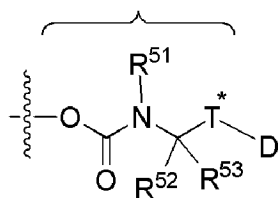
[0254] Другие примеры саморасщепляющихся групп включают, но не ограничиваются этим, ароматические соединения, которые электронно подобны группе РАВ, такие как производные 2-аминоимидазол-5-метанола (см., например, Hay et al., 1999, Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237) и орто- или пара-аминобензилацетали. Можно использовать спейсеры, которые подвергаются циклизации при гидролизе амидной связи, такие как замещенные и незамещенные амиды 4-аминомасляной кислоты (см., например, Rodrigues et al., 1995, Chemistry Biology 2:223), соответствующим образом замещенные бицикло[2.2.1] и бицикло[2.2.2] кольцевые системы (см., например, Storm et al., 1972, J. Amer. Chem. Soc. 94:5815) и амиды 2-аминофенилпропионовой кислоты (см., например, Amsberry et al., 1990, J. Org. Chem. 55:5867). Элиминирование амин-содержащих лекарственных средств, которые замещены в α-положении глицина (см., например, Kingsbury et al., 1984, J. Med. Chem. 27:1447), также является примером саморасщепляющихся групп. В одном варианте осуществления Спейсерный Компонент представляет собой разветвленный бис(гидроксиметил)стирольный (BHMS) компонент,

как описано в WO 2007/011968, который можно использовать для включения и высвобождения множества лекарственных средств. Дополнительные саморасщепляющиеся спейсеры описаны в WO 2005/082023.

[0255] “Метиленкарбаматный Компонент” в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не следует из контекста, относится к органическому фрагменту, способному к саморасщеплению и расположенному между первым саморасщепляющимся Спейсерным Компонентом и Лекарственным Компонентом в Линкерном Компоненте Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство или соединения Лекарственное средство-Линкер и, таким образом, является иллюстративным вторым Спейсерным Компонентом.

[0256] Метиленкарбаматный (МАС) Компонент, связанный с Лекарственным Компонентом, представлен формулой III:

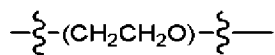
Метиленкарбаматный
компонент



(III)

[0257] или его фармацевтически приемлемая соль, где волнистая линия указывает ковалентное присоединение метиленкарбаматного компонента к первому саморасщепляющемуся Спейсерному Компоненту (Y); D представляет собой Лекарственный Компонент, имеющий функциональную группу (например, гидроксильная, тиоловая, амидная или аминокислотная функциональная группа), которая включена в метиленкарбаматный компонент; T* представляет собой гетероатом из указанной функциональной группы, который включает кислород, серу или азот в виде необязательно замещенного -NH-. При расщеплении Линкерного Компонента, включающего МАС Компонент, первый саморасщепляющийся Спейсерный Компонент (Y), связанный с этим МАС Компонентом в виде второго саморасщепляющегося Спейсерного Компонента (Y'), претерпевает фрагментацию с высвобождением -Y'-D формулы III. МАС Компонент затем спонтанно расщепляется для полного высвобождения D в виде свободного лекарственного средства, предположительный механизм для этого указан вариантами осуществления изобретения.

[0258] “ПЭГ Компонент” в контексте настоящей заявки относится к группе, включающей полиэтиленгликолевый фрагмент (ПЭГ), содержащий повторяющиеся этиленгликолевые субъединицы, имеющие формулу



[0259] ПЭГ включают полидисперсные ПЭГ, монодисперсные ПЭГ и дискретные ПЭГ. Полидисперсные ПЭГ представляют собой гетерогенную смесь размеров и

молекулярных масс, тогда как монодисперсные ПЭГ обычно очищены из гетерогенных смесей и, следовательно, обеспечивают одинаковую длину цепи и молекулярную массу. Дискретные ПЭГ представляют собой соединения, которые синтезируются поэтапно, а не в процессе полимеризации. Дискретные ПЭГ представляют собой единую молекулу с определенной и заданной длиной цепи.

[0260] ПЭГ Компонент включает 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. Некоторые ПЭГ Компоненты включают до 72 субъединиц.

[0261] «ПЭГ-кэпирующий Компонент» в контексте настоящей заявки представляет собой номинально нереакционноспособный органический фрагмент или функциональную группу, которая прерывает свободный и несвязанный конец ПЭГ Компонента и в некоторых аспектах не является водородом. В этих аспектах ПЭГ-кэпирующий Компонент представляет собой метокси, этокси или другой C_1 - C_6 простой эфир, или представляет собой $-CH_2-CO_2H$, или другую подходящую группу. Таким образом, эфир, $-CH_2-CO_2H$, $-CH_2CH_2CO_2H$ или другой подходящий органический фрагмент действует как «кэп» для концевой ПЭГ субъединицы ПЭГ Компонента.

[0262] «Параллельный Соединительный Компонент» в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не подразумевается из контекста, относится к органическому фрагменту лекарственное средство-линкер или фрагменту лекарственное средство-линкер соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, которая обычно присутствует в его Линкерном Компоненте в виде субъединицы первого или второго Удлиняющего Компонента, где Параллельный Соединительный Компонент (L^P) способен ориентировать присоединенный к нему ПЭГ Компонент в параллельной ориентации к Лекарственному Компоненту, который является гидрофобным, указанным в настоящей заявке как гидрофобный Лекарственный Компонент, чтобы уменьшить, по меньшей мере частично, гидрофобность этого Лекарственного Компонента. Структуры L^P и соответствующих ПЭГ Компонентов и ПЭГ Кэпирующих Компонентов описаны в WO 2015/5057699, который специально включен в настоящую заявку посредством ссылки, и в некоторых аспектах L^P представляет собой трифункциональную α -аминокислоту, β -аминокислоту или другой трифункциональный амин-содержащий кислотный остаток.

[0263] «Внутриклеточно расщепляемый», «внутриклеточное расщепление» и подобные термины в контексте настоящей заявки относятся к метаболическому процессу

или реакции внутри клетки-мишени, происходящей на Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство или т.п., посредством чего ковалентное связывание через его Линкерный Компонент между Лекарственным Компонентом и Лигандным Компонентом Конъюгата разрушается, что приводит к высвобождению D в виде свободного лекарственного средства в клетке-мишени. Как описано в настоящей заявке, в некоторых вариантах осуществления D первоначально высвобождается в виде аддукта Лекарственного Компонента с одним или несколькими саморасщепляющимися спейсерами, при этом эти саморасщепляющиеся спейсеры впоследствии спонтанно отделяются от Лекарственного Компонента с высвобождением D в виде свободного лекарственного средства.

[0264] Термин «гематологическое злокачественное новообразование» в контексте настоящей заявки, если не указано иное или не подразумевается из контекста, относится к опухоли из клеток крови, происходящей из клеток лимфоидного или миелоидного происхождения, и является синонимом термина «жидкая опухоль». Гематологические злокачественные новообразования можно разделить на вялотекущие, умеренно агрессивные и высокоагрессивные.

[0265] «Лимфома» в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к гематологическому злокачественному новообразованию, которое обычно развивается из гиперпролиферирующих клеток лимфоидного происхождения. Лимфомы иногда подразделяют на два основных типа: лимфому Ходжкина (HL) и неходжкинскую лимфому (NHL). Лимфомы также можно классифицировать в соответствии с типом нормальных клеток, которые больше всего напоминают раковые клетки в соответствии с фенотипическими, молекулярными или цитогенными маркерами. Подтипы лимфомы в соответствии с этой классификацией включают, без ограничения, новообразования зрелых В-клеток, новообразования зрелых Т-клеток и естественных клеток-киллеров (NK), лимфому Ходжкина и связанные с иммунодефицитом лимфопролиферативные заболевания. Подтипы лимфомы включают предшественницу Т-клеточной лимфобластной лимфомы (иногда называемой лимфобластным лейкозом, поскольку Т-клеточные лимфобласты продуцируются в костном мозге), фолликулярную лимфому, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, мантийно-клеточную лимфому, В-клеточную хроническую лимфоцитарную лимфому (иногда называемую лейкозом из-за поражения периферической крови), MALT-лимфому, лимфому Беркитта, грибовидный микоз и его более агрессивный вариант болезнь Сезари, периферические Т-клеточные лимфомы, не уточненные иначе, нодулярный склероз лимфомы Ходжкина и смешанно-клеточный подтип лимфомы Ходжкина.

[0266] «Лейкоз» в контексте настоящей заявки если иное не указано или не подразумевается из контекста, относится к гематологическому злокачественному новообразованию, которое обычно развивается из гиперпролиферирующих клеток миелоидного происхождения и включает, помимо прочего, острый лимфобластный лейкоз (ALL), острый миелогенный лейкоз (AML) хронический лимфолейкоз (CLL), хронический

миелогенный лейкоз (CML) и острый моноцитарный лейкоз (AMoL). Другие лейкозы включают волосистоклеточный лейкоз (HCL), Т-клеточный лимфатический лейкоз (T-PLL), крупнозернистый лимфоцитарный лейкоз и Т-клеточный лейкоз взрослых.

[0267] Термин «гиперпролиферирующие клетки» в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не подразумевается из контекста, относится к аномальным клеткам, которые характеризуются нежелательной клеточной пролиферацией или аномально высокой скоростью или постоянным состоянием клеточного деления или другой клеточной активностью, которая не связана или не скоординирована с клетками окружающих нормальных тканей. В некоторых аспектах гиперпролиферирующие клетки представляют собой гиперпролиферирующие клетки млекопитающих. В других аспектах гиперпролиферирующие клетки представляют собой гиперстимулированные иммунные клетки, как определено в настоящей заявке, устойчивое состояние клеточного деления или активация которых происходит после прекращения действия стимула, который мог первоначально вызвать изменение в их клеточном делении. В других аспектах гиперпролиферирующие клетки представляют собой трансформированные нормальные клетки или раковые клетки, и их неконтролируемое и прогрессирующее состояние клеточной пролиферации может привести к опухоли, которая является доброкачественной, потенциально злокачественной (предраковой) или явно злокачественной. Состояния гиперпролиферации, возникающие в результате трансформированных нормальных клеток или раковых клеток, включают, но не ограничиваются этим, состояния, характеризующиеся как предрак, гиперплазия, дисплазия, аденома, саркома, бластома, карцинома, лимфома, лейкоз или папиллома. Предраковые заболевания обычно определяются как поражения, которые демонстрируют гистологические изменения и связаны с повышенным риском развития рака и иногда имеют некоторые, но не все, молекулярные и фенотипические свойства, характеризующие рак. Гормонально-ассоциированные или гормоночувствительные предраковые заболевания включают, без ограничения, внутриэпителиальную неоплазию предстательной железы (PIN), особенно PIN высокой степени (HGPIN), атипичную мелкоацинарную пролиферацию (ASAP), дисплазию шейки матки и протоковую карциному *in situ*. Гиперплазия обычно относится к пролиферации клеток внутри органа или ткани за пределами того, что обычно наблюдается, что может привести к резкому увеличению органа или к образованию доброкачественной опухоли или роста. Гиперплазии включают, но не ограничиваются этим, гиперплазию эндометрия (эндометриоз), доброкачественную гиперплазию предстательной железы и гиперплазию протоков.

[0268] «Нормальные клетки» в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не подразумевается из контекста, относится к клеткам, подвергающимся координированному клеточному делению, связанному с поддержанием клеточной целостности нормальной ткани или восполнением циркулирующих лимфатических или кровяных клеток, которое требуется для регулируемого клеточного обновления, или

восстановлением тканей, связанным с их повреждением, или регулируемым иммунным или воспалительным ответом, возникающим в результате воздействия патогена или другого клеточного повреждения, когда спровоцированное деление клеток или иммунный ответ прекращается после завершения необходимого поддержания, пополнения или уничтожения патогена. Нормальные клетки включают нормально пролиферирующие клетки, нормальные покоящиеся клетки и нормально активированные иммунные клетки. Нормальные клетки включают нормальные покоящиеся клетки, которые являются нераковыми клетками в состоянии покоя G_0 и не были стимулированы стрессом или митогеном, или являются иммунными клетками, которые в норме неактивны или не были активированы воздействием провоспалительных цитокинов.

[0269] Термин «аномальные клетки» в контексте настоящей заявки, если не указано иное или не подразумевается из контекста, относится к нормальным клеткам, которые стали дисфункциональными либо из-за непропорциональной реакции на внешние стимулы, либо из-за неспособности должным образом регулировать свою спонтанную внутриклеточную активность, которая в некоторых случаях имеет мутационное происхождение. Аномальные клетки включают гиперпролиферирующие клетки и гиперстимулированные иммунные клетки, как этот термин определяется в другом месте описания. Эти клетки, когда они присутствуют в организме, обычно мешают функционированию нормальных клеток, причиняя вред организму, и со временем их разрушительная способность будет увеличиваться. Аномальные клетки включают раковые клетки, гиперактивированные иммунные клетки и другие нежелательные клетки организма. Аномальные клетки могут также относиться к номинально нормальным клеткам, которые находятся в окружении внешне аномальных клеток, но которые, тем не менее, поддерживают пролиферацию и/или выживание этих других аномальных клеток, таких как опухолевые клетки, так что нацеливание на номинально нормальные клетки косвенно ингибирует пролиферацию и/или выживание опухолевых клеток.

[0270] Термин «гиперстимулированные иммунные клетки» в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к клеткам, участвующим в врожденном или адаптивном иммунитете, характеризующимся аномально стойкой пролиферацией или неадекватным состоянием стимуляции, которое возникает после прекращения действия стимулов, которые могли первоначально вызвать изменение пролиферации или стимуляции или которые возникают в отсутствие какого-либо внешнего повреждения. Часто постоянная пролиферация или неадекватное состояние стимуляции приводит к хроническому состоянию воспаления, характерному для болезненного состояния или заболевания. В некоторых случаях стимул, который мог первоначально вызвать изменение пролиферации или стимуляции, не связан с внешним повреждением, а имеет внутреннее происхождение, как при аутоиммунном заболевании. В некоторых аспектах гиперстимулированная иммунная клетка представляет собой провоспалительную иммунную клетку, которая была гиперактивирована в результате хронического воздействия провоспалительных цитокинов.

[0271] В некоторых аспектах изобретения соединение-конъюгат Лиганд-Лекарственное средство из композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство связывается с антигеном, преимущественно экспонируемым провоспалительными иммунными клетками, которые аномально пролиферируют или неадекватно или постоянно активируются. Эти иммунные клетки включают классически активированные макрофаги или Т-хелперные клетки типа 1 (Th1), которые продуцируют гамма-интерферон (INF- γ), интерлейкин-2 (IL-2), интерлейкин-10 (IL-10) и фактор некроза опухоли-бета (TNF- β), представляющие собой цитокины, участвующие в активации макрофагов и CD8⁺ Т-клеток.

[0272] «Биодоступность», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к системной доступности (т.е. уровням в крови/плазме) данного количества лекарственного средства, вводимого пациенту. Биодоступность представляет собой абсолютный термин, который указывает на измерение как времени (скорости), так и общего количества (уровня) лекарственного средства, попадающего в общий кровоток из введенной лекарственной формы.

[0273] «Субъект», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к человеку, примату или млекопитающему, не являющемуся человеком, с гиперпролиферативным, воспалительным или иммунным нарушением или другим нарушением, связанным с аномальными клетками, или склонному к такому заболеванию, которое выиграет от введения эффективного количества конъюгата Лиганд-Лекарственное средство. Неограничивающие примеры субъекта включают человека, крысу, мышь, морскую свинку, обезьяну, свинью, козу, корову, лошадь, собаку, кошку, птицу и домашнюю птицу. Как правило, субъектом является человек, примат, не являющийся человеком, крыса, мышь или собака.

[0274] «Носитель», если не указано иное или не подразумевается контекстом, относится к разбавителю, адъюванту или эксципиенту, с которым вводят соединение. Такие фармацевтические носители могут быть жидкостями, такими как вода и масла, в том числе нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло. Носителями могут быть физиологический раствор, аравийская камедь, желатин, крахмальный клейстер, тальк, кератин, коллоидный кремнезем, мочевины. Кроме того, могут использоваться вспомогательные, стабилизирующие, загущающие, смазывающие и красящие вещества. В одном варианте осуществления при введении субъекту соединение или композиции и фармацевтически приемлемые носители являются стерильными. Вода является типичным носителем при внутривенном введении соединений. Солевые растворы и водные растворы декстрозы и глицерина также можно использовать в качестве жидких носителей, особенно для растворов для инъекций. Подходящие фармацевтические носители также включают эксципиенты, такие как крахмал, глюкоза, лактоза, сахароза, желатин, солод, рис, мука, мед, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропиленгликоль, вода и этанол.

Композиции по настоящему изобретению, при желании, могут также содержать небольшие количества смачивающих или эмульгирующих агентов или pH-буферных агентов.

[0275] «Солевая форма» в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к заряженному соединению в ионной ассоциации с противокатионом (катионами) и/или противоанионами с образованием в целом нейтральных частиц. В некоторых аспектах солевая форма соединения возникает в результате взаимодействия основной или кислотной функциональной группы исходного соединения с внешней кислотой или основанием, соответственно. В других аспектах заряженный атом соединения, связанный с противоанионом, является постоянным в том смысле, что спонтанная диссоциация на нейроны не может происходить без изменения структурной целостности исходного соединения, как в случае кватернизации атома азота. Соответственно, солевая форма соединения может включать кватернизованный атом азота в этом соединении и/или протонированную форму основной функциональной группы и/или ионизированную карбоновую кислоту этого соединения, каждая из которых находится в ионной связи с противоанионом.

[0276] В некоторых аспектах солевая форма может возникать в результате взаимодействия основной функциональной группы и ионизированной кислотной функциональной группы в одном и том же соединении или может включать отрицательно заряженную молекулу, такую как ацетат-ион, сукцинат-ион или другой противоанион. Таким образом, соединение в форме соли может иметь в своей структуре более одного заряженного атома. В случаях, когда несколько заряженных атомов исходного соединения являются частью формы соли, эта соль может иметь несколько противоионов, так что форма соли соединения может иметь один или несколько заряженных атомов и/или один или несколько противоионов. Противоион может быть любой заряженной органической или неорганической частью, которая стабилизирует противоположный заряд исходного соединения.

[0277] Форму протонированной соли соединения обычно получают, когда основная функциональная группа соединения, такая как первичный, вторичный или третичный амин или другая функциональная группа основного амина, взаимодействует с органической или неорганической кислотой с подходящим pK_a для протонирования основной функциональной группы, или когда кислотная функциональная группа соединения с подходящим pK_a , такая как карбоновая кислота, взаимодействует с гидроксидной солью, такой как NaOH или KOH, или органическим основанием подходящей силы, таким как триэтиламин, для депротонирования кислотной функциональной группы. В некоторых аспектах соединение в форме соли содержит по меньшей мере одну функциональную группу основного амина, и, соответственно, соли присоединения кислоты могут быть образованы с этой аминогруппой, которая включает функциональную группу основного амина циклического или ациклического Основного Компонента. Подходящая солевая форма в контексте соединения Лекарственное средство-

Линкер представляет собой такую форму соли, которая не оказывает чрезмерного влияния на реакцию конденсации между нацеливающим агентом и соединением Лекарственное средство-Линкер, которое обеспечивает Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство.

[0278] «Фармацевтически приемлемая соль» в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к солевой форме соединения, в котором его противоион является приемлемым для введения в форме соли предполагаемому субъекту, и включает неорганические и органические противокатионы и противоионы. Примеры фармацевтически приемлемых противоионов для функциональных групп основного амина, например, в циклических или ациклических Основных Компонентах, включают, но не ограничиваются этим, сульфат, цитрат, ацетат, оксалат, хлорид, бромид, йодид, нитрат, бисульфат, фосфат, кислый фосфат, изоникотинат, лактат, салицилат, кислый цитрат, тартрат, олеат, таннат, пантотенат, битартрат, аскорбат, сукцинат, малеат, мезилат, бесилат, гентизинат, фумарат, глюконат, глюкуронат, сахарат, формиат, бензоат, глутамат, метансульфонат, этансульфонат, бензолсульфонат, п-толуолсульфонат и памоат (т.е. 1,1'-метилен-бис-(2-гидрокси-3-нафтоат)).

[0279] Как правило, фармацевтически приемлемую соль выбирают из солей, описанных в PH Stahl и CG Wermuth, редакторы, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use, Weinheim/Zürich:Wiley-VCH/VHCA, 2002. Выбор соли зависит от свойств, которые должен проявлять лекарственный препарат, включая достаточную растворимость в воде при различных значениях pH, в зависимости от предполагаемого способа(способов) введения, кристалличность с характеристиками текучести и низкую гигроскопичность (т.е. абсорбция воды в зависимости от относительной влажности), подходящие для обращения с препаратом и требуемого срока годности, путем определения химической стабильности и стабильности в твердом состоянии, как в случае лиофилизированной композиции в ускоренных условиях (т.е. для определения деградации или изменений в твердом состоянии при хранении при 40°C и относительной влажности 75%).

[0280] «Ингибировать», «ингибирование» и подобные термины, если иное не указано или не подразумевается контекстом, означает уменьшение на измеримую величину или полное предотвращение нежелательного действия или результата. В некоторых аспектах нежелательный результат или активность связаны с аномальными клетками и включают гиперпролиферацию или гиперстимуляцию или другую нерегулируемую клеточную активность, лежащую в основе болезненного состояния. Ингибирование такой нерегулируемой клеточной активности Конъюгатом Лиганд-Лекарственное средство обычно определяют относительно необработанных клеток (имитация обработки с использованием носителя) в подходящей тест-системе, такой как клеточная культура (in vitro) или модель ксенотрансплантата (in vivo). Как правило, в качестве отрицательного контроля используется Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство, который нацелен на антиген, который отсутствует или имеет низкое число

копий на представляющих интерес аномальных клетках, или генетически сконструирован так, чтобы не распознавать какой-либо известный антиген.

[0281] «Лечить», «лечение» и подобные термины, если иное не указано в контексте, относятся к терапевтическому лечению, включая профилактические меры для предотвращения рецидива, целью которых является ингибирование или замедление (уменьшение) нежелательного физиологического изменения или расстройства, такого как развитие или распространение рака или повреждение тканей в результате хронического воспаления. Как правило, благоприятные или желательные клинические преимущества такого терапевтического лечения включают, но не ограничиваются этим, облегчение симптомов, уменьшение распространенности заболевания, стабилизацию (т.е. отсутствие ухудшения) состояния заболевания, задержку или замедление прогрессирования заболевания, улучшение или паллиативное облегчение болезненного состояния и ремиссию (частичную или полную) независимо от того, обнаруживаемые они или не поддаются обнаружению. «Лечение» также может означать повышение выживаемости или качества жизни по сравнению с ожидаемой выживаемостью или качеством жизни, если лечение не проводится. Нуждающиеся в лечении, включают тех, у кого уже есть состояние или расстройство, а также тех, кто имеет предрасположенность к состоянию или расстройству.

[0282] В контексте рака термин «лечение» включает любое или все из следующего: ингибирование роста опухолевых клеток, раковых клеток или опухоли; ингибирование репликации опухолевых клеток или раковых клеток, ингибирование диссеминации опухолевых клеток или раковых клеток, уменьшение общего опухолевого бремени или уменьшение количества раковых клеток или облегчение одного или нескольких симптомов, связанных с раком.

[0283] «Терапевтически эффективное количество» в контексте настоящей заявки, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к количеству свободного лекарственного средства или Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, содержащего Лекарственный Компонент, который высвобождается в виде свободного лекарственного средства, эффективному для лечения заболевания или нарушения у млекопитающего. В случае рака терапевтически эффективное количество свободного лекарственного средства или Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство может уменьшить количество раковых клеток; уменьшить размер опухоли, ингибировать (т.е. в некоторой степени замедлить и предпочтительно остановить) инфильтрацию раковых клеток в периферические органы, ингибировать (т.е. в некоторой степени замедлить и предпочтительно остановить) метастазирование опухоли, в некоторой степени ингибировать рост опухоли и/или облегчить до некоторой степени один или несколько симптомов, связанных с раком. В той мере, в какой свободное лекарственное средство или Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство могут ингибировать рост и/или убивать существующие раковые клетки, они могут быть цитостатическими или цитотоксическими. Для лечения рака эффективность можно, например, измерить путем оценки времени до

прогрессирования заболевания (ВТР), определяя частоту ответа (RR) и/или общую выживаемость (OS).

[0284] В случае иммунных нарушений, вызванных гиперстимуляцией иммунных клеток, терапевтически эффективное количество препарата может уменьшить количество гиперстимулированных иммунных клеток, степень их стимуляции и/или инфильтрации в нормальные ткани и/или или облегчить до некоторой степени один или несколько симптомов, связанных с нарушением регуляции иммунной системы из-за гиперстимулированных иммунных клеток. Для иммунных нарушений, вызванных гиперстимулированными иммунными клетками, эффективность можно, например, измерить путем оценки одного или нескольких биомаркеров воспаления, включая уровни одного или нескольких цитокинов, таких как уровни IL-1 β , TNF α , INF γ и MCP-1, или количество классически активированных макрофагов.

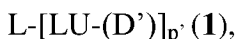
[0285] В некоторых аспектах изобретения соединение-конъюгат Лиганд-Лекарственное средство связывается с антигеном на поверхности клетки-мишени (т.е. аномальной клетки, такой как гиперпролиферирующая клетка или гиперстимулированная иммунная клетка), и затем конъюгированное соединение поглощается внутри клетки-мишени посредством эндоцитоза, опосредованного рецептором. Оказавшись внутри клетки, один или несколько Расщепляющихся Компонентов в Линкерном Компоненте Конъюгата расщепляются, что приводит к высвобождению Лекарственного Компонента (D) в виде свободного лекарственного средства. Свободное лекарственное средство, высвобождаемое таким образом, затем способно мигрировать в цитозоле и индуцировать цитотоксическую или цитостатическую активность или, в случае гиперстимулированных иммунных клеток, может альтернативно ингибировать передачу провоспалительного сигнала. В другом аспекте изобретения Лекарственный Компонент (D) высвобождается из соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство вне клетки-мишени, но в непосредственной близости от клетки-мишени, так что полученное в результате этого высвобождения свободное лекарство локализуется в желаемом месте действия и способно впоследствии проникать в клетку, а не преждевременно высвободиться в дистальных участках.

[0286] 2. Варианты осуществления

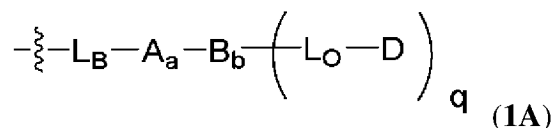
[0287] Различные варианты осуществления изобретения описаны ниже с последующим более подробным обсуждением компонентов, например, групп, реагентов и стадий, которые полезны в способах по настоящему изобретению. Любой из выбранных вариантов осуществления для компонентов способов может быть применим для каждого и любого аспекта изобретения, описанного в настоящей заявке, или они могут относиться к одному аспекту. В некоторых аспектах выбранные варианты осуществления можно объединять в любой комбинации, подходящей для описания Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство с ауристатином, соединения Лекарственное средство-Линкер или его Промежуточного соединения, содержащего гидрофобный ауристатин F в качестве Лекарственного Компонента.

[0288] **2.1 Конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство**

[0289] Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство (LDC) по настоящему изобретению представляет собой соединение, содержащее Лекарственный Компонент, связанный с Лигандным Компонентом через промежуточный Линкерный Компонент (LU), в котором LU включает Пептидный Расщепляемый Компонент, который более подвержен протеолитическому расщеплению гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с гомогенатом нормальной ткани для осуществления высвобождения D в виде свободного лекарственного средства и типично имеет структуру формулы **1**:

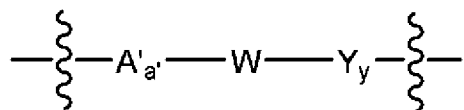


[0290] или его соль, в частности его фармацевтически приемлемая соль, где L представляет собой Лигандный Компонент; LU представляет собой Линкерный Компонент; D' представляет собой от 1 до 4 Лекарственных Единиц, включающих или соответствующих по структуре одному и тому же свободному лекарственному средству для каждого фрагмента лекарственное средство-линкер формулы $-LU-(D)'$; и нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 24, где Лигандный Компонент способен селективно связываться с антигеном аномальных клеток-мишеней, где целевой антиген способен к интернализации вместе с связанным соединением-конъюгатом для последующего внутриклеточного высвобождения свободного лекарственного средства, где каждый фрагмент лекарственное средство-линкер в Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство имеет структуру формулы **1A**:



[0291] или его соль, в частности, фармацевтически приемлемая соль, где $-L_B-A_a-B_b-$ фрагмент фрагмента лекарственное средство-линкер формулы **1A**, как правило, представляет собой первичный линкер (L_R) Линкерного Компонента (LU) формулы **1**

[0292] где волнистая линия указывает ковалентное присоединение к L; L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающийся с лигандом; A представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент; нижний индекс a равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A, соответственно; B представляет собой необязательный Разветвляющийся Компонент; нижний индекс b равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие B, соответственно; D представляет собой Лекарственный Компонент; и нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 4; и L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, имеющий структуру:



[0293] где волнистая линия смежная с A' указывает место ковалентного присоединения L_O к первичному линкеру; волнистая линия смежная с Y указывает место ковалентного присоединения L_O к Лекарственному Компоненту; A' представляет собой

второй необязательный Спейсерный Компонент, нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A' , соответственно, W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент, Y представляет собой Спейсерный Компонент, и y равен 0, 1 или 2, указывая на отсутствие или присутствие 1 или 2 Спейсерных Компонентов, соответственно.

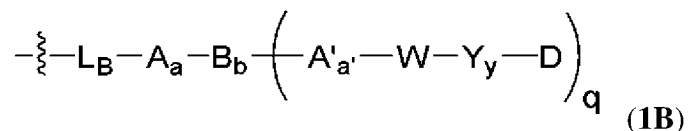
[0294] Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство включает распределение или совокупность соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство и представлена структурой формулы **1**, в которой нижний индекс p' заменен нижним индексом p , где нижний индекс p представляет собой число от около 2 до около 24.

[0295] Традиционный Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство также представлен формулой **1**, но имеет Пептидный Расщепляемый Компонент (W), включающий дипептид, ковалентно связанный либо непосредственно с D , либо опосредованно через Y , где дипептид сконструирован как селективный для специфической внутриклеточной протеазы, активность которой повышена в аномальных клетках по сравнению с нормальными клетками. В отличие от этого, Конъюгаты по настоящему изобретению основаны на неожиданном открытии, что в целом активность протеазы в ткани, включающей аномальные клетки, можно разграничить с активностью в нормальной ткани, включающей нормальные клетки, посредством подходяще сконструированного Расщепляемого Компонента, в то же время остающегося устойчивым к расщеплению свободно циркулирующими протеазами. Для Конъюгатов по настоящему изобретению это разграничение достигается Пептидным Расщепляемым Компонентом, включающим определенные трипептиды, где эти пептиды были идентифицированы методом скрининга, описанным в настоящей заявке, в котором протеазную активность из гомогената ткани, включающей аномальные клетки, сравнивают с гомогенатом нормальной ткани, где известно, что нормальная ткань является источником вызываемого целевым и/или нецелевым эффектом нежелательного явления(явлений), испытываемого субъектом-млекопитающим при введении терапевтически эффективного количества традиционного конъюгата Лиганд-Лекарственное средство.

[0296] Таким образом, в основном варианте осуществления изобретения W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент, включающий трипептид, который обеспечивает сайт распознавания, на который селективно воздействует одна или несколько внутриклеточных протеаз аномальных клеток-мишеней по сравнению с свободно циркулирующими протеазами, а также селективно воздействуют протеазы в гомогенате опухолевой ткани по сравнению с протеазами в гомогенате нормальной ткани. Для лечения рака последовательность трипептида для Пептидного Расщепляемого Компонента выбрана таким образом, что протеазы нормальной ткани, известной как источник вызываемых целевыми и/или нецелевыми эффектами нежелательных явлений от введения терапевтически эффективного количества традиционного Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, менее вероятно будут воздействовать на Конъюгат, имеющий Расщепляемый Компонент на трипептидной основе, по сравнению с протеазами

опухолевой ткани, для обеспечения таким образом большей селективности в отношении раковых клеток-мишеней. Этот выбор основан на более низкой общей протеазной активности в гомогенате нормальной ткани по сравнению с гомогенатом опухолевой ткани рака. В отличие от улучшенных Конъюгатов по настоящему изобретению, традиционный Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство, содержащий дипептидный Расщепляемый Компонент, был сконструирован для селективного воздействия на него катепсина В, который представляет собой внутриклеточную протеазу, чья активность повышена в раковых клетках, и преимущественно рассчитан на иммунологическую специфичность для селективного нацеливания на раковые клетки по сравнению с нормальными клетками. Улучшенные Конъюгаты по настоящему изобретению имеют дополнительный уровень селективности, менее подвергаясь действию протеазы в нормальной ткани по сравнению с опухолевой тканью, в которой находятся раковые клетки-мишени.

[0297] В некоторых вариантах осуществления фрагмент лекарственное средство-линкер формулы **1A** будет иметь структуру, представленную формулой **1B**:



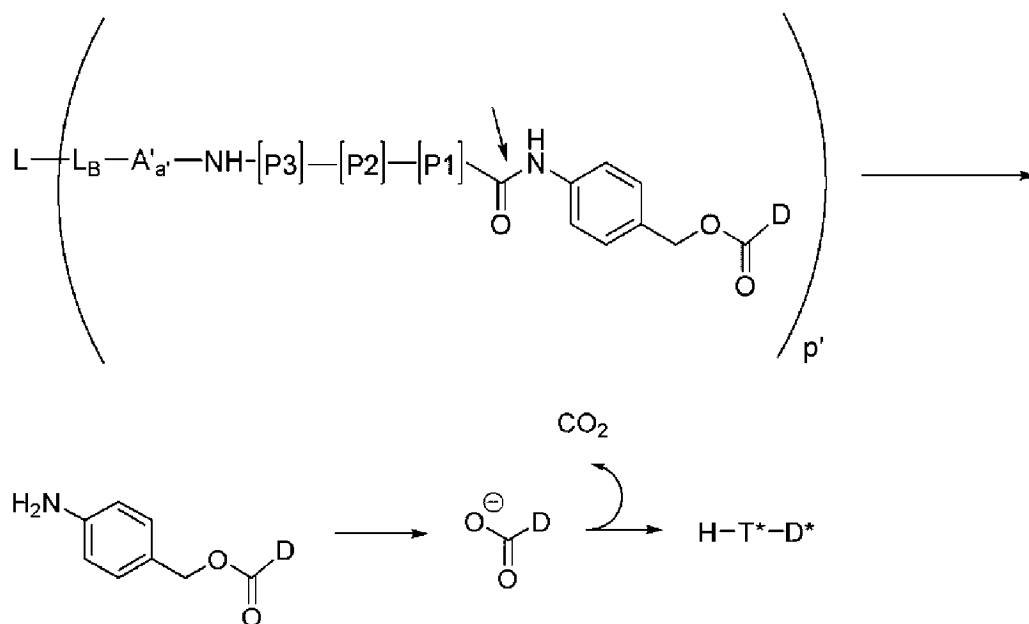
[0298] где L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающийся с лигандом, как определено в настоящей заявке для первичного линкера (L_R) в Линкерном Компоненте (LU) фрагмента лекарственное средство-линкер или соединения Лекарственное средство-Линкер; A и B представляют собой первый необязательный Удлиняющий Компонент и необязательный Разветвляющийся Компонент, соответственно, L_R ; нижний индекс q находится в пределах от 1 до 4; и остальные переменные группы имеют значение, определенное в настоящей заявке для L_O .

[0299] В некоторых из этих вариантов осуществления W содержит трипептид, который непосредственно присоединен к Лекарственному Компоненту, таким образом, нижний индекс y равен 0. Когда нижний индекс y равен 1, трипептид присоединен к саморасщепляющемуся Спейсерному Компоненту, чтобы расщепление протеазой обеспечивало фрагмент лекарственное средство-линкер формулы $Y-D$, в котором Y претерпевает саморасщепление для полного высвобождения свободного лекарственного средства. Когда нижний индекс y равен 2, трипептид присоединен к первому саморасщепляющемуся Спейсерному Компоненту (Y), чтобы расщепление протеазой обеспечивало первый фрагмент лекарственное средство-линкер формулы $Y-Y'-D$, в которой Y' представляет собой второй Спейсерный Компонент, с последующим саморасщеплением первого Спейсерного Компонента с получением второго фрагмента лекарственное средство-линкер формулы $Y'-D$, который расщепляется с полным высвобождением свободного лекарственного средства.

[0300] Иллюстративные соединения-конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство, имеющие фрагменты лекарственное средство-линкер формулы **1B**, в которых трипептид

Пептидного Расщепляемого Компонента (W) непосредственно присоединен к Лекарственному Компоненту или к промежуточному Спейсерному Компоненту, имеют структуру Схемы 1а, где P1, P2 и P3 представляют собой аминокислотные остатки трипептидной последовательности и D присоединен к остатку п-аминобензилового спирта через карбаматную или карбонатную функциональную группу, которые вместе представляют собой Y_y , где нижний индекс y равен 2. В этих иллюстративных соединениях-конъюгатах Лиганд-Лекарственное средство карбонильная функциональная группа амидной связи, смежная с P1, происходит из С-конца трипептидной последовательности, где эта амидная связь представляет собой сайт протеазного расщепления (указан стрелкой), а амино группа амидной связи, смежная с P3, происходит из N-конца трипептидной последовательности. Расщепление амидной функциональной группы до P1 приводит к первому фрагменту лекарственное средство-линкер, имеющему структуру, показанную на Схеме 1а, который претерпевает саморасщепление с получением второго фрагмента лекарственное средство-линкер, который спонтанно расщепляется с высвобождением CO_2 для полного высвобождения D в виде свободного лекарственного средства формулы H-T*-D*, имеющего гидроксид или амино группу, атом кислорода или азотный фрагмент -NH- которого представлен как T*, где D* представляет собой остальную часть свободного лекарственного средства.

[0301] Схема 1а.

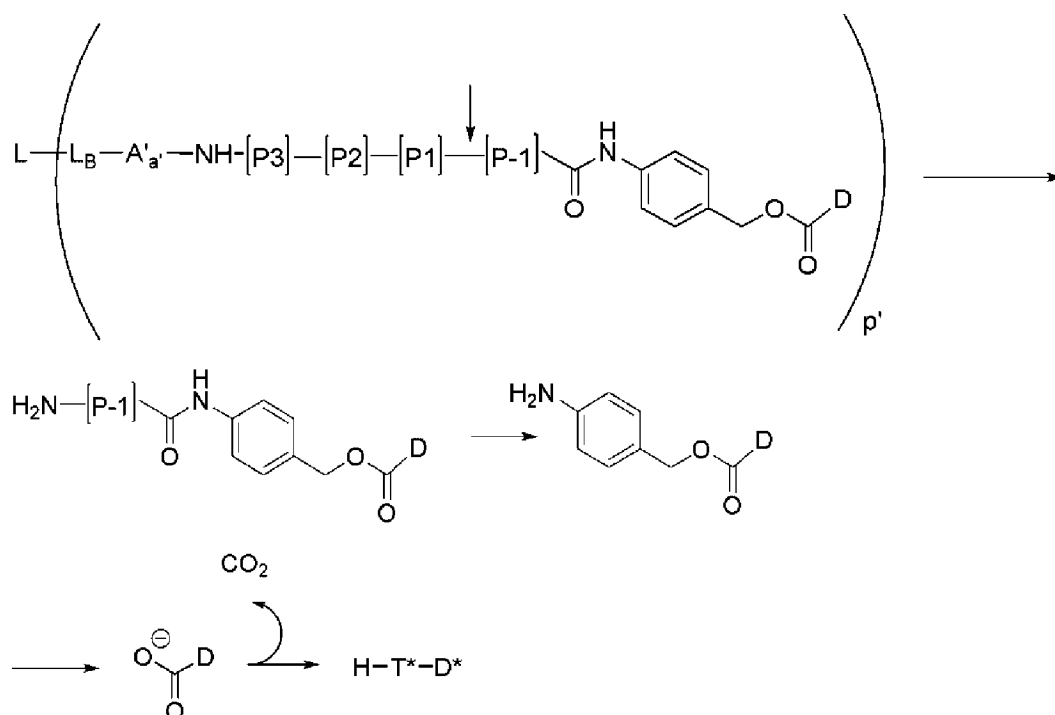


[0302] В этих вариантах осуществления одна или несколько аминокислот, обозначенных как P4, P5 и т.д., могут присутствовать между первичным линкером формулы $-L_B-A'_a'-$ и P3 как часть пептидной последовательности, включающей трипептид, который придает селективность к внутриклеточному протеолизу по сравнению с протеолизом свободно циркулирующими протеазами и к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани. Механизм высвобождения свободного лекарственного средства из Конъюгатов Лиганд-

Лекарственное средство, имеющих такие продленные пептидные последовательности, аналогичен показанному на Схеме 1a.

[0303] В других вариантах осуществления аминокислотный остаток, обозначенный как P-1, расположен между придающим специфичность трипептидом W и D или $-Y_y-D$, таким образом D или фрагмент лекарственное средство-линкер, изначально высвобождаемый под действием протеазы на придающий специфичность трипептид, включает эту аминокислоту, и, таким образом, требуется дальнейший процессинг посредством внутриклеточной эндопептидазы, чтобы могло произойти саморасщепление Спейсерного Компонента(компонентов). Для этих вариантов осуществления иллюстративные соединения-конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство, имеющие фрагменты лекарственное средство-линкер формулы **1B**, в которых придающий специфичность трипептид Пептидного Расщепляемого Компонента не является непосредственно присоединенным к Лекарственному Компоненту или к промежуточному Спейсерному Компоненту, имеют структуру, показанную на Схеме 1b. Протеазное расщепление чувствительной амидной связи между P1 и P-1 (указана стрелкой) обеспечивает фрагмент лекарственное средство-линкер, в котором первый саморасщепляющийся Спейсерный Компонент (Y) присутствует в виде аминокислотного остатка, который обеспечивает субстрат эндопептидазы, с присоединением к саморасщепляющемуся фрагменту Y, который представляет собой остаток пара-аминобензилового спирта, имеющий присоединение к D через карбаматную или карбонатную функциональную группу. Вместе аминокислота-остаток пара-аминобензилового спирта и карбаматная или карбонатная функциональная группа представляют собой Y_y , где нижний индекс y равен 2. После удаления P-1 эндопептидазой происходит саморасщепление, как на Схеме 1a, с высвобождением D в виде свободного лекарственного средства формулы H-T*-D*.

[0304] Схема 1b



[0305] Как указано выше, одна или несколько аминокислот, обозначенных как P4, P5 и т.д., могут присутствовать между первичным линкером формулы $-\text{L}_B-\text{A}'_{a'}$ и P3 как часть пептидной последовательности, включающей трипептид, который придает селективность к внутриклеточному протеолизу по сравнению с протеолизом свободно циркулирующими протеазами и к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани. Хотя P-1 на Схеме 1b формально является частью первого саморасщепляющегося Спейсерного Компонента (Y), для удобства он будет связан с трипептидной последовательностью, таким образом, W представляет собой тетрапептид в SEQ ID, описывающих такие Пептидные Расщепляемые Компоненты. Эти Компоненты и другие компоненты Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство по настоящему изобретению более подробно обсуждаются ниже.

[0306] 2.2.1 Лигандный Компонент

[0307] Лигандный Компонент (L) Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство представляет собой нацеливающий фрагмент конъюгата, который селективно связывается с молекулой-мишенью. В некоторых вариантах осуществления Лигандный Компонент селективно связывается с клеточным компонентом (Связывающийся с Клеткой Агент), который служит в качестве молекулы-мишени, или с другими представляющими интерес молекулами-мишенями. Лигандный Компонент действует, чтобы нацелить и представить Лекарственный Компонент Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство конкретной популяции клеток-мишеней, с которой взаимодействует Лигандный Компонент, чтобы селективно высвободить D как свободное лекарственное средство. Нацеливающие агенты, которые обеспечивают Лигандные Компоненты, включают, но не ограничиваются этим, белки, полипептиды и пептиды. Примеры Лигандных Компонентов включают такие, но не ограничиваются этим, которые обеспечиваются белками, полипептидами и пептидами, такими как антитела, например, полноразмерные антитела и их

антигенсвязывающие фрагменты, интерфероны, лимфокины, гормоны, факторы роста и колониестимулирующие факторы. Другие подходящие Лигандные Компоненты представляют собой такие, которые получены из витаминов, молекул, переносящих питательные вещества, или любых других связывающихся с клеткой молекул или веществ. В некоторых вариантах осуществления Лигандный Компонент получен из белкового нацеливающего агента, не являющегося антителом. В других вариантах осуществления Лигандный Компонент получен из белкового нацеливающего агента, такого как антитело. Предпочтительными нацеливающими агентами являются белки с большей молекулярной массой, например Связывающиеся с Клетками Агенты с молекулярной массой по меньшей мере около 80 кДа.

[0308] Нацеливающий агент взаимодействует с предшественником ковалентно связывающегося с лигандом фрагмента (LB') предшественника первичного линкера (LR') соединения Лекарственное средство-Линкер с образованием Лигандного Компонента, ковалентно присоединенного к ковалентно связывающемуся с лигандом фрагменту (LB) первичного линкера (LR) фрагмента лекарственное средство-линкер формулы 1А. Нацеливающий агент имеет, или модифицирован так, чтобы иметь, соответствующее количество сайтов связывания для размещения необходимого количества фрагментов лекарственное средство-линкер, определяемого нижним индексом p , независимо от того, являются ли они природными или неприродными (например, сконструированными). Например, чтобы значение нижнего индекса p составляло от 6 до 14, нацеливающий агент должен быть способен образовывать связь с 6-14 фрагментами Лекарственное средство-Линкер. Сайты связывания могут быть природными или могут быть встроены в нацеливающий агент. Нацеливающий агент может образовывать связь с L_{SS} фрагментом Линкерного Компонента соединения Лекарственное средство-Линкер через реакционноспособный или активируемый гетероатом или содержащую гетероатом функциональную группу нацеливающего агента. Реакционноспособные или активируемые гетероатомы или содержащие гетероатом функциональные группы, которые могут присутствовать на нацеливающем агенте, включают серу (в одном варианте осуществления из тиоловой функциональной группы нацеливающего агента), $C=O$ (в одном варианте осуществления из карбонила, карбоксила или гидроксильной группы нацеливающего агента) и азот (в одном варианте осуществления из первичной или вторичной аминогруппы нацеливающего агента). Эти гетероатомы могут присутствовать на нацеливающем агенте в естественном состоянии нацеливающего агента, например, встречающемся в природе антителе, или могут быть встроены в нацеливающий агент методом химической модификации или генной инженерии.

[0309] В одном варианте осуществления нацеливающий агент имеет тиоловую функциональную группу (например, из цистеинового остатка), и его Лигандный Компонент присоединен к фрагменту лекарственное средство-линкер соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство через атом серы тиоловой функциональной группы.

[0310] В другом варианте осуществления нацеливающий агент содержит лизиновые остатки, которые могут взаимодействовать с активированным сложным эфиром, включая, но не ограничиваясь этим, N-гидроксисукцинимидный, пентафторфениловый и п-нитрофениловый сложные эфиры, L_R Линкерного Компонента соединения Лекарственное средство-Линкер и, таким образом, приводит к амидной связи между атомом азота из Лигандного Компонента и функциональной группой C=O из Линкерного Компонента соединения Лекарственное средство-Линкер.

[0311] В еще одном варианте осуществления нацеливающий агент содержит один или несколько лизиновых остатков, которые могут быть химически модифицированы для введения одной или нескольких тиоловых функциональных групп. Лигандный Компонент из этого нацеливающего агента присоединяется к Линкерному Компоненту через атом серы введенной тиоловой функциональной группы. Реагенты, которые можно использовать для модификации лизинов, включают, но не ограничиваются этим, N-сукцинимидил-S-ацетилтиоацетат (SATA) и 2-иминотиолан гидрохлорид (реагент Траута).

[0312] В другом варианте осуществления нацеливающий агент может иметь одну или несколько углеводных групп, которые могут быть химически модифицированы, чтобы иметь одну или несколько тиоловых функциональных групп. Лигандный Компонент из этого нацеливающего агента присоединяется к Линкерному Компоненту через атом серы введенной тиоловой функциональной группы, или нацеливающий агент может иметь одну или несколько углеводных групп, которые могут быть окислены с образованием альдегидной (-CHO) группы (см., например, Laguzza, et al., 1989, J.Med.Chem., 32(3):548-55). Соответствующий альдегид затем может взаимодействовать с L_{SS} фрагментом соединения Лекарственное средство-Линкер, имеющего нуклеофильный азот. Другие реакционноспособные участки на L_R , которые могут взаимодействовать с карбонильной группой на нацеливающем агенте, включают, но не ограничиваются этим, гидразин и гидроксилламин. Другие протоколы модификации белков для присоединения фрагментов лекарственное средство-линкер описаны в Coligan et al., Current Protocols in Protein Science, vol. 2, John Wiley & Sons (2002) (включен в настоящую заявку посредством ссылки).

[0313] В предпочтительных вариантах осуществления реакционноспособная группа из L_R соединения Лекарственное средство-Линкер представляет собой малеимидную (M^1) группу, и ковалентное присоединение L к L_R осуществляется через тиоловую функциональную группу нацеливающего агента, так что тимо-замещенная сукцинимидная (M^2) группа образуется за счет присоединения по Михаэлю. Тиоловая функциональная группа может присутствовать в нацеливающем агенте в естественном состоянии нацеливающего агента, например, в природном остатке, или может быть встроена в нацеливающий агент методом химической модификации и/или генной инженерии.

[0314] Для биоконъюгатов было замечено, что сайт конъюгации с лекарственным средством может влиять на многочисленные параметры, включая легкость конъюгации,

стабильность лекарственного средства-линкера, эффекты на биофизические свойства полученных биоконъюгатов и цитотоксичность *in vitro*. Что касается стабильности лекарственного средства-линкера, то сайт конъюгации лекарственного средства-линкера с лигандом может влиять на способность конъюгированного фрагмента лекарственное средство-линкер подвергаться реакции элиминирования и на перенос фрагмента лекарственное средство-линкер из Лигандного Компонента биоконъюгата к альтернативному реакционноспособному тиолу, присутствующему в среде биоконъюгата, такому как, например, реакционноспособный тиол в альбумине, свободном цистеине или глутатионе, когда он присутствует в плазме. Такие сайты включают, например, межцепочечные дисульфиды, а также избранные цистеиновые сконструированные сайты. Конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство, описанные в настоящей заявке, могут быть конъюгированы с тиоловыми остатками на сайтах, которые менее восприимчивы к реакции элиминирования (например, в положениях 239 в соответствии с индексом ЕС, как указано в Kabat), в дополнение к другим сайтам.

[0315] В предпочтительных вариантах осуществления Лигандный Компонент (L) получен из антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, определяющий, таким образом, включающий антитело Лигандный Компонент Конъюгата Антитело-Лекарственное средство (ADC), где включающий антитело Лигандный Компонент способен селективно связываться с целевым антигеном раковой клетки для последующего высвобождения D в виде свободного лекарственного средства, где целевой антиген способен к интернализации в указанную раковую клетку после указанного связывания для инициации внутриклеточного высвобождения свободного лекарственного средства.

[0315] Подходящие антитела включают поликлональные антитела, которые представляют собой гетерогенные популяции молекул антител, полученных из сыворотки иммунизированных животных. Другими полезными антителами являются моноклональные антитела, которые представляют собой гомогенные популяции антител к конкретной антигенной детерминанте (например, к антигену раковой клетки, вирусному антигену, микробному антигену, белку, пептиду, углеводу, химическому веществу, нуклеиновой кислоте или их фрагментам). Моноклональное антитело (mAb) к представляющему интерес антигену можно получить с использованием любого метода, известного в данной области техники, который обеспечивает получение молекул антител с использованием непрерывных клеточных линий в культуре.

[0317] Подходящие моноклональные антитела включают, но не ограничиваются этим, человеческие моноклональные антитела, гуманизированные моноклональные антитела или химерные человеческие-мышинные моноклональные антитела (или других видов). Антитела включают полноразмерные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты. Моноклональные антитела человека могут быть получены любым из многочисленных методов, известных в данной области (например, Teng et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 80:7308-7312; Kozbor et al., 1983, Immunology Today). 4:72-79 и Olsson et al., 1982, Meth. Enzymol. 92:3-16).

[0318] Антитело может быть функционально активным фрагментом, производным или аналогом антитела, которое иммуноспецифически связывается с клетками-мишенями (например, антигенами раковых клеток, вирусными антигенами или микробными антигенами), или другими антителами, связанными с опухолевыми клетками или матриксом. В этом отношении «функционально активный» означает, что фрагмент, производное или аналог способен иммуноспецифически связываться с клетками-мишенями. Чтобы определить, какие последовательности CDR связывают антиген, синтетические пептиды, содержащие последовательности CDR, можно использовать в анализах связывания с антигеном любым методом анализа связывания, известным в данной области (например, анализ ядер BIA) (см., например, Kabat et al., 1991, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, MD, Kabat E et al., 1980, *J. Immunology* 125(3):961-969).

[0319] Другие полезные антитела включают фрагменты антител, такие как, но не ограничиваясь этим, F(ab')₂ фрагменты, Fab фрагменты, Fv, одноцепочечные антитела, диатела, триатела, тетратела, scFv, scFv-FV или любую другую молекулу с той же специфичностью, что и антитело.

[0320] Кроме того, полезными антителами являются рекомбинантные антитела, такие как химерные и гуманизированные моноклональные антитела, содержащие как человеческие, так и нечеловеческие части, которые можно получить с использованием стандартных методов рекомбинантной ДНК. Химерное антитело представляет собой молекулу, в которой разные части происходят от разных видов животных, например, антитела, имеющие вариабельную область, полученную из мышинового моноклонального антитела, и константные области человеческого иммуноглобулина. (См., например, патент США № 4816567 и патент США № 4816397, которые полностью включены в настоящую заявку посредством ссылки). Гуманизированные антитела представляют собой молекулы антител из видов, отличных от человека, имеющих одну или несколько определяющих комплементарность областей (CDR) из видов, отличных от человека, и каркасную область из молекулы иммуноглобулина человека. (См., например, патент США № 5585089, который полностью включен в настоящую заявку посредством ссылки). Такие химерные и гуманизированные моноклональные антитела могут быть получены методами рекомбинантной ДНК, известными в данной области, например, с использованием способов, каждый из которых специально включен в настоящую заявку посредством ссылки, как описано в международной публикации № WO 87/02671; европейской патентной публикации № 0184187; европейской патентной публикации № 0171496; европейской патентной публикации № 0173494; международной публикации № WO 86/01533; патенте США № 4816567; европейской патентной публикации № 012023; Berter et al., *Science* (1988) 240:1041-1043; Liu et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* (1987) 84: 3439-3443; Liu et al., *J. Immunol.* (1987) 139: 3521-3526; Sun et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* (1987) 84: 214-218; Nishimura et al. *Cancer. Res.* (1987) 47: 999-1005; Wood et al., *Nature* (1985) 314:446-449; Shaw et al., *J. Natl. Cancer Inst.* (1988) 80: 1553-1559; Morrison, *Science*

(1985) 229:1202-1207; Oi et al. BioTechniques (1986) 4: 214; U.S. Patent No. 5,225,539; Jones et al., Nature (1986) 321: 552-525; Verhoeven et al., Science (1988) 239: 1534; и Beidler et al., J. Immunol. (1988) 141: 4053-4060.

[0321] Полностью человеческие антитела являются особенно предпочтительными и могут быть получены с использованием трансгенных мышей, которые не способны экспрессировать гены тяжелой и легкой цепей эндогенного иммуноглобулина, но которые могут экспрессировать гены тяжелой и легкой цепи человека.

[0322] Антитела включают аналоги и производные, которые либо модифицированы, т.е. путем ковалентного присоединения любого типа молекулы, если такое ковалентное присоединение позволяет антителу сохранять свою антигенсвязывающую иммуноспецифичность. Например, но не в порядке ограничения, производные и аналоги антител включают те, которые были дополнительно модифицированы, например, путем гликозилирования, ацетилирования, пегилирования, фосфорилирования, амидирования, деривитизации известными защитными/блокирующими группами, протеолитического расщепления, связывания с клеточной единицей антитела или другим белком и т.д. Любая из многочисленных химических модификаций может быть осуществлена известными методами, включая, но не ограничиваясь этим, специфическое химическое расщепление, ацетилирование, формилирование, метаболический синтез в присутствии туникамицина и т.д. Кроме того, аналог или производное может содержать одну или несколько не природных аминокислот.

[0323] Антитела могут иметь модификации (например, замены, делеции или добавления) в аминокислотных остатках, которые взаимодействуют с Fc рецепторами. В частности, антитела могут иметь модификации в аминокислотных остатках, идентифицированных как участвующие во взаимодействии между анти-Fc доменом и FcRn рецептором (см., например, международную публикацию № WO 97/34631, которая полностью включена в настоящую заявку посредством ссылки).

[0324] В конкретных вариантах осуществления используются известные антитела для лечения рака. В некоторых вариантах осуществления антитело будет избирательно связываться с раковым антигеном гематологического злокачественного новообразования.

[0325] **2.2.2 Первичные линкеры**

[0326] В одной группе вариантов осуществления Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство включает один или более фрагментов лекарственное средство-линкер формулы - L_R-L_O-D , где L_O представляет собой $-A'_a-W-Y_u-$, как описано в настоящей заявке, где L_R представляет собой первичный линкер, A' представляет собой второй необязательный Удлиняющий Компонент, a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A' соответственно, Y представляет собой Спейсерный Компонент, нижний индекс u равен 0, 1 или 2, указывая на отсутствие или присутствие 1 или 2 Спейсерных Компонентов соответственно, D представляет собой Лекарственный Компонент, и W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент, где Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой последовательность вплоть до 12 (например, 3-12 или 3-10) смежных

аминокислот, где последовательность включает трипептид, который более подвержен протеолитическому расщеплению гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с гомогенатом нормальной ткани для инициации высвобождения D в виде свободного лекарственного средства, где цитотоксичность в отношении клеток нормальной ткани из-за непредусмотренного высвобождения свободного лекарственного средства в этих клетках и/или близко к ним связана с нежелательным явлением от введения эффективного количества сравнительного конъюгата Лиганд-Лекарственное средство субъекту, нуждающемуся в этом, в котором последовательность аминокислот его Пептидного Расщепляемого Компонента представляет собой дипептид -валин-цитруллин-, и/или где трипептид повышает биодоступность конъюгата Лиганд-Лекарственное средство в ущерб его биодоступности для нормальной ткани по сравнению с сравнительным Конъюгатом. В некоторых из этих вариантов осуществления $-L_R-$ представляет собой $-L_B-A_a-B_b-$, где L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающийся с лигандом, A представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент, нижний индекс a равен 0 или 1, указывая соответственно на отсутствие или присутствие A, B представляет собой необязательный Разветвляющийся Компонент, и нижний индекс b равен 0 или 1, указывая соответственно на отсутствие или присутствие B.

[0327] В некоторых вариантах осуществления фрагмент лекарственное средство-линкер имеет структуру



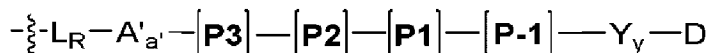
[0328]

[0329] или его соль, в частности фармацевтически приемлемая соль, где L_R , A' , a' , Y, y и D сохраняют их прежнее значение, а P1, P2 и P3 представляют собой аминокислотные остатки, которые вместе обеспечивают селективность к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани и/или обеспечивают повышенную биодоступность в опухолевой ткани в ущерб нормальной ткани по сравнению с сравнительным Конъюгатом Лиганд-Лекарственное средство, в котором аминокислотная последовательность Пептидного Расщепляемого Компонента представляет собой дипептид -валин-цитруллин-, где протеолитическое расщепление происходит по ковалентной связи между P1 и Y, если нижний индекс y равен 1 или 2, или по ковалентной связи между P1 и D, если нижний индекс y равен 0, и где опухолевая и нормальная ткань относятся к одному и тому же виду.

[0330] Как описано в других разделах, другие варианты осуществления содержат дополнительный аминокислотный остаток между P1 и Y или D, в зависимости от значения нижнего индекса y, который обозначен как P-1, таким образом, селективное действие эндопептидазой, протеолитическим ферментом(ферментами) гомогената опухолевой ткани, происходит по амидной связи между P1 и P-1 для высвобождения фрагмента лекарственное средство-линкер формулы $-[P-1]-Y_y-D$. Высвобождение свободного лекарственного средства из этого фрагмента будет происходить в результате

экзопептидазного действия протеолитического фермента для удаления P-1 аминокислотного остатка, чтобы непосредственно обеспечить свободное лекарственное средство, если нижний индекс у равен 0 (т.е. Y отсутствует).

[0331] В некоторых вариантах осуществления, в которых присутствует дополнительный аминокислотный остаток между P1 и Y или D, фрагмент лекарственное средство-линкер имеет структуру:



[0332]

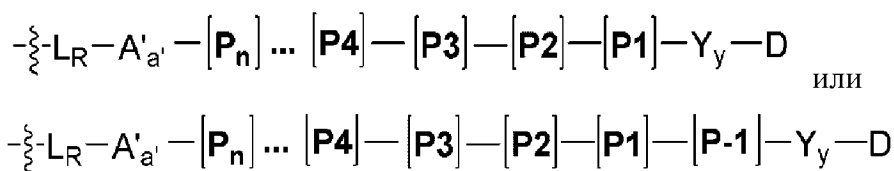
[0333] или его соль, в частности фармацевтически приемлемая соль, где L_R , A' , a' , Y, y и D сохраняют их прежнее значение, а P1, P2 и P3 представляют собой аминокислотные остатки, необязательно с P-1, которые вместе обеспечивают селективность к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани, где протеолитическое расщепление происходит по ковалентной связи между P1 и P-1 для высвобождения линкерного фрагмента, имеющего структуру [P-1]-Y_y-D.

[0334] В некоторых из этих вариантов осуществления, когда нижний индекс у равен 0, [P-1]-D остаток, являющийся результатом расщепления эндопептидазой амидной связи между P1 и P-1 аминокислотами, также проявляет цитотоксическую активность. В других вариантах осуществления нижний индекс у равен 1 или 2, таким образом, действие экзопептидазы для удаления P-1 аминокислотного остатка обеспечивает другой фрагмент лекарственное средство-линкер формулы -Y_y-D, который спонтанно фрагментируется с обеспечением свободного лекарственного средства.

[0335] В других вариантах осуществления один или несколько аминокислотных остатков, обозначенных P4, P5...P_n, где нижний индекс n имеет значение вплоть до 12 (например, 3-12 или 3-10), присутствуют между P3 и L_R или A' , в зависимости от значения нижнего индекса a' , который в некоторых вариантах осуществления присутствует в дополнение к Пептидному Расщепляемому Компоненту, содержащему P-1 аминокислотный остаток. В любом случае, дополнительные P4, P5...P_n аминокислотные остатки выбраны таким образом, чтобы не изменять сайт расщепления, который обеспечивает -Y_y-D или -[P-1]-Y_y-D фрагмент, но напротив выбраны для придания желаемого физико-химического и/или фармакокинетического свойства Конъюгату Лиганд-Лекарственное средство, такого как улучшенная растворимость для уменьшения агрегации.

[0336] В некоторых вариантах осуществления, в которых присутствует дополнительный аминокислотный остаток(остатки), N-концевой относительно P3, или дополнительно имеют P-1 между P1 и Y или D, фрагмент лекарственное средство-линкер имеет структуру:

[0337]

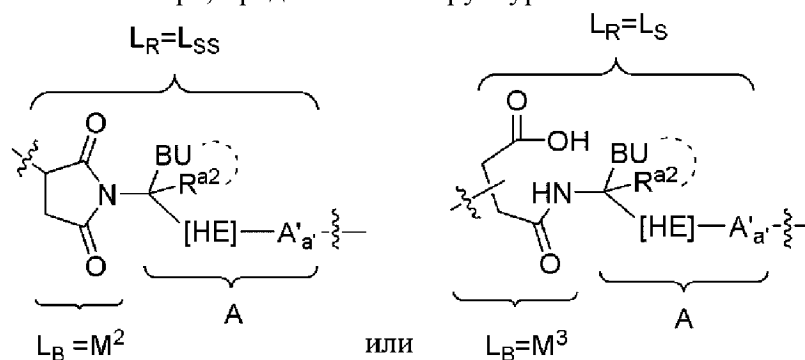


[0338]

[0339] или его соль, в частности фармацевтически приемлемая соль, где L_R , A' , a' , Y , y и D сохраняют их прежнее значение, а $P-1$ и P_1 , P_2 , P_3 ... P_n представляют собой аминокислотные остатки, где нижний индекс n имеет значение вплоть до 12 (например, 3-12 или 3-10), и P_1 , P_2 и P_3 , необязательно с $P-1$, вместе обеспечивают селективность к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани, где протеолитическое расщепление происходит по ковалентной связи между P_1 и $Y_y\text{-D}$ или между $P-1$ и $P-1$ для высвобождения линкерного фрагмента, имеющего структуру $Y_y\text{-D}$ или $[P-1]\text{-Y}_y\text{-D}$, соответственно, где последний затем подвергается экзопептидазному расщеплению для высвобождения линкерного фрагмента, имеющего структуру $Y_y\text{-D}$. В обоих случаях $Y_y\text{-D}$ линкерный фрагмент претерпевает спонтанное разложение для полного высвобождения D в виде свободного лекарственного средства.

[0340] В любом из этих вариантов осуществления, когда нижний индекс b равен 0, L_R фрагмента лекарственное средство-линкер имеет формулу $\text{-L}_B\text{-A}_a\text{-}$, где L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающийся с лигандом, и A представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент. В таких вариантах осуществления, если a равен 1 и нижний индекс a' равен 1, тогда A' присутствует как субъединица A и, таким образом, считается компонентом первичного линкера.

[0341] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления, где нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a равен 1, L_R формулы $\text{-L}_B\text{-A-}$ представляет собой самостабилизирующийся линкерный (L_{SS}) фрагмент или самостабилизированный линкерный (L_S) фрагмент, полученный в результате контролируемого гидролиза сукцинимидной (M^2) группы в L_{SS} . Иллюстративные первичные линкеры L_{SS} и L_S фрагмента лекарственное средство-линкер композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство или соединения-конъюгата этой композиции, имеющие любой тип первичного линкера, представлены структурами:

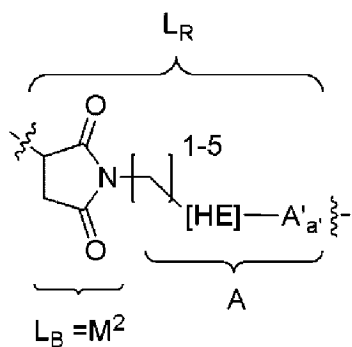


[0342] соответственно, или соль вышеуказанного соединения, в частности

фармацевтически приемлемая соль, где волнистая линия указывает место ковалентных присоединений к A' или W , в зависимости от значения нижнего индекса a' ; A' представляет собой необязательную субъединицу A ; $[HE]$ представляет собой необязательный Усиливающий Гидролиз Компонент, который представляет собой компонент, обеспечиваемый A ; BU представляет собой Основной Компонент; R^{a2} представляет собой необязательно замещенную C_1 - C_{12} алкильную группу; и изогнутая пунктирная линия указывает необязательную циклизацию, таким образом, в отсутствие указанной циклизации BU представляет собой ациклический Основной Компонент, содержащий первичную, вторичную или третичную аминую функциональную группу в качестве основной функциональной группы ациклического Основного Компонента, или в присутствии указанной циклизации BU представляет собой циклизованный Основной Компонент, в котором R^{a2} и BU вместе с атомом углерода, с которым оба связаны, определяют необязательно замещенный спиро C_3 - C_{20} гетероцикло, содержащий скелетный основной атом азота вторичной или третичной аминовой функциональной группы в качестве основной функциональной группы циклического Основного Компонента,

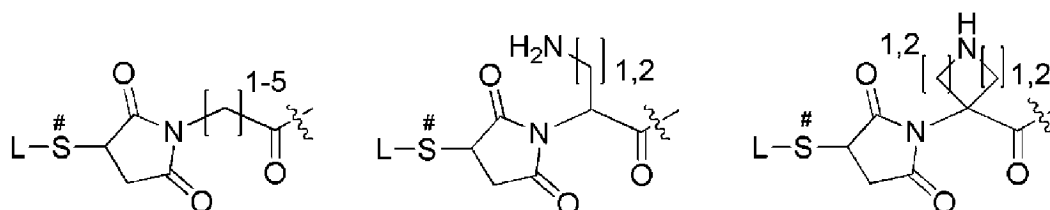
[0343] где основной атом азота ациклического Основного Компонента или циклический Основной Компонент необязательно подходяще защищен азот-защитной группой, в зависимости от степени замещения основного атома азота, или необязательно протонирован.

[0344] В других предпочтительных вариантах осуществления, где нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a равен 1, первичный линкер формулы $-L_B-A-$ не содержит Основной Компонент, которые представлены структурой:



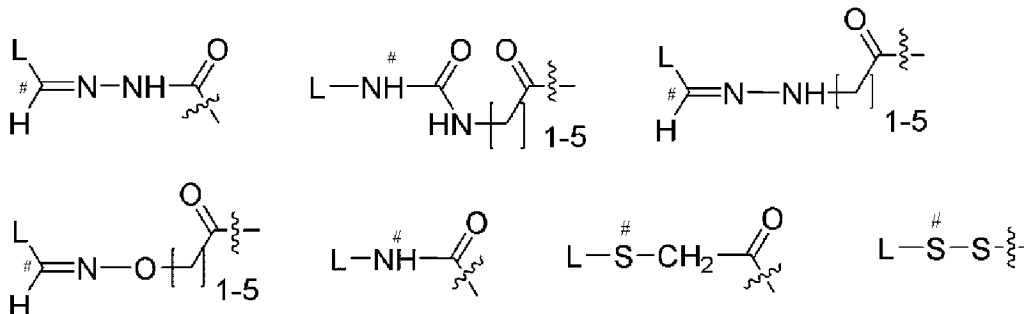
[0345] или соль вышеуказанного соединения, в частности, фармацевтически приемлемая соль, где переменные группы имеют значение, указанное выше для L_{SS} или L_S первичных линкеров.

[0346] Репрезентативные $L-L_R-$ структуры, в которых L_R ковалентно связан с Лигандным Компонентом (L) LDC, являются следующими:



[0347] и соли вышеуказанных, в частности фармацевтически приемлемые соли, и структуры, в которых сукцинимидная кольцевая система гидролизована до формы раскрытого кольца, где указанный (#) атом серы происходит из Лигандного Компонента; и где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к остальной части структуры Конъюгата.

[0348] Другие репрезентативные L-L_R- структуры являются следующими:



[0348] где указанный (#) атом азота, углерода или серы происходит из Лигандного Компонента; и где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к остальной части структуры Конъюгата.

[0349] В другой группе вариантов осуществления соединение Лекарственное средство-Линкер, которое полезно при получении конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, как описано в предыдущей группе вариантов осуществления, имеет формулу L_R'-A'_a'-W-Y_y-D, как описано в настоящей заявке, где L_R' представляет собой первичный линкер соединения Лекарственное средство-Линкер, который преобразуется в первичный линкер L_R фрагмента лекарственное средство-линкер Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, когда соединение Лекарственное средство-Линкер используют при получении этого Конъюгата, A' представляет собой второй необязательный Удлиняющий Компонент, a' равен 0 или 1, указывая соответственно на отсутствие или присутствие A', при этом когда L_R' не содержит Разветвляющийся Компонент и нижний индекс a' равен 1, A' считается частью L_R' в качестве субъединицы A, который присутствует в качестве компонента L_R', Y представляет собой Спейсерный Компонент, нижний индекс y равен 0, 1 или 2, указывая соответственно на отсутствие или присутствие 1 или 2 Спейсерных Компонентов, D представляет собой Лекарственный Компонент, и W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент, включающий трипептид, который более подвержен протеолитическому расщеплению гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с гомогенатом нормальной ткани, где цитотоксичность в отношении клеток нормальной ткани из-за непредусмотренного высвобождения D в виде свободного лекарственного средства в этих клетках и/или близко к ним связана с нежелательным явлением от введения конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, предполагаемого для нацеливания на раковые клетки опухолевой ткани. В некоторых из этих вариантов осуществления L_R'- представляет собой L_B'-A_a'-B_b'-, где L_B' представляет собой фрагмент, ковалентно связывающийся с лигандом, первичного линкера соединения Лекарственное средство-Линкер, иногда указанный как предшественник ковалентно связывающегося с

лигандом фрагмента, поскольку он является предшественником ковалентно связывающегося с лигандом фрагмента (L_B) первичного линкера (L_R) фрагмента лекарственное средство-линкер Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, когда соединение Лекарственное средство-Линкер используют при получении этого Конъюгата, А представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент, нижний индекс а равен 0 или 1, указывая соответственно на отсутствие или присутствие А, В представляет собой необязательный Разветвляющийся Компонент, и нижний индекс b равен 0 или 1, указывая соответственно на отсутствие или присутствие В.

[0351] В некоторых вариантах осуществления соединения Лекарственное средство-Линкер имеет структуру

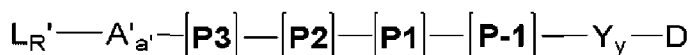


[0352]

[0353] или его соль, в частности фармацевтически приемлемая соль, где L_R' , A' , a' , Y , y и D сохраняют их прежнее значение, а $P1$, $P2$ и $P3$ представляют собой аминокислотные остатки, которые вместе обеспечивают селективность к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани, где протеолитическое расщепление происходит по ковалентной связи между $P1$ и Y , если нижний индекс y равен 1 или 2, или по ковалентной связи между $P1$ и D , если нижний индекс y равен 0.

[0354] Как описано в других разделах, другие варианты осуществления содержат дополнительный аминокислотный остаток между $P1$ и Y или D , в зависимости от значения нижнего индекса y , который обозначен как $P-1$, таким образом, селективное эндопептидазное действие протеолитическим ферментом(ферментами) гомогената опухолевой ткани происходит по амидной связи между $P1$ и $P-1$ с высвобождением фрагмента лекарственное средство-линкер формулы $-[P-1]-Y_y-D$. Высвобождение свободного лекарственного средства из этого фрагмента будет происходить в результате экзопептидазного действия протеолитического фермента для удаления $P-1$ аминокислотного остатка, чтобы непосредственно обеспечить свободное лекарственное средство, если нижний индекс y равен 0 (т.е. Y отсутствует).

[0355] В некоторых вариантах осуществления, в которых присутствует дополнительный аминокислотный остаток между $P1$ и Y или D , соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру:



[0356]

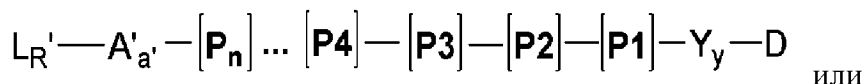
[0357] или его соль, в частности фармацевтически приемлемая соль, где L_R' , A' , a' , Y , y и D сохраняют их прежнее значение, а $P1$, $P2$ и $P3$ представляют собой аминокислотные остатки, необязательно с $P-1$, которые вместе обеспечивают селективность к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом

гомогенатом нормальной ткани, где протеолитическое расщепление происходит по ковалентной связи между P1 и P-1 с высвобождением линкерного фрагмента, имеющего структуру [P-1]-Y_y-D.

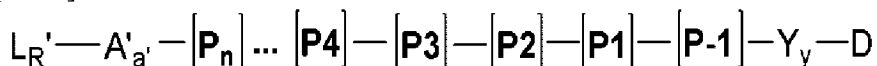
[0358] В некоторых из этих вариантов осуществления, когда нижний индекс у равен 0, [P-1]-D остаток, являющийся результатом эндопептидазного расщепления амидной связи между P1 и P-1 аминокислотами, также проявляет цитотоксическую активность. В других вариантах осуществления нижний индекс у равен 1 или 2, таким образом, экзопептидазное действие для удаления P-1 аминокислотного остатка обеспечивает другой фрагмент лекарственное средство-линкер формулы -Y_y-D, который спонтанно фрагментируется с обеспечением свободного лекарственного средства.

[0359] В других вариантах осуществления один или несколько аминокислотных остатков, обозначенных P4, P5...P_n, где нижний индекс n имеет значение вплоть до 12 (например, 3-12 или 3-10), присутствуют между P3 и L_R или A', в зависимости от значения нижнего индекса a', которые в некоторых вариантах осуществления присутствуют в дополнение к Пептидному Расщепляемому Компоненту, содержащему P-1 аминокислотный остаток. В любом случае, дополнительные P4, P5...P_n аминокислотные остатки выбирают таким образом, чтобы не изменять сайт расщепления, который обеспечивает -Y_y-D или -[P-1]-Y_y-D фрагмент, но наоборот выбирают для придания желаемого физико-химического и/или фармакокинетического свойства Конъюгату Лиганд-Лекарственное средство, такого как улучшенная растворимость для уменьшения агрегации.

[0360] В некоторых вариантах осуществления, в которых присутствует дополнительный аминокислотный остаток(остатки) на N-конце относительно P3, или которые дополнительно имеют P-1 между P1 и Y или D, соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру:



[0361]



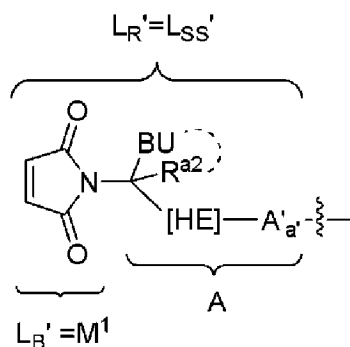
[0362]

[0363] или его соль, в частности фармацевтически приемлемая соль, где L_R', A', a', Y, y и D сохраняют их прежнее значение, а P-1 и P1, P2, P3...P_n представляют собой аминокислотные остатки, где нижний индекс n имеет значение вплоть до 12 (например, 3-12 или 3-10) и P1, P2 и P3, необязательно с P-1, вместе обеспечивают селективность к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани, где протеолитическое расщепление происходит по ковалентной связи между P1 и Y_y-D, или между P1 и P-1 с высвобождением линкерного фрагмента, имеющего структуру Y_y-D или [P-1]-Y_y-D, соответственно, где последний затем подвергается экзопептидажному расщеплению с высвобождением линкерного фрагмента,

имеющего структуру Y_y-D . В обоих случаях Y_y-D линкерный фрагмент претерпевает спонтанное разложение (также указанное как саморасщепление) с полным высвобождением D в виде свободного лекарственного средства.

[0364] В любом из этих вариантов осуществления, когда нижний индекс b равен 0, L_R' соединения Лекарственное средство-Линкер имеет формулу $L_B'-A_{a'}$, где L_B' представляет собой предшественник ковалентно связывающегося с лигандом фрагмента, и A представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент. В таких вариантах осуществления, если нижний индекс a равен 1 и нижний индекс a' равен 1, тогда A' присутствует как субъединица A и, таким образом, считается компонентом первичного линкера.

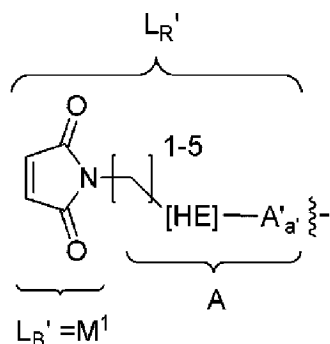
[0365] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления, где нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a равен 1, L_R' формулы $L_B'-A$ соединения Лекарственное средство-Линкер представляет собой предшественник самостабилизирующегося линкера (L_{SS}'), названный так, поскольку он преобразуется в самостабилизирующийся линкерный (L_{SS}) фрагмент Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, когда соединение Лекарственное средство-Линкер используют при получении конъюгата. Иллюстративные L_{SS}' первичные линкеры соединения Лекарственное средство-Линкер представлены структурами:



[0366] или соль вышеуказанного соединения, в частности фармацевтически приемлемая соль, где волнистая линия указывает место ковалентных присоединений к A' или W , в зависимости от значения нижнего индекса a' ; A' представляет собой необязательную субъединицу A ; $[HE]$ представляет собой необязательный Усиливающий Гидролиз Компонент, который представляет собой компонент, обеспечиваемый A ; BU представляет собой Основной Компонент; R^{a2} представляет собой необязательно замещенную C_1-C_{12} алкильную группу; и изогнутая пунктирная линия указывает необязательную циклизацию, таким образом, в отсутствие указанной циклизации BU представляет собой ациклический Основной Компонент, содержащий первичную, вторичную или третичную аминую функциональную группу в качестве основной функциональной группы ациклического Основного Компонента, или в присутствии указанной циклизации BU представляет собой циклизованный Основной Компонент, в котором R^{a2} и BU вместе с атомом углерода, с которым оба связаны, определяют необязательно замещенный спиро C_3-C_{20} гетероцикло, содержащий скелетный основной

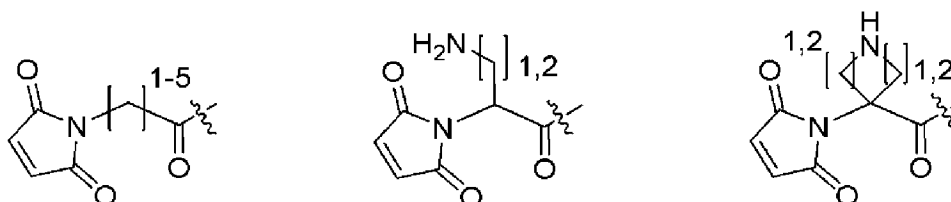
атом азота вторичной или третичной аминовой функциональной группы в качестве основной функциональной группы циклического Основного Компонента, где основной атом азота ациклического Основного Компонента или циклического Основного Компонента необязательно подходяще защищен азот-защитной группой, в зависимости от степени замещения основного атома азота, или необязательно протонирован.

[0367] В других предпочтительных вариантах осуществления, где нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a равен 1, первичный линкер формулы L_B-A- не содержит Основной Компонент, которые представлены структурой:



[0368] или соль вышеуказанного соединения, в частности, фармацевтически приемлемая соль, где переменные группы имеют значение, указанное выше для L_{SS} или L_S первичных линкеров.

[0369] Репрезентативные L_R' - структуры соединения Лекарственное средство-Линкер являются следующими:



[0370] и их соли, в частности фармацевтически приемлемые соли, где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к остальной части LU' структуры соединения Лекарственное средство-Линкер, и где основной атом азота во второй или третьей структуре необязательно протонирован в виде кислотно-аддитивной соли или необязательно защищен. Когда он защищен, защитная группа предпочтительно представляет собой кислоталабильную защитную группу, такую как BOC.

[0371] 2.2.3 Пептидные Расщепляемые Компоненты

[0372] В некоторых вариантах осуществления Пептидный Расщепляемый Компонент (W) Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство представляет собой пептидную последовательность, содержащую трипептид, присоединенный непосредственно к D или опосредованно через один или два саморасщепляющийся Спейсерных Компонента, где трипептид распознается по меньшей мере одной внутриклеточной протеазой, предпочтительно более чем одной, где по меньшей мере одна

протеаза активирована в опухолевых клетках по сравнению с нормальными клетками, и более подвержен протеолизу гомогенатом опухолевой ткани, включающей опухолевые клетки, чтобы сделать его мишенью для Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, по сравнению с гомогенатом нормальной ткани, при этом цитотоксичность для нормальной ткани ассоциируется с нежелательным явлением от введения сравнительного конъюгата Лиганд-Лекарственное средство. В других вариантах осуществления трипептид улучшает биодистрибуцию конъюгата в опухолевой ткани в ущерб биодистрибуции в нормальной ткани, что в некоторых этих вариантах осуществления является дополнением к селективности для протеолиза гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани. В любом из этих вариантов осуществления нормальная ткань иногда представляет собой костный мозг, а нежелательное явление, тяжесть которого нужно уменьшить, представляет собой нейтропению. В другом варианте осуществления нормальная ткань представляет собой ткань костного мозга, печени, почки, пищевода, молочной железы или роговицы, а нежелательное явление, тяжесть которого нужно уменьшить, представляет собой нейтропению. В некоторых вариантах осуществления трипептид непосредственно присоединен к D или опосредованно присоединен к D через один или два саморасщепляющихся Спейсерных Компонента. В других вариантах осуществления Пептидный Расщепляемый Компонент (W), включающий трипептид, как описано в настоящей заявке, непосредственно присоединен к D или опосредованно присоединен к D через один или два саморасщепляющихся Спейсерных Компонента через посредство аминокислоты, которая не является частью трипептида.

[0373] Пептидный Расщепляемый Компонент (W) сравнительного Конъюгата типично представляет собой дипептид, который придает селективность в отношении специфической внутриклеточной протеазы, которая активируется в раковых клетках, по сравнению со свободно циркулирующими протеазами, где специфическая протеаза способна к расщеплению амидной связи между С-концевой аминокислотой дипептида и амино группой саморасщепляющегося Спейсерного Компонента (Y) для инициации высвобождения Лекарственного Компонента в виде свободного лекарственного средства.

[0374] В некоторых вариантах осуществления Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство, включающий трипептид, раскрытый в настоящей заявке, показывает улучшенную переносимость по сравнению с сравнительным Конъюгатом Лиганд-Лекарственное средство, в котором Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой дипептид, который придает селективность в отношении специфической внутриклеточной протеазы, которая активирована в раковых клетках, по сравнению со свободно циркулирующими протеазами, где специфическая протеаза способна к расщеплению амидной связи между С-концевой аминокислотой дипептида и амино группой саморасщепляющегося Спейсерного Компонента (Y) для инициации высвобождения Лекарственного Компонента в виде свободного лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления дипептид известен как селективно расщепляемый

Катепсином В. В некоторых вариантах осуществления дипептид в сравнительном Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство представляет собой -валин-цитруллин- или -валин-аланин-. В некоторых вариантах осуществления дипептид в сравнительном Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство представляет собой -валин-цитруллин-. В некоторых вариантах осуществления дипептид в сравнительном Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство представляет собой -валин-аланин-. В некоторых вариантах осуществления переносимость относится к степени, в которой нежелательные явления, связанные с введением Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, влияют на способность или желание пациента придерживаться дозы или интенсивности терапии. Таким образом, улучшенная переносимость может достигаться путем уменьшения случаев или тяжести нежелательных явлений.

[0375] Не желая ограничиваться теорией, более вероятно, что агрегированные соединения-конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство будут распределяться в нормальной ткани (например, костном мозге), при этом известно, что нормальная ткань является источником вызываемого целевым и/или нецелевым эффектом нежелательного явления(явлений), испытываемого субъектом-млекопитающим при введении терапевтически эффективного количества Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство. В некоторых вариантах осуществления улучшенная переносимость демонстрируется уменьшенной скоростью агрегации Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, включающего трипептид, по сравнению с сравнительным Конъюгатом Лиганд-Лекарственное средство. В некоторых вариантах осуществления скорости агрегации Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, включающего трипептид, и сравнительного Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство определяют путем измерения концентраций высокомолекулярных агрегатов после инкубации конъюгатов в плазме крыс, плазме обезьян *cynomolgus* или плазме человека при одинаковой концентрации в течение 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов.

[0376] В некоторых вариантах осуществления улучшенная переносимость Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, включающего трипептид, демонстрируется улучшенной селективностью воздействия на опухолевую ткань по сравнению с нормальной тканью для высвобождения цитотоксического соединения, высвобождаемого из конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, включающего трипептид, по сравнению с цитотоксическим соединением, высвобождаемым из сравнительного Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство. В некоторых вариантах осуществления опухолевая ткань и нормальная ткань происходят от вида грызунов (например, крысы или мыши) или вида приматов (например, обезьяны *cynomolgus* или человека). В некоторых вариантах осуществления, когда опухолевая ткань и нормальная ткань происходят от вида, отличного от человека, нормальная ткань относится к тому же типу ткани у человека, и при этом цитотоксичность по отношению к клеткам этой ткани, по меньшей мере частично, ответственна за нежелательное явление у субъекта-человека, которому вводят терапевтически эффективное количество сравнительного Конъюгата Лиганд-

Лекарственное средство. В некоторых вариантах осуществления нормальной тканью является ткань костного мозга, печени, почек, пищевода, молочной железы или роговицы. В некоторых вариантах осуществления нормальной тканью является костный мозг.

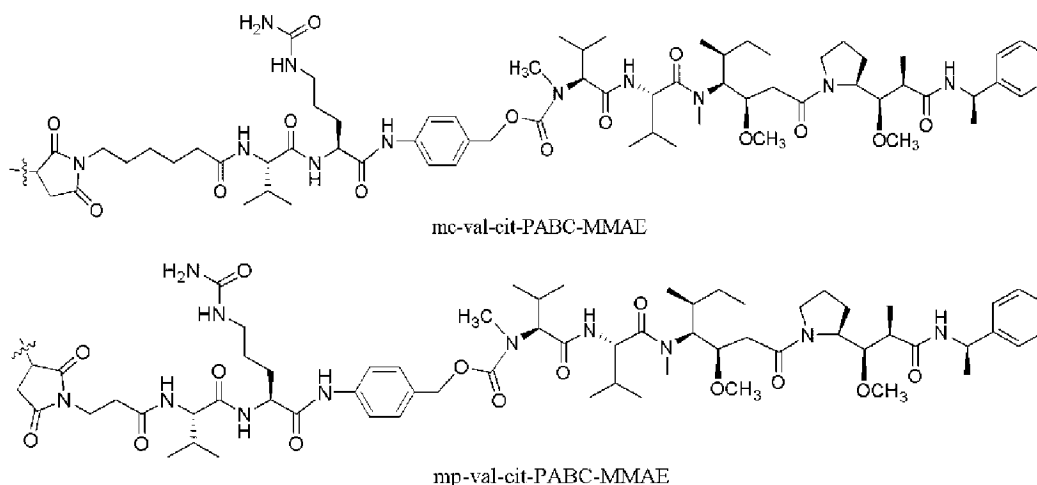
[377] В некоторых вариантах осуществления улучшенная селективность воздействия демонстрируется снижением концентрации в плазме свободного цитотоксического соединения, высвобождаемого из Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, содержащего трипептид, по сравнению с сравнительным Конъюгатом Лиганд-Лекарственное средство, когда конъюгаты вводят в той же дозе. В некоторых вариантах осуществления Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство, содержащий трипептид, сохраняет эффективность (например, обеспечивает по существу такое же уменьшение объема опухоли по сравнению с сравнительным Конъюгатом Лиганд-Лекарственное средство) в модели ксенотрансплантата опухоли при введении в том же эффективном количестве и в том же режиме дозирования, которые ранее были определены для сравнительного Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство.

[0378] В некоторых вариантах осуществления улучшенная селективность воздействия демонстрируется снижением опосредованной нецелевым эффектом цитотоксичности или сохранением нормальных клеток в нормальной ткани по сравнению с сравнительным Конъюгатом Лиганд-Лекарственное средство, когда конъюгаты вводят в той же дозе. В некоторых вариантах осуществления нормальной тканью является ткань костного мозга, печени, почек, пищевода, молочной железы или роговицы. В некоторых вариантах осуществления нормальной тканью является костный мозг. В некоторых вариантах осуществления снижение опосредованной нецелевым эффектом цитотоксичности или сохранение нормальных клеток в нормальной ткани демонстрируется гистологией костного мозга (например, уменьшение потери окрашивания ядер моноклеарных клеток). В некоторых вариантах осуществления снижение опосредованной нецелевым эффектом цитотоксичности или сохранение нормальных клеток демонстрируется уменьшением потери нейтрофилов и/или ретикулоцитов и/или более быстрым восстановлением после этой потери. В некоторых вариантах осуществления снижение опосредованной нецелевым эффектом цитотоксичности или сохранение нормальных клеток демонстрируется снижением потери нейтрофилов. В некоторых вариантах осуществления снижение опосредованной нецелевым эффектом цитотоксичности или сохранение нормальных клеток демонстрируется снижением потери ретикулоцитов. В некоторых вариантах осуществления Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство, содержащий трипептид, сохраняет эффективность в модели ксенотрансплантата опухоли при введении в том же самом эффективном количестве и в том же дозовом режиме, которые ранее были определены для сравнительного Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство. В некоторых вариантах осуществления при сравнении селективности воздействия между Конъюгатом Лиганд-Лекарственное средство, содержащим трипептид, и сравнительным Конъюгатом Лиганд-Лекарственное средство Лигандные Компоненты обоих конъюгатов заменены

несвязывающим антителом.

[0379] В некоторых вариантах осуществления обеспечиваются Конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство (например, ADC), которые менее активны, чем сравнительный Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство (например, дипептид ADC, содержащий -val-cit-), либо *in vivo*, либо *in vitro*, но также существенно менее токсичны. Не желая ограничиваться теорией, не требуется, чтобы Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство был столь же активным, поскольку терапевтическое окно будет все же увеличиваться, если он менее активен и менее токсичен.

[0380] В предпочтительных вариантах осуществления амидная связь между карбоновой кислотой С-концевой аминокислоты трипептида и амино группой саморасщепляющегося Спейсерного Компонента (Y) является расщепляемой по меньшей мере одной, предпочтительно более чем одной, внутриклеточной протеазой для инициации высвобождения Лекарственного Компонента в виде свободного лекарственного средства. Когда Лекарственный Компонент представляет собой MMAE, фрагменты лекарственного средство-линкер сравнительного Конъюгата имеют формулу mc-val-cit-PABC-MMAE или mp-val-cit-PABC-MMAE, которые имеют структуры:



[0381] В других вариантах осуществления Пептидный Расщепляемый Компонент (W) Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство представляет собой пептидную последовательность, включающую тетрапептидный остаток, присоединенный непосредственно к D или опосредованно через по меньшей мере один саморасщепляющийся Спейсерный Компонент, где тетрапептидная последовательность - R3-R2-R1-[P-1]- распознается по меньшей мере одной внутриклеточной протеазой, предпочтительно более чем одной, где по меньшей мере одна внутриклеточная протеаза активирована в опухолевых клетках по сравнению с нормальными клетками, и более селективна к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани, которая состоит из опухолевых клеток, на которые должен нацеливаться Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство, по сравнению с гомогенатом нормальной ткани, где цитотоксичность для нормальной ткани ассоциируется с нежелательным явлением от введения сравнительного конъюгата Лиганд-Лекарственное средство. Пептидный Расщепляемый Компонент сравнительного

Конъюгата представляет собой дипептид, который придает селективность в отношении специфической внутриклеточной протеазы по сравнению со свободно циркулирующими протеазами. В этих тетрапептидных вариантах осуществления указанную селективность преимущественно относят за счет N-концевой трипептидной последовательности тетрапептида.

[0382] В предпочтительных вариантах осуществления, в которых пептидная последовательность включает тетрапептидный остаток, амидная связь между карбоновой кислотой C-концевой аминокислоты и оставшимся аминокислотным остатком этой тетрапептидной последовательности может расщепляться по меньшей мере одной внутриклеточной протеазой для инициации высвобождения свободного лекарственного средства, сначала высвобождая содержащий аминокислоту линкерный фрагмент, который затем подвергается удалению экзопептидазой его аминокислотного компонента, с получением второго линкерного фрагмента. Таким образом, P1-[P-1] связь в тетрапептиде -P3-P2-P1-[P-1]- расщепляется с высвобождением фрагмента лекарственное средство-линкер -[P-1]-Y_y-D. Второй линкерный фрагмент затем претерпевает саморасщепление его Спейсерного Компонента(компонентов), который занимал промежуточное положение между D и тетрапептидом W, с полным высвобождением D в виде свободного лекарственного средства.

[0383] В любом из описанных выше вариантов осуществления по меньшей мере одна протеаза, которая предпочтительно активирована в раковых клетках-мишенях, включает определенные катепсины, так как Катепсин В. В других вариантах осуществления P1-D, P1-Y- или P1-[P-1] связь может расщепляться несекретируемой внутриклеточной протеазой или совокупностью таких внутриклеточных протеаз раковых клеток-мишеней и одной или несколькими внеклеточными протеазами, которые связаны с тканевым микроокружением или активированы в тканевом микроокружении опухолевых клеток и которые отсутствуют или присутствуют на пониженных уровнях в тканевом микроокружении нормальных клеток, где цитотоксичность в отношении этих нормальных клеток типично связана с нежелательным явлением от введения эффективного количества сравнительного Конъюгата, в котором Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой дипептид, который придает селективность в отношении внутриклеточной протеазы по сравнению со свободно циркулирующими протеазами. В других вариантах осуществления P1-D, P1-Y- или P1-[P-1] связь может расщепляться несекретируемой внутриклеточной протеазой или совокупностью таких внутриклеточных протеаз раковых клеток-мишеней и менее подвержена протеолизу внеклеточной протеазой(протеазами), которая связана с нормальной тканью, по сравнению с сравнительным Конъюгатом, в котором Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой вышеуказанный дипептид. В некоторых из этих вариантов осуществления секретируемая протеаза в нормальной ткани представляет собой протеазу нейтрофилов, такую как протеазы, выбранные из группы, состоящей из Neu Эластазы, катепсина G и протеиназы 3.

[0384] В других предпочтительных вариантах осуществления трипептид в Конъюгате Лиганд-Лекарственное средство по настоящему изобретению придает общую селективность к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани, который включает опухолевые клетки, на которые должен быть нацелен Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство, по сравнению с гомогенатом нормальной ткани, где цитотоксичность для нормальной ткани ассоциируется с нежелательным явлением от введения сравнительного конъюгата Лиганд-Лекарственное средство. Пептидный Расщепляемый Компонент (W) в фрагментах лекарственное средство-линкер сравнительного Конъюгата представляет собой вышеуказанный дипептид, который придает селективность в отношении специфической внутриклеточной протеазы, активированной в раковых клетках опухолевой ткани, по сравнению со свободно циркулирующими протеазами. Другие предпочтительные трипептиды повышают биодистрибуцию Конъюгата в опухолевой ткани в ущерб биодистрибуции в нормальной ткани, где цитотоксичность для нормальной ткани ассоциируется с нежелательным явлением от введения сравнительного Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, в котором W представляет собой дипептид, который придает селективность в отношении специфической внутриклеточной протеазы по сравнению со свободно циркулирующими протеазами. Когда Лекарственный Компонент представляет собой MMAE, фрагменты лекарственное средство-линкер сравнительного Конъюгата имеют формулу mc-val-cit-PABC-MMAE или mp-val-cit-PABC-MMAE.

[0385] Было определено, что Конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство, имеющие линкеры, содержащие определенные состоящие из 3 остатков аминокислотные последовательности, обладают выгодными свойствами, такими как пониженная токсичность в одной или нескольких нормальных тканях (что может быть результатом дифференциального протеолиза) и улучшенные биофизические свойства (например, уменьшенная агрегация, более долгое время удерживания в организме перед клиренсом). Эти выгодные свойства могут быть получены в Конъюгатах Лиганд-Лекарственное средство, имеющих линкеры, содержащие последовательность из 3 аминокислот, в которой N-концевая аминокислота состоящей из 3 остатков последовательности представляет собой D-аминокислоту, а центральный и C-концевой остатки состоящей из 3 остатков последовательности представляют собой, в любом порядке, аминокислоту, которая отрицательно заряжена (например, при физиологическом pH плазмы), и аминокислоту, которая является полярной или которая имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту в D-аминокислотной конфигурации. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит D-Leu или D-Ala. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит D-Leu. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит D-Ala. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, имеющую алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, имеющую алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у валина. В

некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аланин. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит полярную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит серин. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, которая отрицательно заряжена (например, при физиологическом pH плазмы). В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления P3 аминокислота трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации. В некоторых вариантах осуществления P3 аминокислота представляет собой D-Leu или D-Ala. В некоторых вариантах осуществления P3 аминокислота представляет собой D-Leu. В некоторых вариантах осуществления P3 аминокислота представляет собой D-Ala. В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота трипептида имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина. В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у валина. В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота представляет собой аланин. В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота трипептида представляет собой полярную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота представляет собой серин. В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота трипептида отрицательно заряжена (например, при физиологическом pH плазмы). В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления P1 аминокислота трипептида имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина. В некоторых вариантах осуществления P1 аминокислота имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у валина. В некоторых вариантах осуществления P1 аминокислота представляет собой аланин. В некоторых вариантах осуществления P1 аминокислота трипептида представляет собой полярную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления P1 аминокислота представляет собой серин. В некоторых вариантах осуществления P1 аминокислота трипептида отрицательно заряжена (например, при физиологическом pH плазмы). В некоторых вариантах осуществления P1 аминокислота выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления одна из P2 или P1 аминокислот трипептида имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина (например, не больше, чем у валина), а другая из P2 или P1 аминокислот представляет собой полярную аминокислоту или отрицательно заряжена (например, при физиологическом pH плазмы). В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина (например, не больше, чем у валина), и P1 аминокислота представляет собой полярную аминокислоту или отрицательно заряжена (например, при физиологическом pH плазмы). В некоторых вариантах осуществления P1 аминокислота имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина

(например, не больше, чем у валина), и P2 аминокислота представляет собой полярную аминокислоту или отрицательно заряжена (например, при физиологическом pH плазмы). В некоторых вариантах осуществления -P2-P1- представляет собой -Ala-Glu-. В некоторых вариантах осуществления -P2-P1- представляет собой -Ala-Asp-. В некоторых вариантах осуществления P3 аминокислота трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации, одна из P2 или P1 аминокислот имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина (например, не больше, чем у валина), а другая из P2 или P1 аминокислот отрицательно заряжена (например, при физиологическом pH плазмы). В некоторых вариантах осуществления P3 аминокислота находится в D-аминокислотной конфигурации, P2 аминокислота имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина (например, не больше, чем у валина), и P1 аминокислота отрицательно заряжена (например, при физиологическом pH плазмы). В некоторых вариантах осуществления P3 аминокислота находится в D-аминокислотной конфигурации, P1 аминокислота имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина (например, не больше, чем у валина), и P2 аминокислота отрицательно заряжена (например, при физиологическом pH плазмы). В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- выбран из группы, состоящей из -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- и -D-Ala-Ala-Glu-.

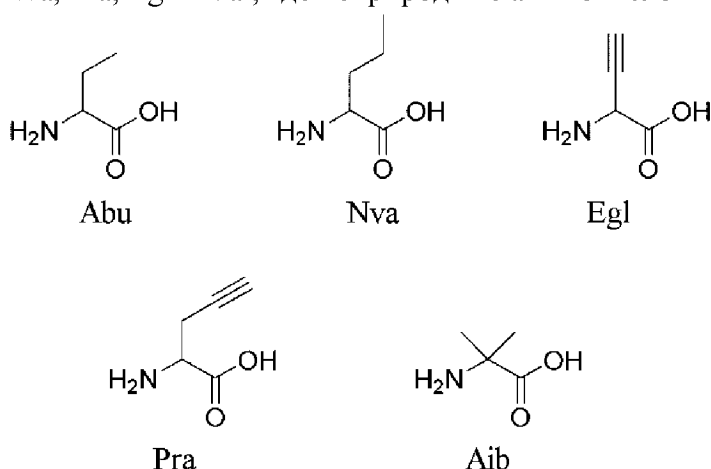
[0386] В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из аланина, цитруллина, пролина, изолейцина, лейцина и валина. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту в D-аминокислотной конфигурации. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит D-Leu. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит D-Ala. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту в D-аминокислотной конфигурации. В другом варианте осуществления трипептид содержит аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из D-лейцина и D-аланина. В другом варианте осуществления трипептид содержит D-лейцин. В другом варианте осуществления трипептид содержит D-аланин. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, имеющую боковую цепь с по меньшей мере одним заряженным (например, отрицательно заряженным при физиологическом pH плазмы) заместителем или по меньшей мере одним незаряженным заместителем с перманентным электрическим дипольным моментом, и одну или две дополнительных аминокислоты, которые имеют алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, имеющую алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина, такую как аланин или валин. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, имеющую алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у валина, такую как аланин. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит полярную аминокислоту, такую как аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цитруллин, метионин сульфоксид или γ -

карбокси-глутаминовая кислота. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, которая отрицательно заряжена (например, при физиологическом pH плазмы), такую как глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, или γ -карбокси-глутаминовая кислота. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, имеющую боковую цепь с по меньшей мере одним заряженным заместителем или по меньшей мере одним незаряженным заместителем с перманентным электрическим дипольным моментом, предпочтительно больше, чем в $-C(O)NH_2$. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, имеющую боковую цепь с по меньшей мере одним заряженным заместителем или по меньшей мере одним незаряженным заместителем с перманентным электрическим дипольным моментом, предпочтительно больше, чем в $-NH-C(O)NH_2$. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из аланина, α -аминомасляной кислоты, α -аминоизомасляной кислоты, аспарагиновой кислоты, цитруллина, γ -карбокси-глутаминовой кислоты, глутаминовой кислоты, глутамина, глицина, лейцина, норвалина, пролина, изолейцина, лейцина, лизина, метионин сульфоксида, нафтилаланина, О-аллил тирозина, фенилаланина, пропаргилглицина, 2-аминобут-3-иновой кислоты, пролин, селенометионина, серина, треонина и валина. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из аланина, аспарагиновой кислоты, цитруллина, γ -карбоксиглутаминовой кислоты, глутаминовой кислоты, глутамина, глицина, лейцина, пролина, изолейцина, лейцина, лизина, метионин сульфоксида, нафтилаланина, О-аллил тирозина, фенилаланина, пролина, селенометионина, серина, треонина и валина. Должно быть понятно, что аминокислота в любом из вариантов осуществления в настоящей заявке может быть природной или неприродной аминокислотой. Например, аланин может представлять собой D-аланин или L-аланин, а лейцин может представлять собой D-лейцин или L-лейцин.

[0387] В более предпочтительных трипептидах РЗ аминокислота выбрана из группы, состоящей из аланина, цитруллина, пролина, изолейцина, лейцина и валина, предпочтительно в D-аминокислотной конфигурации, при этом особенно предпочтительной является D-Leu. В другом варианте осуществления РЗ аминокислот находится в D-аминокислотной конфигурации. В другом варианте осуществления РЗ аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, лейцина, глутаминовой кислоты, лизина, О-аллил тирозина, фенилаланина, пролина и треонина. В другом варианте осуществления РЗ аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из D-аланина, D-лейцина, глутаминовой кислоты, лизина, О-аллил тирозина, фенилаланина, пролина и треонина. В другом варианте осуществления РЗ аминокислота в трипептиде представляет собой D-лейцин или D-аланин. В другом варианте осуществления РЗ аминокислота в трипептиде представляет собой D-лейцин. В другом варианте осуществления РЗ аминокислота в трипептиде представляет собой D-аланин.

[0388] В других более предпочтительных трипептидах Р2 аминокислота

представляет собой природную или неприродную аминокислоту, имеющую алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина, при этом более низкая гидрофобность более предпочтительна при большей гидрофобности P3 боковой цепи. В другом варианте осуществления P2 аминокислота представляет собой природную или неприродную аминокислоту, имеющую алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у валина. В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, валина, лейцина и метионина. В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, валина и метионина. В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота в трипептиде представляет собой аланин. В некоторых из этих предпочтительных трипептидов P2 выбрана из группы, состоящей из Abu, Aib, Ala, Gly, Leu, Nva, Pra, Egl и Val, где неприродные аминокислоты имеют структуры:



Для Abu, Ala, Leu, Nva и Pra в качестве P2 аминокислотного остатка боковая цепь предпочтительно находится в L-конфигурации. В другом варианте осуществления P2 аминокислота в трипептиде представляет собой полярную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, аспарагина, глутамина, серина, треонина, тирозина, цитруллина, метионин сульфоксида и γ-карбокси-глутаминовой кислоты. В другом варианте осуществления P2 аминокислота в трипептиде отрицательно заряжена (например, при физиологическом pH плазмы). В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты и γ-карбокси-глутаминовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота в трипептиде представляет собой аланин. В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота в трипептиде представляет собой серин. В некоторых вариантах осуществления P2 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, валина, лейцина, метионина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, аспарагина, глутамина, серина, треонина, тирозина, цитруллина,

метионин сульфоксида и γ -карбокси-глутаминовой кислоты.

[0389] В еще более предпочтительных трипептидах P1 аминокислота представляет собой природную или неприродную аминокислоту, имеющую боковую цепь с по меньшей мере одним заряженным заместителем или по меньшей мере одним незаряженным заместителем с перманентным электрическим дипольным моментом, предпочтительно больше чем в $-C(O)NH_2$. В другом варианте осуществления P1 аминокислота представляет собой природную или неприродную аминокислоту, имеющую боковую цепь с по меньшей мере одним заряженным заместителем или по меньшей мере одним незаряженным заместителем с перманентным электрическим дипольным моментом, предпочтительно больше чем в $-NH-C(O)NH_2$. В некоторых этих предпочтительных трипептидах P1 выбран из группы, состоящей из Glu, Asp, γ -карбокси-глутаминовой кислоты, лизина, метионин сульфоксида, иногда указанного как Met(O), и фосфо-треонина, в котором боковая цепь предпочтительно находится в L-стереохимической конфигурации, при этом Glu, Asp, γ -карбокси-глутаминовая кислот и Met(O) более предпочтительны, а особенно предпочтителен Glu. В некоторых вариантах осуществления P1 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, аспарагиновой кислоты, цитруллина, γ -карбокси-глутаминовой кислоты, глутаминовой кислоты, глутамина, лейцина, лизина, метионин сульфоксида и селенометионина. В некоторых вариантах осуществления P1 аминокислота в трипептиде представляет собой глутаминовую кислоту. В некоторых вариантах осуществления P1 аминокислота представляет собой природную или неприродную аминокислоту, имеющую алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина, при этом более низкая гидрофобность более предпочтительна при большей гидрофобности P3 боковой цепи. В другом варианте осуществления, P1 аминокислота представляет собой природную или неприродную аминокислоту, имеющую алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у валина. В некоторых вариантах осуществления P1 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, валина, лейцина и метионина. В некоторых вариантах осуществления P1 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, валина и метионина. В некоторых вариантах осуществления P1 аминокислота в трипептиде представляет собой аланин. В другом варианте осуществления P1 аминокислота в трипептиде представляет собой полярную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления P1 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, аспарагина, глутамина, серина, треонина, тирозина, цитруллина, метионин сульфоксида и γ -карбокси-глутаминовой кислоты. В другом варианте осуществления P1 аминокислота в трипептиде отрицательно заряжена (например, при физиологическом pH плазмы). В некоторых вариантах осуществления P1 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты и γ -карбокси-глутаминовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления P1 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты. В некоторых вариантах

[0394] В другом варианте осуществления РЗ аминокислота в трипептиде представляет собой D-лейцин или D-аланин, Р2 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты, и Р1 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, аспарагиновой кислоты, цитруллина, γ -карбокси-глутаминовой кислоты, глутаминовой кислоты,

глутамин, лейцин, лизин, метионин сульфоксида и селенометионина. В другом варианте осуществления Р3 аминокислота в трипептиде представляет собой D-лейцин или D-аланин, Р2 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты, и Р1 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты. В другом варианте осуществления Р3 аминокислота в трипептиде представляет собой D-лейцин или D-аланин, Р2 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты, и Р1 аминокислота в трипептиде представляет собой аланин.

[0395] В другом варианте осуществления Р3 аминокислота в трипептиде представляет собой D-лейцин или D-аланин, Р2 аминокислота в трипептиде представляет собой аланин, и Р1 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, аспарагиновой кислоты, цитруллина, γ -карбокси-глутаминовой кислоты, глутаминовой кислоты, глутамин, лейцин, лизин, метионин сульфоксида и селенометионина. В другом варианте осуществления Р3 аминокислота в трипептиде представляет собой D-лейцин или D-аланин, Р2 аминокислота в трипептиде представляет собой аланин, и Р1 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты.

[0396] В некоторых вариантах осуществления Р3 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, D-аланина, D-лейцина, глутаминовой кислоты, L-лейцина, O-аллил тирозина, фенилаланина, пролина, треонина и валина.

[0397] В некоторых вариантах осуществления Р2 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из α -аминоизомасляной кислоты, аланина, D-лейцина, глутаминовой кислоты, глутамин, глицин, лейцин, пролин, серин и валин.

[0398] В некоторых вариантах осуществления Р1 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, аспарагиновой кислоты, цитруллина, γ -карбокси-глутаминовой кислоты, глутаминовой кислоты, глутамин, лейцин и лизин.

[0399] В некоторых вариантах осуществления Р3 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, D-аланина, D-лейцина, глутаминовой кислоты, L-лейцина, O-аллил тирозина, фенилаланина, пролина, треонина и валина, Р2 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из α -аминоизомасляной кислоты, аланина, D-лейцина, глутаминовой кислоты, глутамин, глицин, лейцин, пролин, серин и валин, и Р1 аминокислота в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, аспарагиновой кислоты, цитруллина, γ -карбокси-глутаминовой кислоты, глутаминовой кислоты, глутамин, лейцин и лизин, где -Р3-Р2-Р1- не является -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-. В некоторых варианты осуществления любого из вариантов, представленных в настоящей заявке, -Р3-Р2-Р1- не является -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-.

[0400] В некоторых вариантах осуществления трипептидов Р3 аминокислота находится в D-аминокислотной конфигурации, одна из Р2 или Р1 аминокислот имеет

алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина (например, не больше, чем у валина), а другая из P2 или P1 аминокислот представляет собой полярную аминокислоту или отрицательно заряжена (например, при физиологическом pH плазмы). В некоторых вариантах осуществления P3 аминокислота находится в D-аминокислотной конфигурации, P2 аминокислота имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина (например, не больше, чем у валина), и P1 аминокислота представляет собой полярную аминокислоту или отрицательно заряжена (например, при физиологическом pH плазмы). В некоторых вариантах осуществления P3 аминокислота находится в D-аминокислотной конфигурации, P1 аминокислота имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина (например, не больше, чем у валина), и P2 аминокислота представляет собой полярную аминокислоту или отрицательно заряжена (например, при физиологическом pH плазмы). В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- выбран из группы, состоящей из -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- и -D-Ala-Ala-Glu-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- выбран из группы, состоящей из -D-Leu-Asp-Ala-, -D-Leu-Glu-Ala-, -D-Ala-Asp-Ala- и -D-Ala-Glu-Ala-.

[0401] В других особенно предпочтительных вариантах осуществления -P2-P1- выбран из группы, состоящей из -Ala-Glu-, -Leu-Glu-, -Ala-Met(O)- и -Leu-Met(O)-, с боковыми цепями обеих аминокислот в L-стереохимической конфигурации. В некоторых вариантах осуществления -P2-P1- выбран из группы, состоящей из -Ala-Ala-, -Ala-Asp-, -Ala-Cit-, -Ala-(γ-карбокси-глутаминовая кислота)-, -Ala-Glu-, -Ala-Gln-, -Ala-Leu-, -Ala-Lys-, -Ala-Met(O)-, -Ala-селенометионин-, -D-Leu-Glu-, -Leu-Glu-, -Glu-Ala-, -Glu-Cit-, -Glu-Leu-, -Gly-Glu-, -Leu-Cit-, -Leu-Glu-, -Leu-Lys-, -Leu-Met(O)-, -(нафтилаланин)-Lys-, -Pro-Cit-, -Ser-Asp-, -Ser-Glu-, -Val-Cit- и -Val-Gln-. В некоторых вариантах осуществления -P2-P1- представляет собой -Ala-Glu-. В некоторых вариантах осуществления -P2-P1- представляет собой -Ala-Asp-.

[0402] В некоторых вариантах осуществления -P3-P2- выбран из группы, состоящей из -Ala-Ser-, -Ala-Ala-, -Leu-Ala-, -Leu-Glu-, -Leu-Gly-, -Leu-Leu-, -Leu-Ser-, -Leu-Val-, -Glu-Ala-, -Glu-Leu-, -Glu-Pro-, -Glu-Val-, -Lys-Leu-, -(O-аллил тирозин)-Leu-, -(O-аллил тирозин)-Pro-, -Phe-Ser-, -Pro-Leu-, -Pro-(нафтилаланин)- и -Thr-Glu-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2- выбран из группы, состоящей из -Ala-Ser-, -D-Ala-Ala-, -D-Leu-Ala-, -D-Leu-Glu-, -D-Leu-Gly-, -D-Leu-Leu-, -D-Leu-Ser-, -D-Leu-Val-, -Glu-Ala-, -Glu-Leu-, -Glu-Pro-, -Glu-Val-, -L-Leu-Ala-, -Lys-Leu-, -(O-аллил тирозин)-D-Leu-, -(O-аллил тирозин)-Pro-, -Phe-Ser-, -Pro-Leu-, -Pro-(нафтилаланин)- и -Thr-Glu-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2- представляет собой -D-Leu-Ala- или -L-Leu-Ala-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2- представляет собой -D-Leu-Ala-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2- представляет собой -D-Ala-Ala-.

[0403] В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- выбран из группы, состоящей из -Ala-Ser-Asp-, -Ala-Ser-Glu-, -Ala-Ala-Cit-, -Ala-Ala-Glu-, -Leu-Ala-Ala-, -Leu-Ala-Asp-, -Leu-Ala-Cit-, -Leu-Ala-(γ-карбокси-глутаминовая кислота)-, -Leu-Ala-Glu-, -Leu-

Ala-Gln-, -Leu-Ala-Leu-, -Leu-Ala-Lys-, -Leu-Ala-Met(O)-, -Leu-Ala-(селенометионин)-, -Leu-Glu-Ala-, -Leu-Glu-Cit-, -Leu-Gly-Glu-, -Leu-Leu-Cit-, -Leu-Leu-Glu-, -Leu-Leu-Lys-, -Leu-Leu-Met(O)-, -Leu-Ser-Glu-, -Leu-Val-Gln-, -Glu-Ala-Leu-, -Glu-Leu-Cit-, -Glu-Pro-Cit-, -Lys-Leu-Cit-, -(О-аллил тирозин)-Leu-Glu-, -(О-аллил тирозин)-Pro-Cit-, -Phe-Ser-Glu-, -Pro-Leu-Glu-, -Pro-(нафтилаланин)-Lys- и -Thr-Glu-Leu-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- выбран из группы, состоящей из -Ala-Ser-Asp-, -Ala-Ser-Glu-, -D-Ala-Ala-Cit-, -D-Ala-Ala-Glu-, -D-Leu-Ala-Ala-, -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Cit-, -D-Leu-Ala-(γ-карбокси-глутаминовая кислота)-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Leu-Ala-Gln-, -D-Leu-Ala-Leu-, -D-Leu-Ala-Lys-, -D-Leu-Ala-Met(O)-, -D-Leu-Ala-(селенометионин)-, -D-Leu-Glu-Ala-, -D-Leu-Glu-Cit-, -D-Leu-Gly-Glu-, -D-Leu-Leu-Cit-, -D-Leu-Leu-Glu-, -D-Leu-Leu-Lys-, -D-Leu-Leu-Met(O)-, -D-Leu-Ser-Glu-, -D-Leu-Val-Gln-, -Glu-Ala-Leu-, -Glu-Leu-Cit-, -Glu-Pro-Cit-, -L-Leu-Ala-Glu-, -Lys-Leu-Cit-, -(О-аллил тирозин)-D-Leu-Glu-, -(О-аллил тирозин)-Pro-Cit-, -Phe-Ser-Glu-, -Pro-Leu-Glu-, -Pro-(нафтилаланин)-Lys- и -Thr-Glu-Leu-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- выбран из группы, состоящей из Ala-Cit-Cit-, -Cit-Cit-Cit-, -Cit-Glu-Cit-, -Cit-Glu-Glu-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Leu-Ala-Lys-, -D-Leu-Cit-Glu-, -D-Leu-Glu-Lys-, -D-Leu-Leu-Cit-, -D-Leu-Leu-Glu-, -D-Leu-Leu-Lys-, -D-Leu-Leu-Met(O)-, -D-Leu-Phe-Glu-, -Glu-Ala-Glu-, -Glu-Ala-Met(O)-, -Glu-Glu-Cit-, -Leu-(нафтилаланин)-Lys-, -Lys-Glu-Met(O)-, -Pro-Ala-Cit-, -Pro-Ala-Glu-, -Pro-Cit-Cit-, -Pro-Cit-Glu-, -Pro-Glu-Ala-, -Pro-Glu-Cit-, -Pro-Glu-Glu-, -Pro-Glu-Lys-, -Pro-Lys-Glu-, -Pro-(нафтилаланин)-Lys- и -Thr-Cit-Cit-.

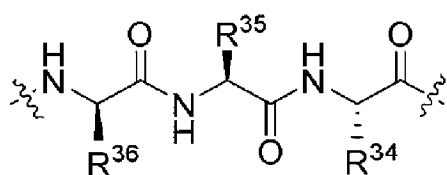
[0404] Должно быть понятно, что Пептидный Расщепляемый Компонент (W) Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство представляет собой пептидную последовательность, которая может содержать более трех аминокислот. В пептидных последовательностях, содержащих четыре или более аминокислот, трипептид, описанный в настоящей заявке, представляет собой любые три смежные аминокислоты в последовательности (т.е. трипептид может занимать любые три смежных положения последовательности). Поэтому варианты осуществления, описанные в настоящей заявке для P1, P2 и P3, могут быть применимы к аминокислотам из любых положений, которые соответствуют трем смежным аминокислотам Пептидного Расщепляемого Компонента (W). Например, если трипептид, который распознается внутриклеточной протеазой, находится в положениях -P6-P5-P4-, варианты осуществления для P3, описанные в настоящей заявке, распространяются на P6, варианты осуществления для P2, описанные в настоящей заявке, распространяются на P5, и варианты осуществления для P1, описанные в настоящей заявке, распространяются на P4. В другом примере, если трипептид, который распознается внутриклеточной протеазой, находится в положениях -P4-P3-P2-, варианты осуществления для P3, описанные в настоящей заявке, распространяются на P4, варианты осуществления для P2, описанные в настоящей заявке, распространяются на P3, и варианты осуществления для P1, описанные в настоящей заявке, распространяются на P2. Также должно быть понятно, что для Пептидного Расщепляемого Компонента (W), в котором трипептид находится в положениях, отличных от -P3-P2-P1-, P1 аминокислота

Пептидного Расщепляемого Компонента (W) представляет собой аминокислоту, которая поддается расщеплению, например под действием эндопептидаз. В некоторых варианты осуществления P1 аминокислота не находится в D-конфигурации. В некоторых вариантах осуществления C-концевая аминокислота представляет собой γ -карбокси-глутаминовую кислоту. В некоторых вариантах осуществления, где Пептидный Расщепляемый Компонент содержит четыре или более аминокислот, аминокислота(аминокислоты), не относящаяся к трипептиду, не повышает в целом гидрофобность пептидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления, когда Пептидный Расщепляемый Компонент содержит аминокислоту(аминокислоты) в дополнение к трипептиду, дополнительная аминокислота(аминокислоты) не содержат гидрофобные остатки (например, остатки более гидрофобный, чем лейцин, или остатки более гидрофобные, чем валин).

[0405] Гидрофобность данного соединения, включая относительную гидрофобность различных соединений, можно оценить экспериментально или расчетным путем с использованием методов, известных в данной области техники. Гидрофобность можно оценить, например, путем определения коэффициента распределения P, который может быть определен экспериментально и выражен как $\log P$, или который может быть определен расчетным путем и выражен как $\text{clog} P$. Значения $\text{clog} P$ можно рассчитать с использованием различных типов коммерчески доступных программ, таких как ChemDraw или DataWarrior. Такие способы можно использовать для оценки гидрофобности аминокислоты или для оценки относительной гидрофобности различных аминокислот. Такие способы также можно использовать для оценки гидрофобности соединения Лекарственное средство-Линкер, как описано в настоящем документе, или для оценки относительной гидрофобности различных Соединений Лекарственное средство-Линкер.

[0406] В некоторых вариантах осуществления обеспечиваются Конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство (например, ADC), которые менее активны, чем сравнительный Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство (например, дипептидный ADC, содержащий -val-cit-), либо *in vivo*, либо *in vitro*, но также значительно менее токсичны. Не желая ограничиваться теорией, не требуется, чтобы Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство был столь же активным, потому что терапевтическое окно все же будет увеличиваться, если он менее активен и менее токсичен. Иллюстративное соединение, проявляющее этот эффект, может включать соединения 38 и 39 в настоящей заявке с AIB в положении P2.

[0407] В других особенно предпочтительных вариантах осуществления трипептид имеет структуру:



[0408] или его соль, в частности фармацевтически приемлемая соль, где волнистая линия у атома азота N-концевой аминокислоты трипептида, которая указана как P3 в вышеописанных соединениях Лекарственное средство-Линкер и в полученных из них фрагментах лекарственное средство-линкер Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, указывает место ковалентного присоединения в виде амидной связи к P4 аминокислотному остатку, когда W включает тетрапептид, где придающий селективность трипептид представляет собой C-концевой компонент тетрапептида, или к A' или L_R/L_R', когда W включает трипептид и нижний индекс a' равен 1 или 0, соответственно, и волнистая линия у C-концевого аминокислотного остатка трипептида, который указан как P1 в вышеописанных соединениях Лекарственное средство-Линкер и в полученных из них фрагментах лекарственное средство-линкер Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, указывает место ковалентного присоединения к P-1 остатку, когда W включает тетрапептид, где придающий селективность трипептид представляет собой N-концевой компонент тетрапептида, или к -Y_y-D, когда W включает трипептид; и

[0409] где R³⁶, в R стереохимической конфигурации, представляет собой -CH(CH₃)₂, R³⁵ представляет собой -CH(CH₃)₂ или -CH₃, и R³⁴ представляет собой -CH₂SH, -CH₂CH₂CH₂CH₂NH₂, -CH(OH)CH₃ или -CH₂CH₂CO₂H.

[0410] В еще более предпочтительных фрагментах и соединениях Лекарственное средство-Линкер R³⁶ представляет собой -CH(CH₃)₂ в R стереохимической конфигурации, а R³⁴ представляет собой -CH₂CH₂CO₂H. В особенно предпочтительных вариантах осуществления R³⁶ представляет собой -CH(CH₃)₂ в R стереохимической конфигурации; и R³⁵ представляет собой -CH₃ и R³⁴ представляет собой -CH₂CH₂CO₂H, оба из которых находятся в S стереохимической конфигурации, как показано.

[0411] В некоторых вариантах осуществления гомогенат нормальной ткани происходит из костного мозга, а гомогенат опухолевой ткани происходит из опухоли модели ксенотрансплантата того же самого вида, где бóльшая селективность к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с гомогенатом нормальной ткани определена по сравнению с сравнительным Конъюгатом, имеющим val-cit дипептидный Расщепляемый Компонент. В некоторых вариантах осуществления бóльшая селективность в отношении опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью для Конъюгата Антитело-Лекарственное средство, в котором Пептидный Расщепляемый Компонент включает придающий селективность трипептид, показана в модели ксенотрансплантата существенным сохранением профиля роста опухоли, полученным при введении Конъюгата Антитело-Лекарственное средство, в котором Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой val-cit, и введении соответствующего не связывающегося контрольного Конъюгата на основе трипептида, показывающего пониженную опосредованную нецелевым эффектом цитотоксичность для нормального костного мозга, при сравнении с соответствующим не связывающимся контролем на основе дипептида, где эта цитотоксичность для нормальных клеток ответственна за нежелательное явление, ассоциируемое с введением ADC на основе дипептида при его

максимально переносимой дозе. В некоторых вариантах осуществления нормальная ткань представляет собой ткань костного мозга, печени, почки, пищевода, молочной железы или роговицы.

[0412] В некоторых из этих вариантов осуществления пониженную опосредованную нецелевым эффектом цитотоксичность наблюдают в гистологическом анализе нормальной ткани (например, костного мозга, печени, почки, пищевода, молочной железы, или роговицы) от одного и того же или разных видов грызунов, используемой в модели ксенотрансплантата, при введении не связывающегося контрольного конъюгата, соответствующего нацеливающему Конъюгату Антитело-Лекарственное средство на основе трипептида, показывающем меньшую потерю окрашивания ядер моноклеарных клеток по сравнению с тем, что наблюдали при введении не связывающегося контроля на основе дипептида, с получением таким образом улучшенного терапевтического окна для ADC на основе трипептида. В некоторых вариантах осуществления нормальная ткань представляет собой ткань костного мозга. В предпочтительном варианте осуществления в модели ксенотрансплантата используют мышь, а костный мозг получен от крысы, поскольку крыса более чувствительна к ММАЕ токсичности, чем мышь. В других вариантах осуществления улучшение переносимости показано уменьшением потери нейтрофилов и/или ретикулоцитов и/или более быстрым восстановлением после этой потери.

[0413] 2.2.4 Удлиняющие Компоненты

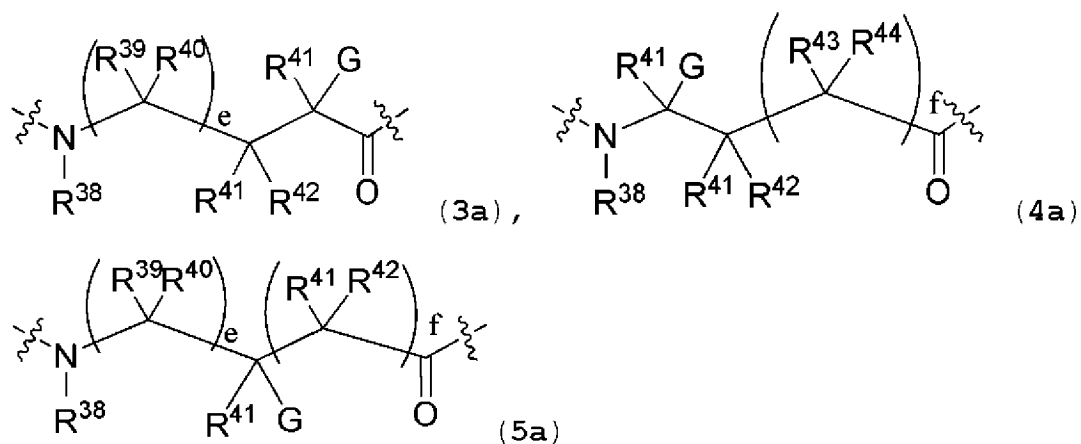
[0414] В указанных выше и следующих вариантах осуществления первичный линкер в фрагменте лекарственное средство-линкер Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство может быть представлен общей формулой $-M^2-A(BU)-[HE]-A_O-B-$, $-M^2-A(BU)-[HE]-A'_{a'}-$, $-M^2-A-[HE]-A_O-B-$, $-M^2-A-[HE]-A'_{a'}-$, $-M^3-A(BU)-[HE]-A_O-B-$ или $-M^3-A(BU)-[HE]-A'_{a'}-$, и первичный линкер соединения Лекарственное средство-Линкер, которое можно использовать для получения конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, может быть представлен общей формулой $M^1-A(BU)-[HE]-A_O-B-$, $M^1-A(BU)-[HE]-A'_{a'}-$, $M^1-A-[HE]-A_O-B-$, или $M^1-A-[HE]-A'_{a'}-$, где BU представляет собой ациклический или циклический Основной Компонент; [HE], если присутствует, представляет собой предпочтительно $-C(=O)-$, который обеспечивается первым необязательным Удлиняющим Компонентом (A), который присутствует; M^2 представляет собой сукцинимидную группу; M^3 представляет собой группу амида янтарной кислоты и M^1 представляет собой малеимидную группу, где A представляет собой либо единую дискретную единицу, либо первую субъединицу A, которая иногда указана как A_1 , когда A_O присутствует в качестве второй субъединицы A, которая иногда указана как A_2 , где A/A_2 ковалентно связан с A' в этих первичных линкерах, не содержащих Разветвляющийся Компонент (B), и где нижний индекс a' равен 1, таким образом, A' становится субъединицей A, или ковалентно связан с W, когда нижний индекс a' равен 0, или ковалентно связана с B в этих первичных линкерах, содержащих Разветвляющийся Компонент.

[0415] Когда либо A_O , либо A' присутствует в любом из этих вариантов

осуществления, эта субъединица первого Удлиняющего Компонента (А) указана как A_2 для обозначения ее как субъединицы А, где предпочтительно A_O/A' соответствуют независимо по структуре необязательно замещенному амин-содержащему кислотному (например, аминокислоте) остатку, где остаток карбоновокислотного конца амин-содержащей кислоты ковалентно связан с В в этих первичных линкерах, в которых этот компонент присутствует, или с A' , если присутствует как A_2 , или с W в этих первичных линкерах, в которых В и A' отсутствуют, где указанное ковалентное присоединение происходит через амидную функциональную группу, и остаток амино-конца ковалентно связан с остальной частью А. Если В присутствует и A_O отсутствует, А представляет собой единую дискретную единицу, которая связана с В, и если В отсутствует и А представляет собой единую дискретную единицу, тогда А связан с W через [HE], который обеспечивается посредством А, где [HE] представляет собой $-C(=O)-$.

[0416] В некоторых из этих вариантов осуществления A_O/A' имеет или включает формулу $-L^P(\text{ПЭГ})-$, где L^P представляет собой Параллельный Соединительный Компонент и ПЭГ представляет собой ПЭГ Компонент. В этих вариантах осуществления ПЭГ Компонент содержит в общей сложности 2-36 этиленокси мономерных звеньев, и L^P представляет собой амин-содержащий кислотный остаток, предпочтительно аминокислотный остаток, ковалентно связанный в LU фрагменте лекарственное средство-линкер соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство или LU' соединения Лекарственное средство-Линкер через амидный функциональные группы. В предпочтительных вариантах осуществления ПЭГ Компонент содержит в общей сложности 4-24 смежных этиленокси мономерных звеньев.

[0417] В других из этих вариантов осуществления A_O/A' представляет собой амин-содержащий кислотный остаток, имеющий структуру формулы 3a, формулы 4a или формулы 5a:



[0418] где волнистая линия смежная с атомом азота указывает место ковалентного присоединения к остальной части А, и волнистая линия смежная с карбонильным атомом углерода указывает место ковалентного присоединения к В, если В присутствует, или к A'/W , когда В отсутствует; нижние индексы е и f независимо равны 0 или 1; и

[0419] G представляет собой водород, $-OH$, $-OR^{PR}$, $-CO_2H$, $-CO_2R^{PR}$ или

необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, где необязательный заместитель, если присутствует, выбран из группы, состоящей из -OH, -OR^{PR}, -CO₂H и -CO₂R^{PR}; и где R^{PR} представляет собой подходящую защитную группу, или

[0420] G представляет собой N(R^{PR})(R^{PR}) или необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, где необязательный заместитель, если присутствует, представляет собой N(R^{PR})(R^{PR}), где R^{PR} независимо представляют собой защитную группу или R^{PR} вместе образуют подходящую защитную группу, или

[0421] G представляет собой -N(R⁴⁵)(R⁴⁶), или необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, где необязательный заместитель, если присутствует, представляет собой -N(R⁴⁵)(R⁴⁶), где один из R⁴⁵ и R⁴⁶ представляет собой водород или R^{PR}, где R^{PR} представляет собой подходящую защитную группу, а другой представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆ алкил;

[0422] R³⁸ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆ алкил; и

[0423] R³⁹-R⁴⁴ независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C₁-C₆ алкила, необязательно замещенного C₆-C₂₀ арила и необязательно замещенного C₅-C₂₀ гетероарила, или

[0424] R³⁹, R⁴⁰ вместе с атомом углерода, с которым оба связаны, определяют C₃-C₆ карбоцикло, и R⁴¹-R⁴⁴ имеют значение, определенное в настоящей заявке,

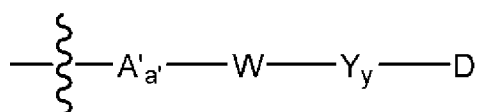
[0425] или R⁴³, R⁴⁴ вместе с атомом углерода, с которым оба связаны, определяют C₃-C₆ карбоцикло, и R³⁹-R⁴² имеют значение, определенное в настоящей заявке,

[0426] или R⁴⁰ и R⁴¹, или R⁴⁰ и R⁴³, или R⁴¹ и R⁴³ вместе с атомом углерода или гетероатомом, с которым оба связаны, и атомами, находящимися между этими атомами углерода и/или гетероатомами, определяют C₅-C₆ карбоцикло или C₅-C₆ гетероцикло, и R³⁹, R⁴⁴ и остальные из R⁴⁰-R⁴³ имеют значение, определенное в настоящей заявке,

[0427] или A_O/A' представляет собой α-амино или β-аминокислотный остаток, где атом азота α-амино остатка ковалентно связан с остальной частью A, и карбонильный атом углерода его карбоновокислотного остатка ковалентно связан с B, если B присутствует, или с W, когда B отсутствует, где оба присоединения предпочтительно происходят через амидные функциональные группы.

[0428] 2.2.5 Спейсерные Компоненты

[0429] Спейсерный Компонент представляет собой компонент вторичного линкера (L_O) Соединения Лекарственное средство-Линкер или Линкерного Компонента в фрагменте лекарственное средство-линкер соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, представленного структурой:



[0430] в которой нижний индекс у равен 1 или 2, указывая на присутствие одного или двух Спейсерных Компонентов, таким образом, Y_y представляет собой Y или -Y-Y'-,

где нижний индекс a равен 0 или 1, A' представляет собой необязательный первый Удлиняющий Компонент, который становится компонентом первичного линкера (L_R/L_R') в качестве субъединицы первого необязательного Удлиняющего Компонента (A), который присутствует, когда нижний индекс a' равен 1, нет никакого Разветвляющегося Компонента (B) в L_R/L_R' ; W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент формулы $-[P_n]...[P3]-[P2]-[P1]-$ или $[P_n]...[P3]-[P2]-[P1]-[P-1]-$, где нижний индекс n находится в пределах от 0 до 12 (например, 0-10, 3-12 или 3-10), и $P_n...P3$, $P2$, $P1$, $P-1$ представляют собой аминокислотные остатки, где $P1$, $P2$ и $P3$ являются аминокислотными остатками трипептида, придающего селективность к протеазному расщеплению гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с гомогенатом нормальной ткани, как описано в настоящей заявке, и/или который изменяет биодистрибуцию Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство таким образом, что конъюгат, Пептидный Расщепляемый Компонент которого включает $P3-P2-P1$ трипептид, отдает предпочтение опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью, когда сравнивают с биодистрибуцией сравнительного пептида, в котором Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой дипептид val-cit.

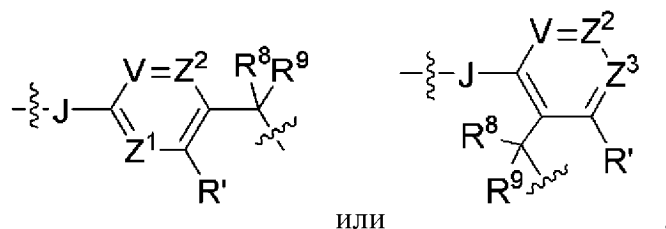
[0431] Когда W не содержит $P-1$ остаток, протеолитическое действие на L_0 высвобождает фрагмент лекарственное средство-линкер формулы $-Y-D$, когда нижний индекс y равен 1, или $-Y-Y'-D$, когда нижний индекс y равен 2, где Y представляет собой первый Спейсерный Компонент, а Y' представляет собой второй Спейсерный Компонент, в результате чего Спейсерные Компоненты в этих фрагментах претерпевают саморасщепление с полным высвобождением D в виде свободного лекарственного средства. Когда W не содержит $P-1$ остаток, протеолитическое действие на L_0 высвобождает первый фрагмент лекарственное средство-линкер формулы $[P-1]-Y-D$ или $[P-1]-Y-Y'-D$. Однако для удобства $P-1$ остаток будет связан с последовательностью в SEQ ID, описывающих такие Пептидные Расщепляемые Компоненты. Для завершения высвобождения свободного лекарственного средства тогда требуется экзопептидазное действие для удаления $[P-1]$ аминокислотного остатка для обеспечения либо $Y-D$, либо $-Y-Y'-D$ в качестве второго фрагмента лекарственное средство-линкер аналогично тому, когда W не содержит $P-1$ остаток. $-Y-Y'-D$ линкерный фрагмент затем переходит в третий фрагмент лекарственное средство-линкер формулы $Y'-D$. В любом варианте $Y-D$ или $Y'-D$ спонтанно расщепляется с полным высвобождением D в виде свободного лекарственного средства.

[0431] Саморасщепляющийся Спейсерный Компонент (Y), ковалентно связанный с $P1$ или $P-1$ пептидного Расщепляемого Компонента (W), включает или состоит из саморасщепляющегося фрагмента, как определено в настоящей заявке, таким образом, ферментативный процессинг W активирует саморасщепляющийся фрагмент Y для его саморазрушения, таким образом иницируя высвобождение Лекарственного Компонента в виде свободного лекарственного средства. В этих аспектах, в которых нижний индекс y равен 1, саморасщепляющийся фрагмент Y непосредственно присоединен к необязательно

замещенному гетероатому Лекарственного Компонента. Как ранее обсуждалось, когда нижний индекс у равен 2, тогда Y_y представляет собой $-Y-Y'$ -, где Y представляет собой первый саморасщепляющийся спейсер, ковалентно связанный с Пептидным Расщепляемым Компонентом (W), а Y' представляет собой второй саморасщепляющийся Спейсерный Компонент, который в некоторых аспектах представляет собой карбаматную функциональную группу, являющуюся общей для Y и D. В других аспектах Y' представляет собой метиленкарбаматную группу. В любом аспекте Y_y связан с Лекарственным Компонентом (D), таким образом, спонтанное саморазрушение первого саморасщепляющегося Спейсерного Компонента Y , инициируемое эндопептидазным действием на амидную связь, ковалентно связывающую W с Y , или экзопептидазным действием на амидную связь $[P-1]-D$, высвобождает $Y'-D$, который затем спонтанно расщепляется с полным высвобождением D в виде свободного лекарственного средства.

[0433] В некоторых вариантах осуществления Y содержит PAB или PAB-родственный саморасщепляющийся фрагмент, связанный с -D или $-Y'-D$, где нижний индекс у равен 1 или 2, соответственно, которые содержат центральный арилен или гетероарилен, замещенный замаскированной электронодонорной группой (EDG) и бензильным углеродом, связанным с D через общий гетероатом или функциональную группу или связанным с D опосредованно через промежуточный второй Спейсерный Компонент (Y'), где заместители замаскированная EDG и бензильный углерод находятся в положении орто или пара относительно друг друга (т.е. паттерн 1,2 или 1,4 замещения). В этих вариантах осуществления второй Спейсерный Компонент (Y') способен к саморасщеплению или спонтанному разложению или отсутствует.

[0434] Иллюстративные структуры саморасщепляющихся Спейсерных Компонентов, имеющих PAB или PAB-родственный саморасщепляющийся фрагмент, в котором центральный (гетеро)арилен имеет требуемый паттерн 1,2 или 1,4 замещения, что обеспечивает возможность 1,4- или 1,6-фрагментации для высвобождения D или $[P-1]-D$, когда нижний индекс у равен 1, или $-Y'-D$, или $-[P-1]-Y'-D$, где нижний индекс у равен 2, где Y' способен к саморасщеплению или спонтанному разложению, представлены ниже:



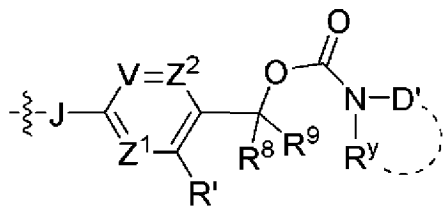
[0435] где волнистая линия смежная с J указывает место ковалентного присоединения к P1, если придающий селективность трипептид непосредственно связан с $-Y'-D$, или к P-1, если придающий селективность трипептид опосредованно связан с $-Y'-D$ через этот аминокислотный остаток, а другая волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к $-Y'-D$, где J представляет собой гетероатом, необязательно замещенный, где это приемлемо (т.е. необязательно замещенный $-NH-$), Y' представляет

собой необязательный второй Спейсерный Компонент, D представляет собой Лекарственный Компонент, при этом, когда Y' отсутствует, Y' заменен гетероатомом из D, таким образом D становится D', который представляет собой остальную часть Лекарственного Компонента; и

[0431] где V, Z¹, Z², Z³ независимо представляют собой =N или =C(R²⁴)-, где каждый R²⁴ независимо выбран из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного C₁-C₁₂ алкила, необязательно замещенного C₂-C₁₂ алкенила, необязательно замещенного C₂-C₁₂ алкинила, необязательно замещенного C₆-C₂₀ арила, необязательно замещенного (C₆-C₂₀ арил)-C₁-C₆ алкил-, необязательно замещенного C₅-C₂₀ гетероарила и необязательно замещенного (C₅-C₂₀ гетероарил)-C₁-C₆ алкил-, и галогена и электроноакцепторной группы; R' представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₁₂ алкил, необязательно замещенный C₂-C₁₂ алкенил, необязательно замещенный C₂-C₁₂ алкинил, необязательно замещенный C₆-C₂₀ арил, необязательно замещенный (C₆-C₂₀ арил)-C₁-C₆ алкил-, необязательно замещенный C₅-C₂₀ гетероарил или необязательно замещенный C₅-C₂₀ гетероарил)-C₁-C₆ алкил- или электронодонорную группу; и R⁸ и R⁹ независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C₁-C₁₂ алкила, необязательно замещенного C₂-C₁₂ алкенила, необязательно замещенного C₂-C₁₂ алкинила, необязательно замещенного C₆-C₂₀ арила и необязательно замещенного C₅-C₂₀ гетероарила, или оба R⁸ и R⁹ вместе с атомом углерода, с которым они связаны, определяют C₃-C₈ карбоцикло. В предпочтительных вариантах осуществления один или более из V, Z¹, Z² или один или более из V, Z², Z³ представляет собой =CH-. В других предпочтительных вариантах осуществления R' представляет собой водород или электронодонорную группу, включая C₁-C₆ эфиры, такие как -OCH₃ и -OCH₂CH₃, или один из R⁸, R⁹ представляет собой водород, а другой представляет собой водород или C₁-C₄ алкил. В более предпочтительных вариантах осуществления два или более из V, Z¹ и Z² представляют собой =CH-, или два или более из V, Z² и Z³ представляют собой =CH-. В других более предпочтительных вариантах осуществления R⁸, R⁹ и R' каждый представляет собой водород.

[0437] Внутриклеточное расщепление связи с J или амидной связи между P1 и P-1 приводит к высвобождению Y'-D или -[P-1]-Y'-D, соответственно, где -[P-1]-Y'-D поддается превращению в -Y'-D в результате экзопептидазной активности внутриклеточной протеазы клетки-мишени.

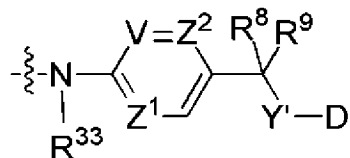
[0438] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления -Y_y-D, где нижний индекс y равен 2, имеет структуру -Y-Y'-D, показанную ниже:



[0439] где $-N(R^y)D'$ представляет собой D, где D' представляет собой остальную часть D, и где пунктирная линия указывает необязательную циклизацию R^y с D, где R^y представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил в отсутствие циклизации с D' или необязательно замещенный C_1-C_6 алкилен при циклизации с D' ; -J- представляет собой необязательно замещенный гетероатом, где это приемлемо, включая O, S и необязательно замещенный -NH-, где J, функциональная группа, состоящая из J, или P-1 связана с P1, как указано смежной волнистой линией, трипептида, который придает селективность к внутриклеточному протеолизу по сравнению с протеолизом свободно циркулирующими протеазами и селективность к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани и/или селективную биодистрибуцию в опухолевой ткани по сравнению с биодистрибуцией в нормальной ткани, где расщепление этой связи инициирует высвобождение D в виде вторичный амин-содержащего биологически активного соединения из соединения композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, и где остальные переменные группы имеют значение, определенное выше. Эти переменные выбраны таким образом, что реактивность J при высвобождении в результате процессинга Пептидного Расщепляемого Компонента W в клетках-мишенях сбалансирована значением pK_a $Y'-D$ или D, элиминированного из саморасщепляющегося фрагмента PAB или PAB-типа, и стабильностью промежуточного соединения хинон-метидного типа, являющегося результатом этого элиминирования.

[0440] В этих вариантах осуществления промежуточный фрагмент между D и бензильным углеродом PAB или PAB-родственного саморасщепляющегося фрагмента Спейсерного Компонента Y представляет собой Y' в $-C(R^8)(R^9)-Y'-D$, таким образом, карбаматная функциональная группа является общей между Y и D. В таких вариантах осуществления после фрагментации Спейсерного Компонента Y с удалением $Y'-D$ следует потеря CO_2 для высвобождения D как биологически активного соединения, имеющего первичный или вторичный амин, атом азота которого был связан с вторичным линкером, включающим PAB или PAB-родственный саморасщепляющийся фрагмент.

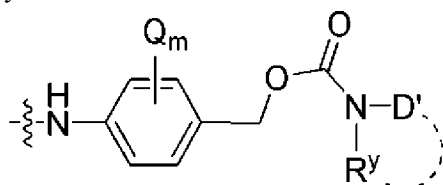
[0441] В других предпочтительных вариантах осуществления $-Y_y-D$, имеющий фрагмент PAB или PAB-типа, связанный с $-Y'-D$ или -D, имеет структуру:



[0442] где волнистая линия смежная с атомом азота указывает точку ковалентного присоединения к P-1 или трипептиду W, который придает селективность к внутриклеточному протеолизу по сравнению с протеолизом свободно циркулирующими протеазами и к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани, где эта связь подвергается внутриклеточному протеолизу, Y' представляет собой необязательный Спейсерный Компонент, который, когда отсутствует, заменен фенольным атомом кислорода или атомом серы из D, а когда

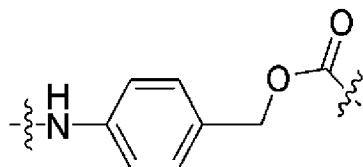
присутствует представляет собой карбаматную функциональную группу, атом азота которой происходит из D; R^{33} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, в частности водород или C_1-C_4 алкил, предпочтительно водород, $-CH_3$ или $-CH_2CH_3$, более предпочтительно водород. В более предпочтительных вариантах осуществления V, Z^1 и Z^2 каждый представляет собой $=CH-$, и R^{33} представляет собой водород.

[0443] В особенно предпочтительных вариантах осуществления $-Y_y-D$ имеет структуру:



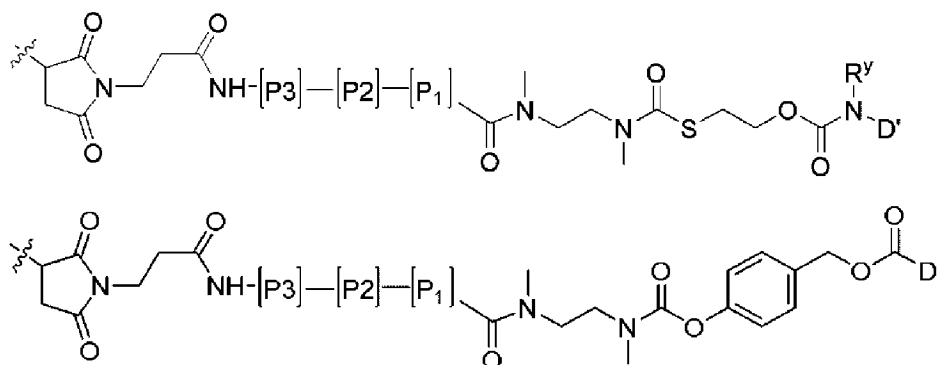
[0444] где $-N(R^y)D'$ имеет его указанное выше значение, и волнистая линия указывает ковалентное присоединение к P1; Q представляет собой $-C_1-C_8$ алкил, $-O-(C_1-C_8)$ алкил) или другую электронодонорную группу, -галоген, -нитро или -циано или другую электроноакцепторную группу (предпочтительно, Q представляет собой $-C_1-C_8$ алкил, $-O-(C_1-C_8)$ алкил), галоген, нитро или циано); и нижний индекс m представляет собой целое число в пределах 0-4 (т.е. центральный арилен не имеет никаких других заместителей или 1-4 других заместителя). В предпочтительных вариантах осуществления нижний индекс m равен 0, 1 или 2, и каждый Q представляет собой независимо выбранную электронодонорную группу.

[0445] В особенно предпочтительных вариантах осуществления $-Y_y-$ имеет структуру:

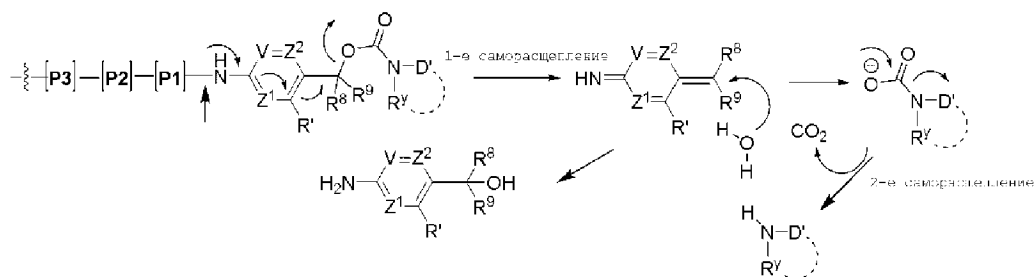


[0446] соответственно, где волнистая линия смежная с карбонильным атомом углерода указывает место ковалентного присоединения к атому кислорода или серы D с образованием карбонатной или тиокарбаматной функциональной группы, которая является общей между D и Y, где эта общая функциональная группа представляет собой Y', или к вторичному атому азота с образованием карбамата, который является общим между D и Y, где эта общая функциональная группа представляет собой Y', и волнистая линия смежная с атомом азота указывает место ковалентного присоединения в виде амидной связи с карбоновокислотным остатком P1.

[0447] Другие структуры общей формулы $-Y-Y'-$, в которой Y представляет собой саморасщепляющийся Спейсерный Компонент, отличный от саморасщепляющегося Спейсерного Компонента PAB или PAB-типа, и проиллюстрированы в следующих фрагментах Лекарственное средство-Линкер.

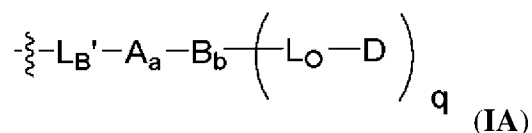


[0448] Не желая ограничиваться теорией, последовательное саморасщепление Y, где Y представляет собой саморасщепляющийся Спейсерный Компонент PAB, и Y' представляет собой карбаматную функциональную группу, проиллюстрировано для вторичного линкера Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство и соединений Лекарственное средство-Линкер, имеющих трипептидный Пептидный Расщепляемый Компонент, следующим образом:



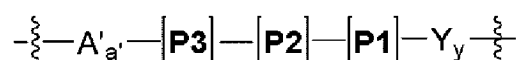
[0449] 2.2.5 Фрагменты лекарственное средство-линкеры

[0450] Как правило, фрагмент лекарственное средство-линкер формулы 1А имеет структуру:



[0451] где волнистая линия указывает ковалентное присоединение L_B к Лигандному Компоненту, А представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент; нижний индекс а равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие А, В представляет собой необязательный Разветвляющийся Компонент; нижний индекс b равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие В соответственно, при условии, что нижний индекс b равен 1, когда нижний индекс q находится в пределах от 2 до 4, и

[0452] L_O представляет собой вторичный линкер, имеющий формулу:



[0453] или его соль, в частности фармацевтически приемлемую соль, где А' представляет собой второй необязательный Удлиняющий Компонент, нижний индекс а' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие А' соответственно, Y представляет

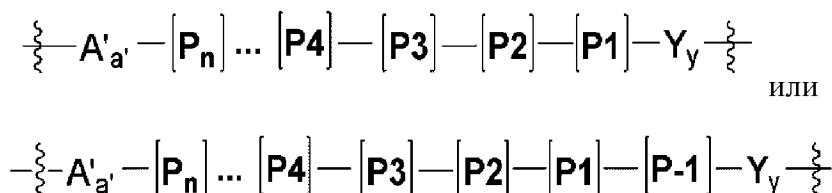
собой необязательный Спейсерный Компонент, нижний индекс у равен 0, 1 или 2, указывая на отсутствие или присутствие 1 или 2 Спейсерных Компонентов соответственно, и P1, P2 и P3 представляют собой аминокислотные остатки, которые вместе обеспечивают селективность к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани, и/или вместе обеспечивают предпочтительную биодистрибуцию Конъюгата формулы в опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью, где цитотоксичность свободного лекарственного средства, высвобождаемого из Конъюгата, в отношении нормальной ткани ответственна, по меньшей мере частью, за нежелательное явление, типично связанное с введением терапевтически эффективного количества сравнительного Конъюгата на основе дипептида, где протеолитическое расщепление происходит по ковалентной связи между P1 и Y, если нижний индекс у равен 1 или 2, или по ковалентной связи между P1 и D, если нижний индекс у равен 0, или

[0454] L₀ представляет собой вторичный линкер, имеющий формулу:



[0455] или его соль, в частности фармацевтически приемлемую соль, где A', a', Y и у сохраняют их прежнее значение, а P1, P2 и P3 представляют собой аминокислотные остатки, необязательно с P-1 аминокислотой, которые вместе обеспечивают селективность к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани, и/или вместе обеспечивают предпочтительную биодистрибуцию Конъюгата формулы 1 в опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью, где цитотоксичность свободного лекарственного средства, высвобождаемого из Конъюгата, в отношении нормальной ткани ответственна, по меньшей мере частью, за нежелательное явление, типично связанное с введением терапевтически эффективного количества сравнительного Конъюгата на основе дипептида, где протеолитическое расщепление происходит по ковалентной связи между P1 и P-1 для высвобождения линкерного фрагмента, имеющего структуру [P-1]-Y_y-D, или

[0456] L₀ представляет собой вторичный линкер, имеющий формулу:



[0457] или его соль, в частности фармацевтически приемлемую соль, где A', a', Y и у сохраняют их прежнее значение, а P-1 и P1, P2, P3...P_n представляют собой аминокислотные остатки, где нижний индекс n находится в пределах от 0 до 12 (например, 0-10, 3-12 или 3-10) и P1, P2 и P3, необязательно с P-1, вместе обеспечивают селективность к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани, и/или вместе обеспечивают предпочтительную

биодистрибуцию Конъюгата формулы 1, полученного из соединения Лекарственное средство-Линкер, в опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью, где цитотоксичность свободного лекарственного средства, высвобождаемого из Конъюгата, в отношении нормальной ткани ответственна, по меньшей мере частью, за нежелательное явление, типично связанное с введением терапевтически эффективного количества сравнительного Конъюгата на основе дипептида, где протеолитическое расщепление происходит по ковалентной связи между P1 и Y_y-D или между P1 и P-1 с высвобождением линкерного фрагмента, имеющего структуру Y_y-D или $[P-1]-Y_y-D$ соответственно, где последний затем подвергается экзопептидазному расщеплению с высвобождением линкерного фрагмента, имеющего структуру Y_y-D . В обоих случаях Y_y-D линкерный фрагмент претерпевает спонтанное разложение с полным высвобождением D в виде свободного лекарственного средства.

[0458] Дополнительные P4, P5...P_n аминокислотные остатки выбраны таким образом, чтобы не изменять сайт расщепления, который обеспечивает $-Y_y-D$ или $-[P-1]-Y_y-D$ фрагмент, но напротив выбраны для сохранения желаемого физико-химического и/или фармакокинетического свойства Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, обеспечиваемого преимущественно P1, P2 и P3 аминокислотными остатками, такого как повышенная биодистрибуция конъюгата в опухолевой ткани, которая происходит в ущерб дистрибуции в нормальной ткани, или для усиления этого физико-химического и/или фармакокинетического свойства по сравнению с сравнительным Конъюгатом на основе дипептида.

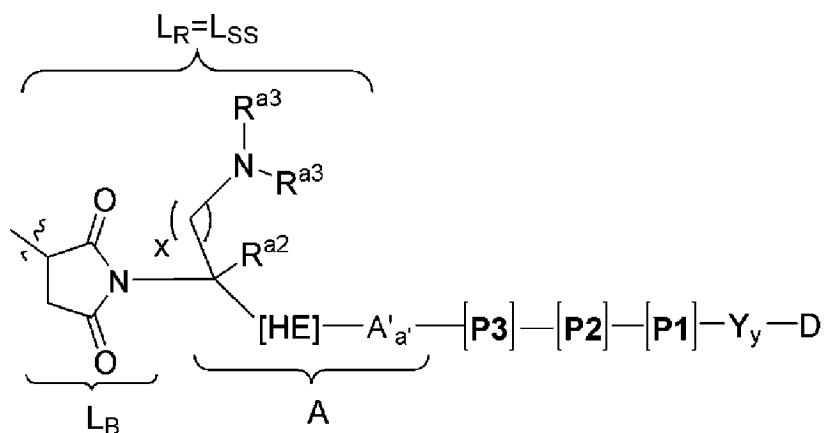
[0459] В любом из этих вариантов осуществления L_O, если нижний индекс q равен 1, то нижний индекс b равен 0, таким образом B отсутствует и A' становится необязательной субъединицей A, и если нижний индекс q равен 2, 3 или 4, то нижний индекс b равен 1, таким образом B присутствует, A' остается компонентом L_O, как показано, и необязательная субъединица A указана как A_O.

[0460] В некоторых вариантах осуществления, в дополнение к улучшению общей селективности и/или улучшению биодистрибуции с предпочтением опухоль-ассоциированных протеаз по сравнению с присутствующими в нормальной ткани, P1, P2 и P3 аминокислотные остатки также уменьшают агрегацию Конъюгата, который включает аминокислотную последовательность, включающую эти аминокислоты, по сравнению с сравнительным Конъюгатом на основе дипептида. В некоторых из этих вариантов осуществления, в которых Лекарственный Компонент представляет собой MMAE, фрагменты лекарственное средство-линкер сравнительного Конъюгата имеют формулу mc-vc-PAVC-MMAE.

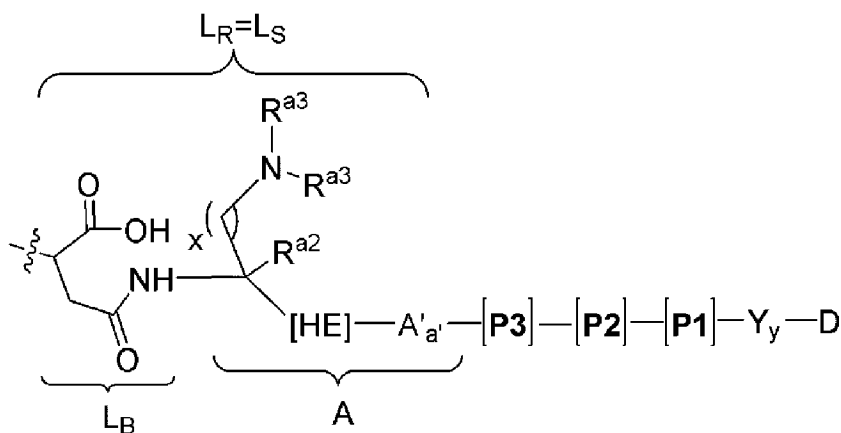
[0461] в предпочтительных вариантах осуществления -L_{SS} и -L_S-содержащих фрагментов лекарственное средство-линкер соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство формулы 1A L_{SS} и L_S фрагменты содержат циклический Основной Компонент, представляющий собой гетероцикло. Иллюстративные фрагменты лекарственное средство-линкер, где нижний индекс q равен 1, и имеющие эти первичные линкеры, в

замещенный $-C_1-C_4$ алкилен- $(C_6-C_{10}$ арил) или $-R^{PEG1}-O-(CH_2CH_2O)_{1-36}-R^{PEG2}$, где R^{PEG1} представляет собой C_1-C_4 алкилен, R^{PEG2} представляет собой $-H$ или C_1-C_4 алкилен, где основной азот, связанный с R^{a3} , является необязательно протонированным в форме соли, предпочтительно в форме фармацевтически приемлемой соли, или R^{a3} представляет собой азот-защитную группу, такую как подходящая кислотолabile защитная группа; волнистая линия указывает ковалентное связывание с атомом серы Лигандного Компонента; P1, P2 и P3 имеют значение, определенное выше для любого из вариантов осуществления Пептидного Расщепляемого Компонента; и остальные переменные группы такие, как описано для любого из вариантов осуществления фрагмента лекарственное средство-линкер формулы 1A.

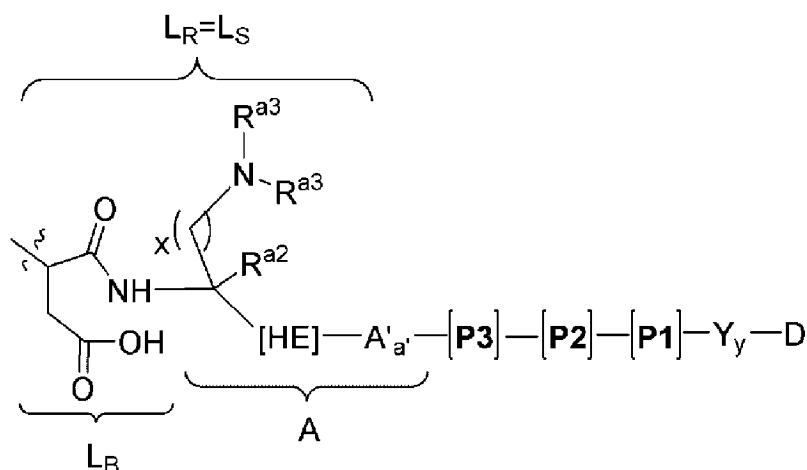
[0463] В других предпочтительных вариантах осуществления $-L_{SS}$ и $-L_S$ -содержащих фрагментов лекарственное средство-линкер формулы 1A соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство L_{SS} и L_S фрагменты содержат ациклический циклический Основной Компонент. Иллюстративные фрагменты лекарственное средство-линкер, имеющие эти первичные линкеры, в которых Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой дипептид, представлены структурами формулы 1E, формулы 1F и формулы 1G:



(Формула 1E)



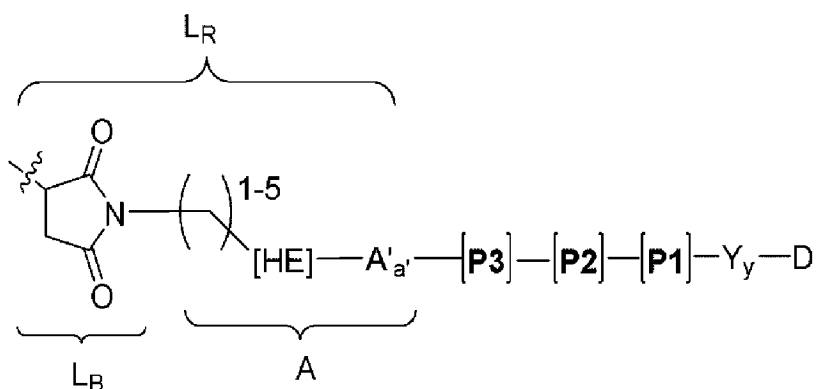
(Формула 1F)



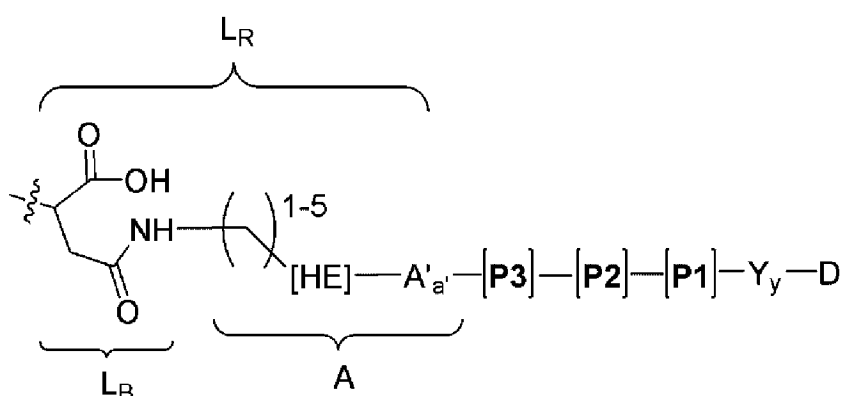
(Формула 1G)

[0464] или соль вышеуказанного соединения, в частности фармацевтически приемлемая соль, где HE представляет собой необязательный Усиливающий Гидролиз Компонент; A' представляет собой субъединицу, если присутствует, первого Удлиняющего Компонента (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A' соответственно; нижний индекс x равен 1 или 2; R^{a2} представляет собой -H, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, -CH₃ или -CH₂CH₃; R^{a3} в каждом случае независимо представляет собой азот-защитную группу, -H или необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, предпочтительно -H, кислотолабильную защитную группу, -CH₃ или -CH₂CH₃, или оба R^{a3} вместе с азотом, с которым они связаны, определяют азот-защитную группу или гетероцикл азетидинил, пирролидинил или пиперидинил, в котором основной первичный, вторичный или третичный амин, определенный таким образом, является необязательно протонированным в форме соли, предпочтительно в форме фармацевтически приемлемой соли; волнистая линия указывает ковалентное связывание с атомом серы Лигандного Компонента; P1, P2 и P3 имеют значение, определенное выше для любого из вариантов осуществления Пептидного Расщепляемого Компонента, и остальные переменные группы являются такими, как описано для любого из вариантов осуществления фрагмента лекарственного средство-линкер формулы 1A.

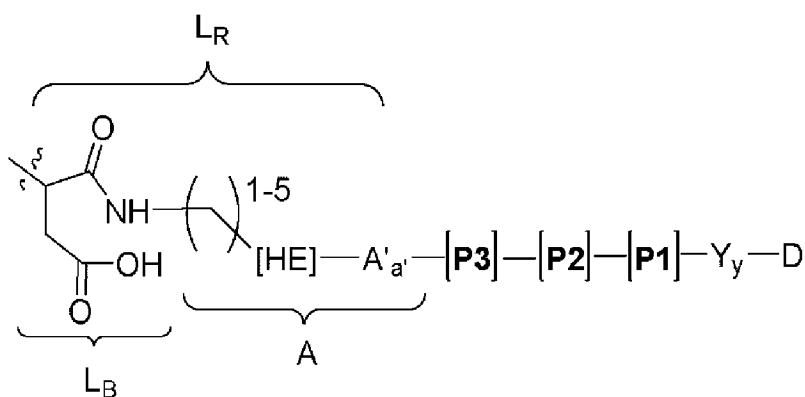
[0465] В других предпочтительных вариантах осуществления первичный линкер не содержит Основной Компонент. Иллюстративные фрагменты лекарственного средство-линкер, имеющие этот первичный линкер, в котором Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой трипептид, представлены структурами формулы 1H, формулы 1J и формулы 1K:



(Формула 1H)



(Формула 1J)

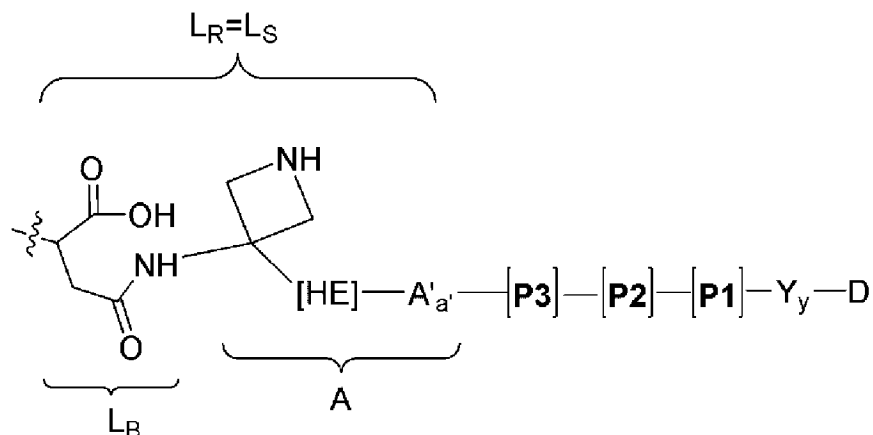


(Формула 1K)

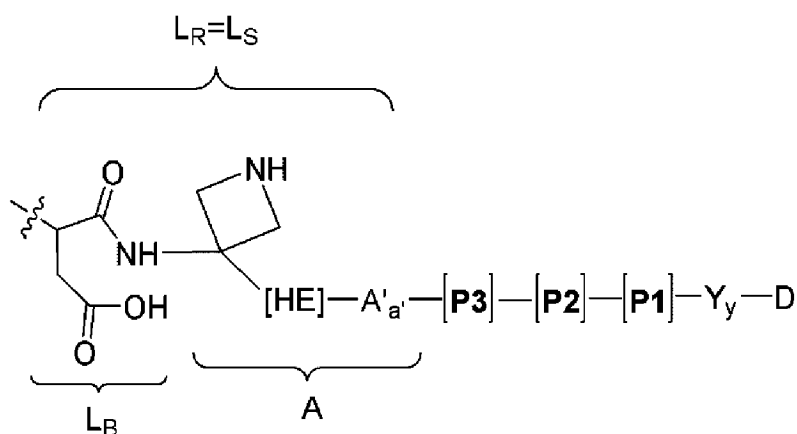
[0466] или соль вышеуказанного соединения, в частности фармацевтически приемлемая соль, где HE представляет собой необязательный Усиливающий Гидролиз Компонент; A' представляет собой субъединицу (A₂), если присутствует, первого Удлиняющего Компонента (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A'; волнистая линия указывает ковалентное связывание с атомом серы Лигандного Компонента; P1, P2 и P3 имеют значение, определенное выше для любого из вариантов осуществления Пептидного Расщепляемого Компонента, и остальные переменные группы являются такими, как описано для любого из вариантов осуществления фрагмента лекарственного средство-линкер формулы 1A.

[0467] В более предпочтительных вариантах осуществления, в которых присутствует гетероцикло в качестве циклического Основного Компонента в Линкерном

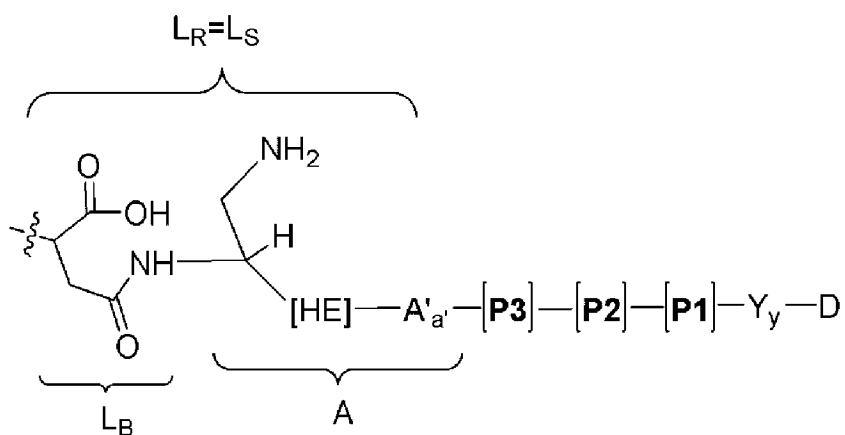
Компоненте, большая часть соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство содержат фрагменты лекарственное средство-линкер, представленные следующими структурами:



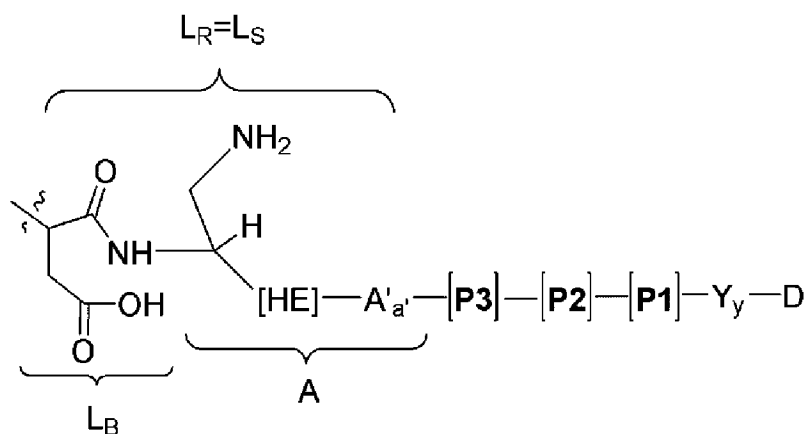
и



[0468] необязательно в форме соли, в частности в форме фармацевтически приемлемой соли, и в более предпочтительных вариантах осуществления, в которых присутствует ациклический Основной Компонент в Линкерном Компоненте, большая часть соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство содержат фрагменты лекарственное средство-линкер, представленные следующими структурами:



и



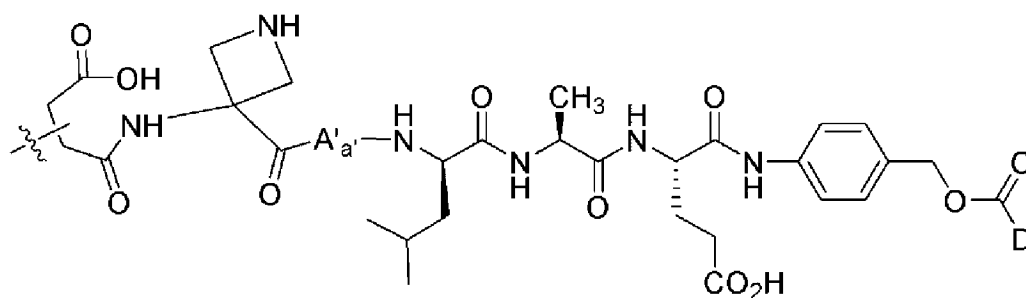
[0469] необязательно в форме соли, в частности в форме фармацевтически приемлемой соли, где переменные группы L_{SS} и L_S -содержащих фрагментов лекарственное средство-линкер являются такими, как описано выше для фрагментов лекарственное средство-линкер, имеющих ациклический или гетероцикло циклический Основной Компонент,

[0470] и в других более предпочтительных вариантах осуществления, в которых не содержится Основной Компонент в Линкерном Компоненте, преобладающее соединение-конъюгат Лиганд-Лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство содержит фрагменты лекарственное средство-линкер, представленные структурой формулы **1H**, где переменные группы имеют значение, указанное выше для фрагментов лекарственное средство-линкер этой формулы.

[0471] В любом из представленных выше фрагментов лекарственное средство-линкер HE предпочтительно присутствует как $-C(=O)$, и/или нижний индекс у равен 1 или 2, указывая на присутствие одного или двух саморасщепляющихся Спейсерных Компонентов, соответственно.

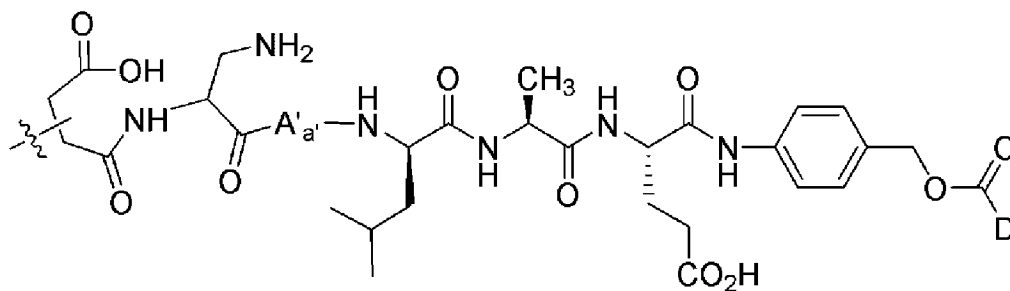
[0472] В особенно предпочтительных вариантах осуществления $-[P3]-[P2]-[P1]$ трипептид в любом из указанных выше фрагментов лекарственное средство-линкер представляет собой D-Leu-Leu-Met(O) или D-Leu-Ala-Glu, где Met(O) представляет собой метионин, в котором атом серы окислен до сульфоксида.

[0473] В особенно предпочтительных вариантах осуществления, в которых присутствует гетероцикло в качестве циклического Основного Компонента в Линкерном Компоненте, большая часть соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство содержат фрагменты лекарственное средство-линкер, представленные следующей структурой:



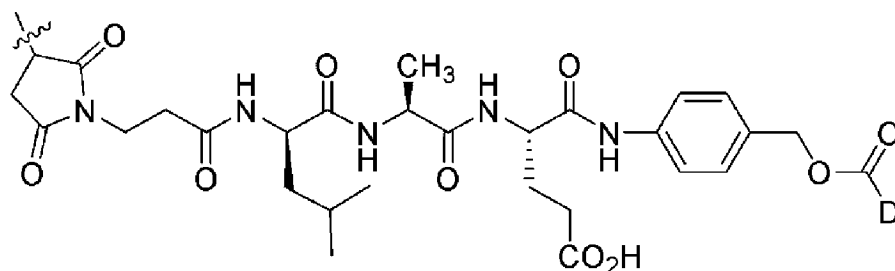
[0474] и их соли, в частности фармацевтически приемлемые соли, где волнистая линия указывает ковалентное присоединение к атому серы из Лигандного Компонента; нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие А, соответственно, где А' представляет собой амин-содержащий кислотный остаток формулы **3a**, **4a** или **5a**, как описано в настоящей заявке для второго необязательного Удлиняющего Компонента или субъединицы первого необязательного Удлиняющего Компонента, или А' представляет собой α -аминокислоту или β -аминокислотный остаток; и D представляет собой цитотоксическое лекарственное средство, имеющее вторичную амино группу в качестве сайта присоединения к Линкерному Компоненту фрагмента лекарственное средство-линкер.

[0475] В других особенно предпочтительных вариантах осуществления, в которых присутствует ациклический Основной Компонент в Линкерном Компоненте, большая часть соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство содержат фрагменты лекарственное средство-линкер, представленные следующей структурой:

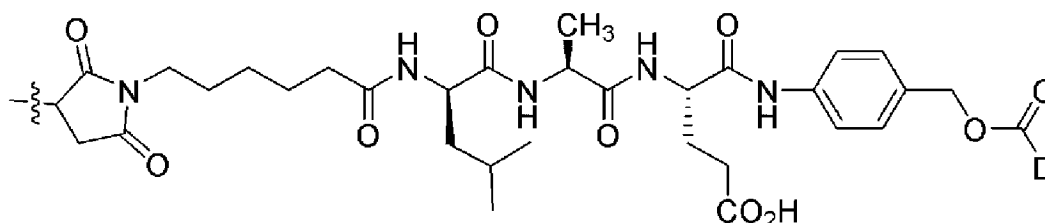


[0475] и их соли, в частности фармацевтически приемлемые соли, где переменные группы имеют значение, указанное выше для фрагментов лекарственное средство-линкер, имеющих циклический Основной Компонент.

[0476] В других особенно предпочтительных вариантах осуществления, в которых не содержится Основной Компонент, преобладающее соединение-конъюгат Лиганд-Лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство содержит фрагменты лекарственное средство-линкер, представленные структурой:



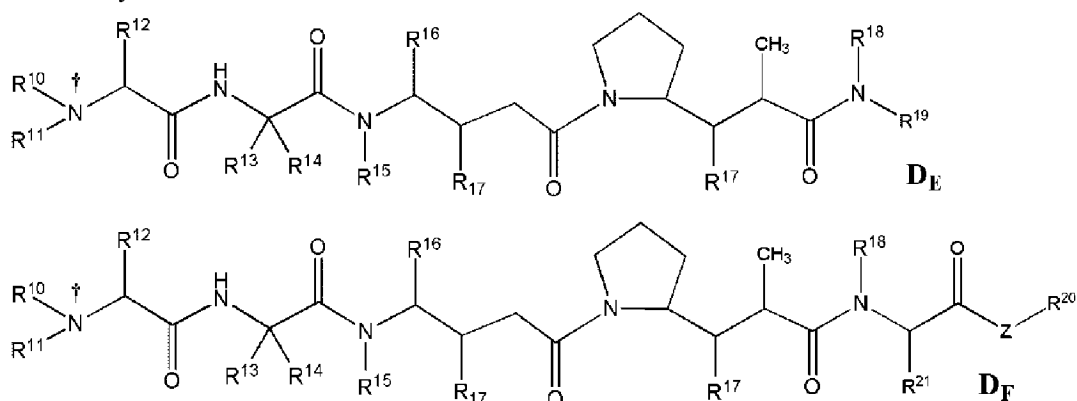
или



[0477] или соль вышеуказанного соединения, в частности фармацевтически приемлемая соль, где переменные группы имеют значение, указанное выше для фрагментов лекарственное средство-линкер, имеющих циклический Основной Компонент. В этих вариантах осуществления, в которых ВU отсутствует, композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, включающая любое преобладающее соединение-конъюгат Лиганд-Лекарственное средство, необязательно дополнительно включает соединения-конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство, в которых сукцинимидное кольцо находится в гидролизованной форме.

[0479] 2.2.6 Ауристатиновые Лекарственные Компоненты

[0480] Ауристатиновый Лекарственный Компонент соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство или соединения Лекарственное средство-Линкер включает ауристатиновое лекарственное средство через ковалентное присоединение Линкерного Компонента Конъюгата или соединения Лекарственное средство-Линкер к вторичному амину ауристатинового свободного лекарственного средства, имеющего структуру D_E или D_F, представленную ниже:

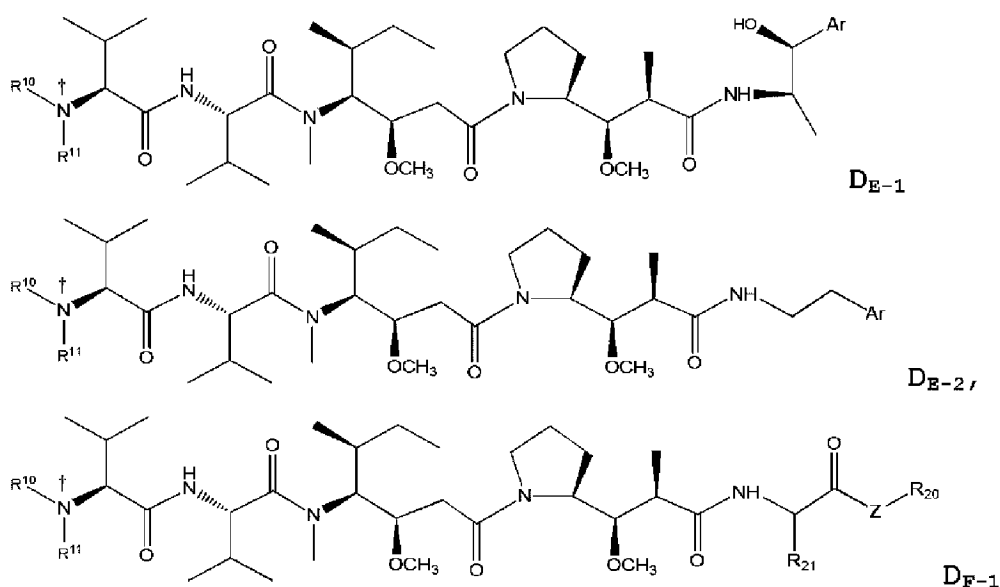


[0481] где крестик указывает место ковалентного присоединения атома азота, который образует карбаматную функциональную группу, где -OC(=O)- этой

функциональной группы представляет собой Y' при включении ауристатинового лекарственного соединения -D в любой из фрагментов лекарственное средство-линкер соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство или в любое из соединений Лекарственное средство-Линкер, как описано в настоящей заявке, таким образом, для любого типа соединения нижний индекс у равен 2; и

[0482] один R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой C_1 - C_8 алкил; R^{12} представляет собой водород, C_1 - C_8 алкил, C_3 - C_8 карбоцикл, C_6 - C_{24} арил, - X^1 - C_6 - C_{24} арил, - X^1 -(C_3 - C_8 карбоцикл), C_3 - C_8 гетероцикл или - X^1 -(C_3 - C_8 гетероцикл); R^{13} представляет собой водород, C_1 - C_8 алкил, C_3 - C_8 карбоцикл, C_6 - C_{24} арил, - X^1 - C_6 - C_{24} арил, - X^1 -(C_3 - C_8 карбоцикл), C_3 - C_8 гетероцикл и - X^1 -(C_3 - C_8 гетероцикл); R^{14} представляет собой водород или метил, или R^{13} и R^{14} взятые вместе с углеродом, с которым они связаны, включают спиро C_3 - C_8 карбоцикло; R^{15} представляет собой водород или C_1 - C_8 алкил; R^{16} представляет собой водород, C_1 - C_8 алкил, C_3 - C_8 карбоцикл, C_6 - C_{24} арил, - C_6 - C_{24} - X^1 -арил, - X^1 -(C_3 - C_8 карбоцикл), C_3 - C_8 гетероцикл и - X^1 -(C_3 - C_8 гетероцикл); R^{17} независимо представляют собой водород, -ОН, C_1 - C_8 алкил, C_3 - C_8 карбоцикл и О-(C_1 - C_8 алкил); R^{18} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_8 алкил; R^{19} представляет собой $-C(R^{19A})_2-C(R^{19A})_2-C_6$ - C_{24} арил, $-C(R^{19A})_2-C(R^{19A})_2-(C_3$ - C_8 гетероцикл) или $-C(R^{19A})_2-C(R^{19A})_2-(C_3$ - C_8 карбоцикл), где C_6 - C_{24} арил и C_3 - C_8 гетероцикл необязательно замещены; R^{19A} независимо представляют собой водород, необязательно замещенный C_1 - C_8 алкил, -ОН или необязательно замещенный -О- C_1 - C_8 алкил; R^{20} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_{20} алкил, необязательно замещенный C_6 - C_{24} арил или необязательно замещенный C_3 - C_8 гетероцикл, или $-(R^{47}O)_m-R^{48}$, или $-(R^{47}O)_m-CH(R^{49})_2$; R^{21} представляет собой необязательно замещенный - C_1 - C_8 алкилен-(C_6 - C_{24} арил) или необязательно замещенный - C_1 - C_8 алкилен-(C_5 - C_{24} гетероарил), или C_1 - C_8 гидроксилалкил, или необязательно замещенный C_3 - C_8 гетероцикл; Z представляет собой О, S, NH или NR^{46} ; R^{46} представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_8 алкил; нижний индекс m представляет собой целое число в пределах 1-1000; R^{47} представляет собой C_2 - C_8 алкил; R^{48} представляет собой водород или C_1 - C_8 алкил; R^{49} независимо представляют собой -COOH, $-(CH_2)_n-N(R^{50})_2$, $-(CH_2)_n-SO_3H$ или $-(CH_2)_n-SO_3-C_1$ - C_8 алкил; R^{50} независимо представляют собой C_1 - C_8 алкил или $-(CH_2)_n-COOH$; нижний индекс n представляет собой целое число в пределах от 0 до 6; и X^1 представляет собой C_1 - C_{10} алкилен.

[0483] В некоторых вариантах осуществления ауристатиновое лекарственное соединение имеет структуру формулы D_{E-1} , формулы D_{E-2} или формулы D_{F-1} :



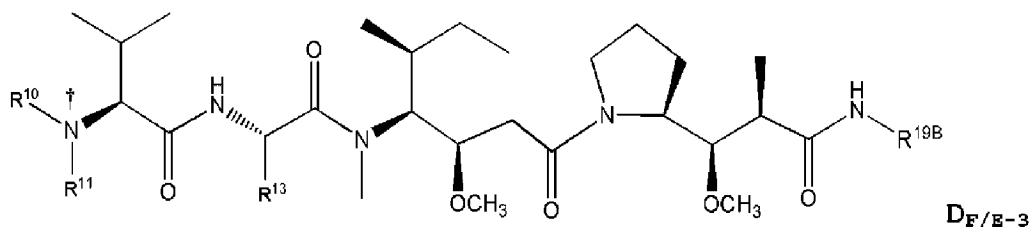
[0484] где Ar в формуле D_{E-1} или формуле D_{E-2} представляет собой C₆-C₁₀ арил или C₅-C₁₀ гетероарил, и в формуле D_{F-1} Z представляет собой -O- или -NH-; R²⁰ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, необязательно замещенный C₆-C₁₀ арил или необязательно замещенный C₅-C₁₀ гетероарил; и R²¹ представляет собой необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, необязательно замещенный -C₁-C₆ алкилен-(C₆-C₁₀ арил) или необязательно замещенный -C₁-C₆ алкилен-(C₅-C₁₀ гетероарил).

[0485] В некоторых вариантах осуществления формулы D_E, D_F, D_{E-1}, D_{E-2} или D_{F-1} один из R¹⁰ и R¹¹ представляет собой водород, а другой представляет собой метил.

[0486] В некоторых вариантах осуществления формулы D_{E-1} или D_{E-2} Ar представляет собой фенил или 2-пиридил.

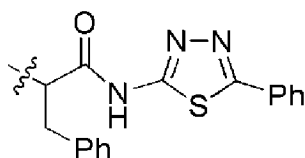
[0487] В некоторых вариантах осуществления формулы D_{F-1} R²¹ представляет собой X¹-S-R^{21a} или X¹-Ar, где X¹ представляет собой C₁-C₆ алкилен, R^{21a} представляет собой C₁-C₄ алкил и Ar представляет собой фенил или C₅-C₆ гетероарил, и/или -Z- представляет собой -O- и R²⁰ представляет собой C₁-C₄ алкил, или Z представляет собой -NH- и R²⁰ представляет собой фенил или C₅-C₆ гетероарил.

[0488] В предпочтительных вариантах осуществления ауристатиновое лекарственное соединение имеет структуру формулы D_{F/E-3}:



[0489] где один из R¹⁰ и R¹¹ представляет собой водород, а другой представляет собой метил; R¹³ представляет собой изопропил или -CH₂-CH(CH₃)₂; и R^{19B} представляет собой -CH(CH₃)-CH(OH)-Ph, -CH(CO₂H)-CH(OH)-CH₃, -CH(CO₂H)-CH₂Ph, -CH(CH₂Ph)-2-тиазолил, -CH(CH₂Ph)-2-пиридил, -CH(CH₂-p-Cl-Ph), -CH(CO₂Me)-CH₂Ph, -CH(CO₂Me)-

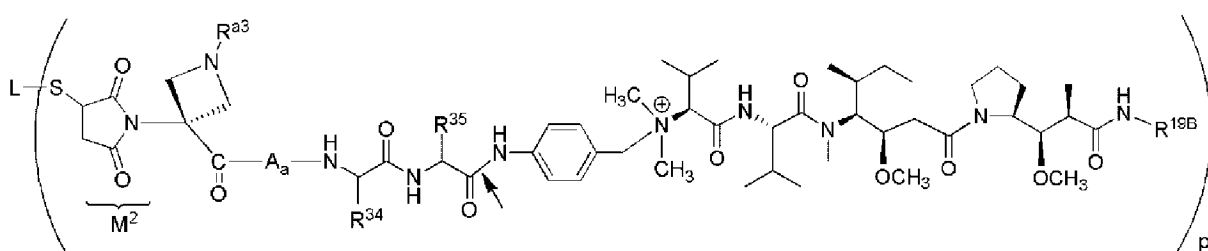
$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3)\text{C}(=\text{O})\text{NH}$ -хинол-3-ил, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})\text{C}(=\text{O})\text{NH}$ -p-Cl-Ph, или



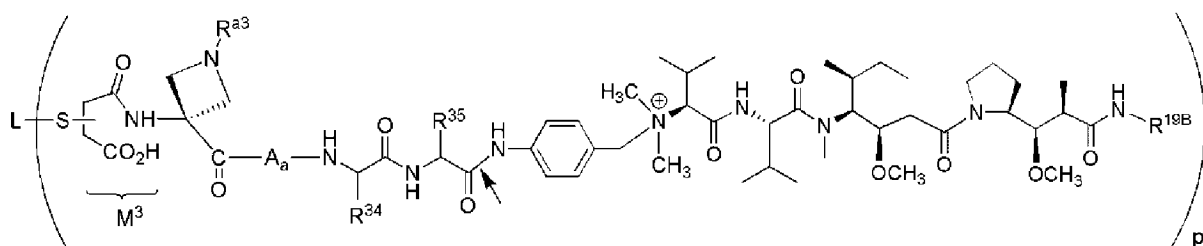
$\text{R}^{19\text{B}}$ имеет структуру , где волнистая линия указывает ковалентное присоединение к остальной части ауристатинового соединения.

[0490] В более предпочтительных вариантах осуществления ауристатиновое лекарственное соединение, включенное в -D, представляет собой монометилауристатин E (MMAE) или монометилауристатин F (MMAF).

[0491] В некоторых вариантах осуществления композиция Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство представлена следующей структурой:

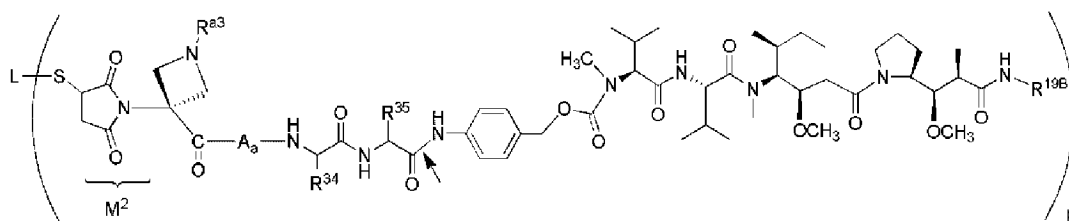


[0492] и/или

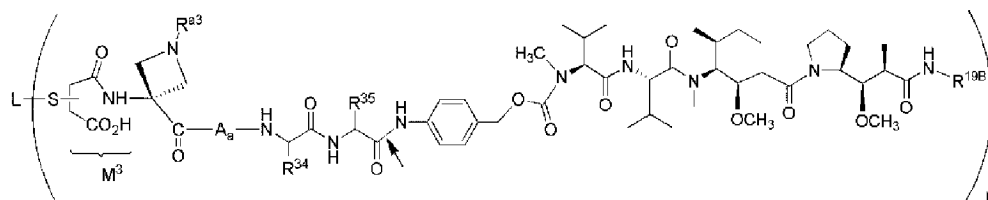


[0493] где нижний индекс а равен 1, таким образом, А присутствует, где А представляет собой α -аминокислоту или β -аминокислотный остаток; $\text{R}^{\text{a}3}$ представляет собой -H, необязательно замещенный C_1 - C_6 алкил, необязательно замещенный $-\text{C}_1$ - C_4 алкилен-(C_6 - C_{10} арил), $-\text{R}^{\text{PEG}1}-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{R}^{\text{PEG}2}$, где $\text{R}^{\text{PEG}1}$ представляет собой C_1 - C_4 алкилен, $\text{R}^{\text{PEG}2}$ представляет собой -H или C_1 - C_4 алкил, и нижний индекс n находится в пределах от 1 до 36, где основной азот, связанный с $\text{R}^{\text{a}3}$, является необязательно протонированным; $\text{R}^{19\text{B}}$ представляет собой $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{OH})-\text{Ph}$, $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_3$, или $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})-\text{CH}_2\text{Ph}$; R^{34} представляет собой изопропил и R^{35} представляет собой метил или $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{C}=\text{O})\text{NH}_2$.

[0494] В некоторых вариантах осуществления композиция Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство представлена следующей структурой:

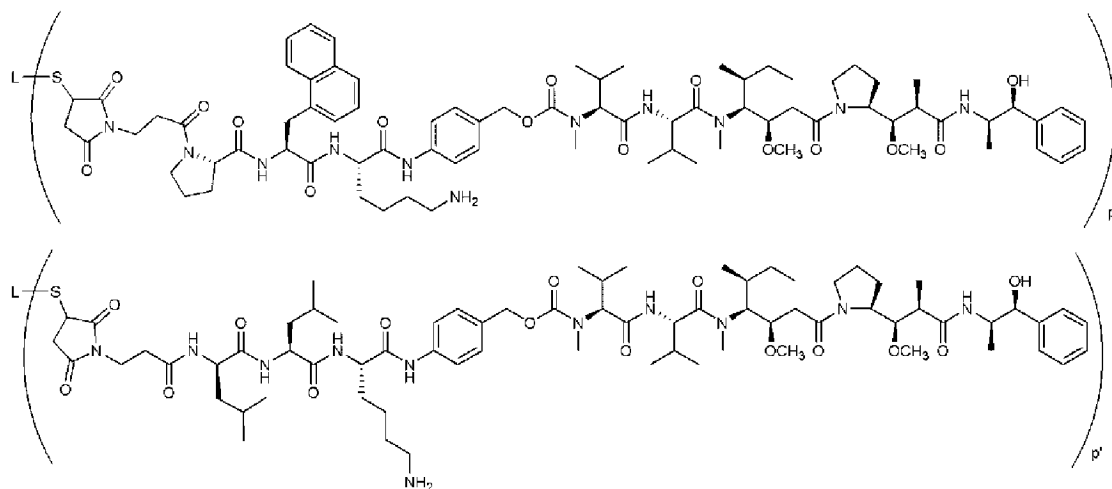


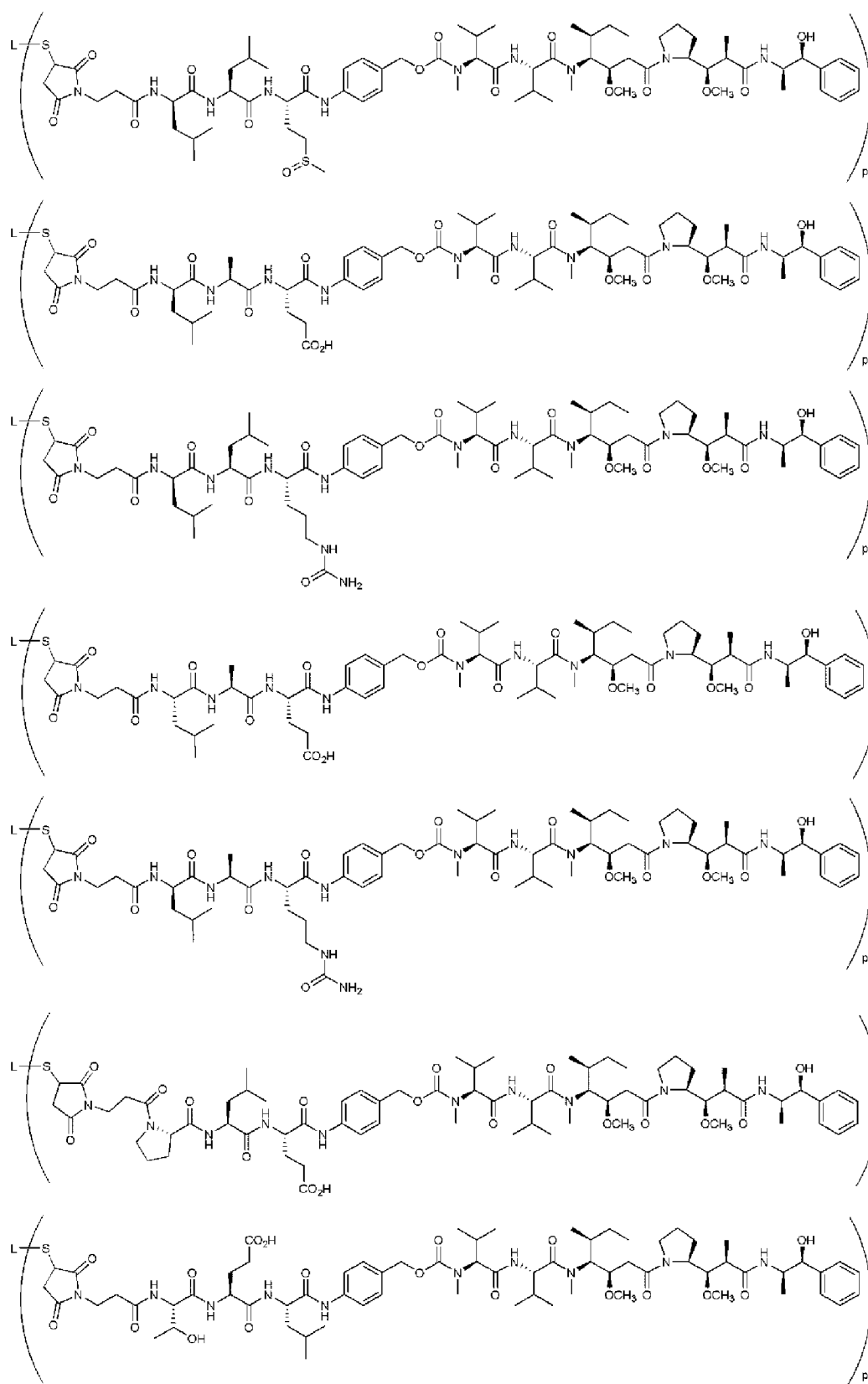
[0495] и/или

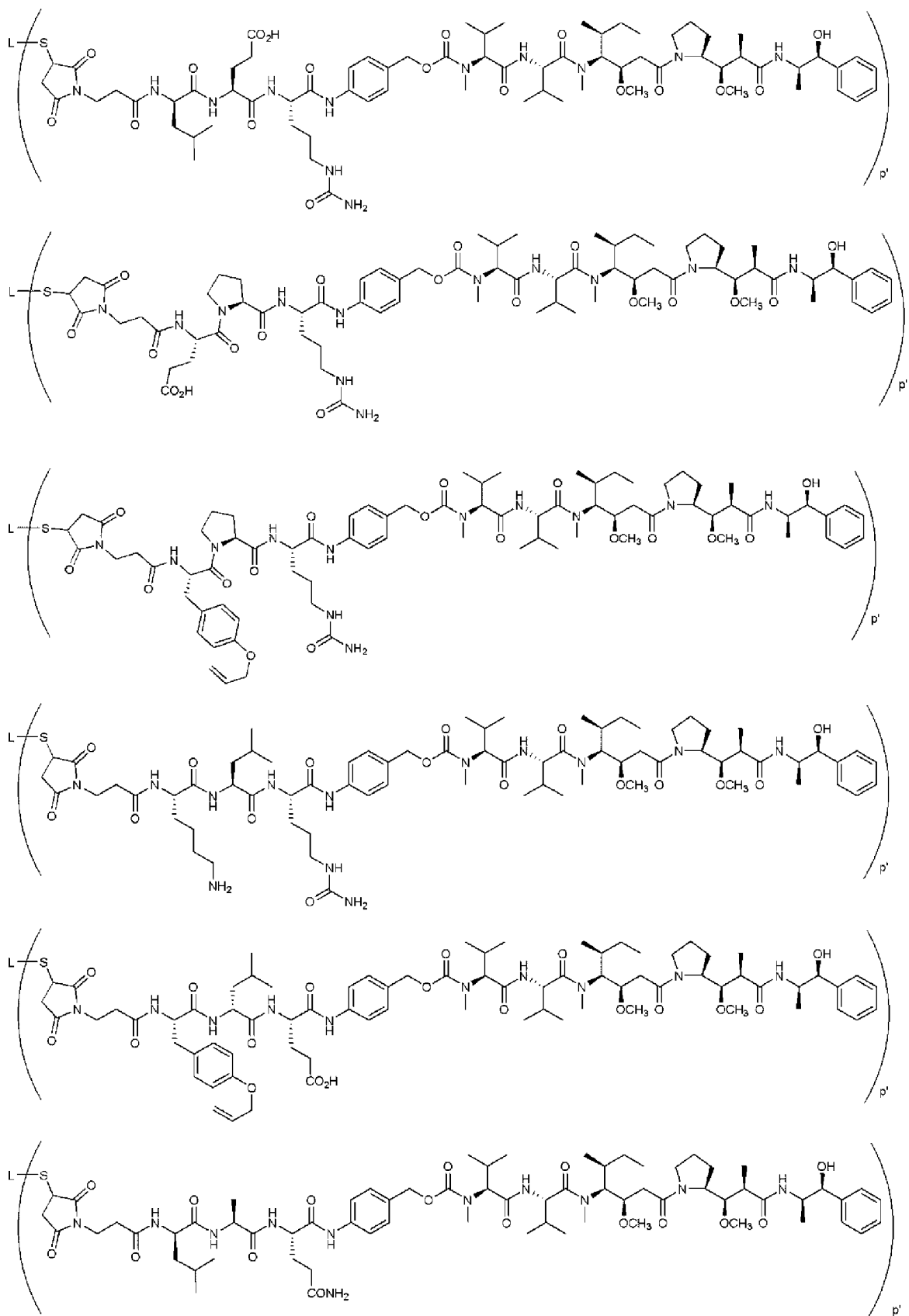


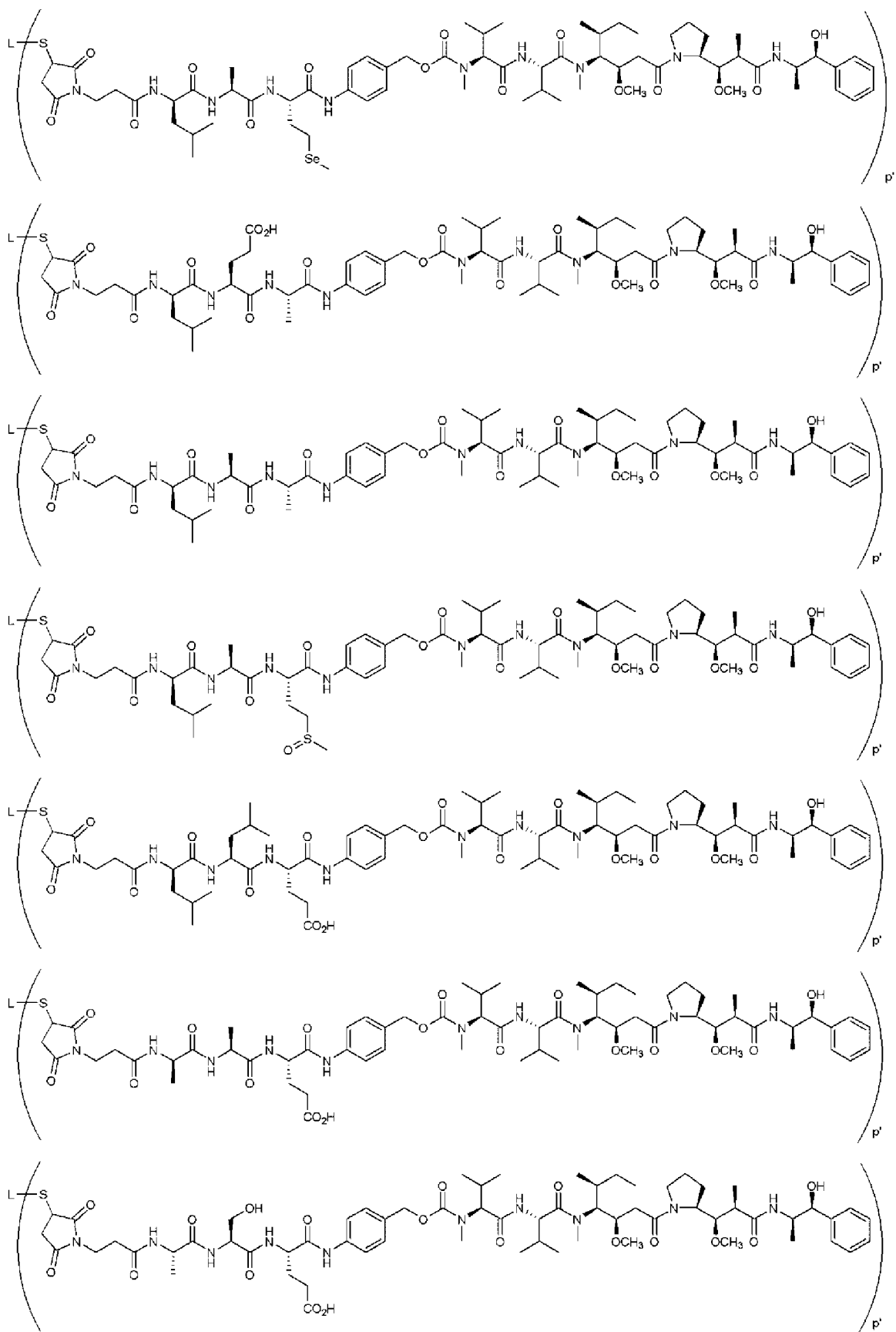
[0496] где нижний индекс a равен 1, таким образом, A присутствует, где A представляет собой α -аминокислоту или β -аминокислотный остаток; R^{a3} представляет собой $-H$, необязательно замещенный C_1 - C_6 алкил, необязательно замещенный $-C_1$ - C_4 алкилен- $(C_6$ - C_{10} арил), $-R^{PEG1}-O-(CH_2CH_2O)_n-R^{PEG2}$; R^{PEG1} представляет собой C_1 - C_4 алкилен; R^{PEG2} представляет собой $-H$ или C_1 - C_4 алкил; нижний индекс n' находится в пределах от 1 до 36; и где основной атом азота, связанный с R^{a3} , является необязательно протонированным; R^{19B} представляет собой $-CH(CH_3)-CH(OH)-Ph$, $-CH(CO_2H)-CH(OH)-CH_3$, или $-CH(CO_2H)-CH_2Ph$; R^{34} представляет собой изопропил; и R^{35} представляет собой метил или $-(CH_2)_3NH(C=O)NH_2$.

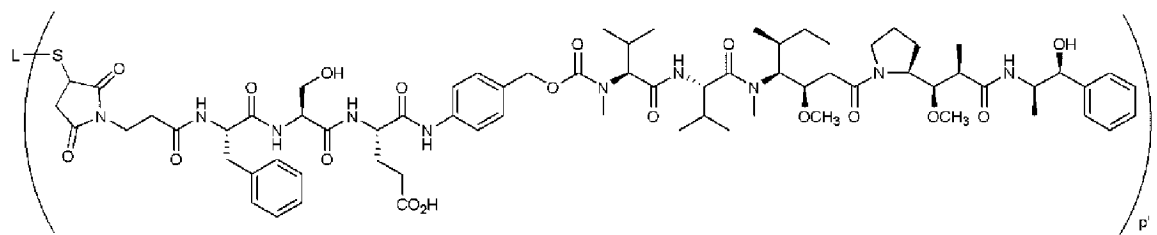
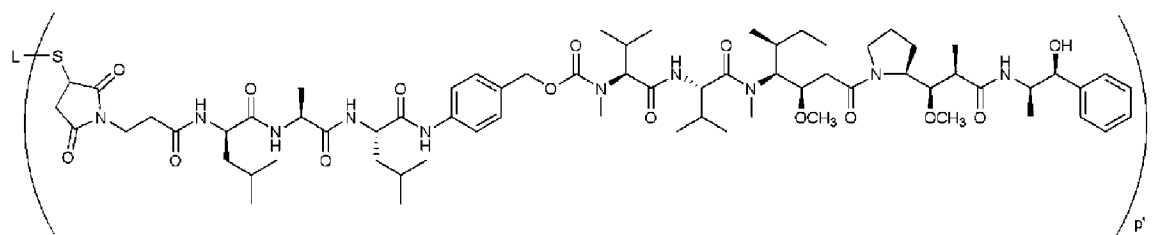
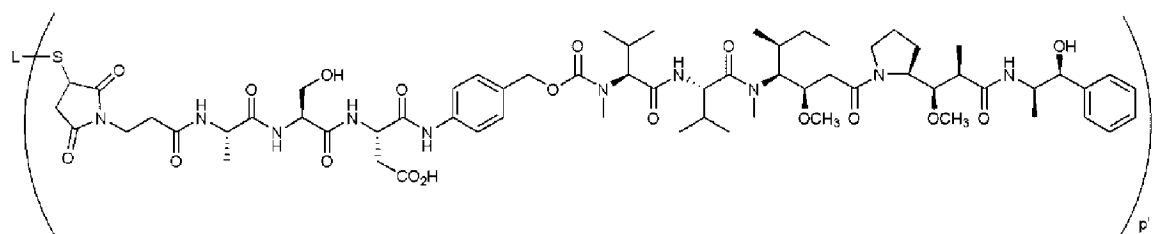
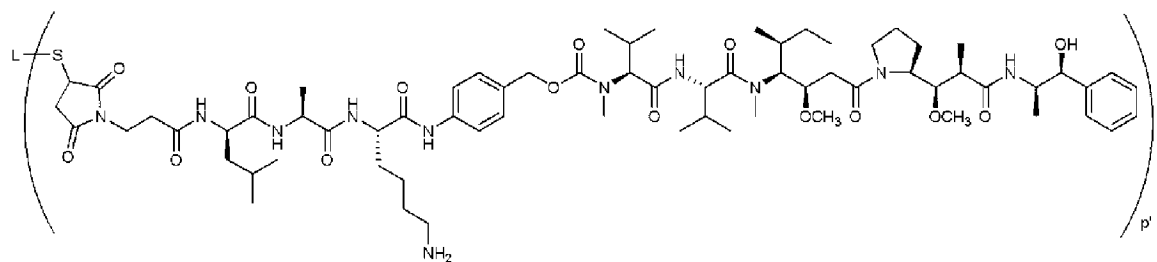
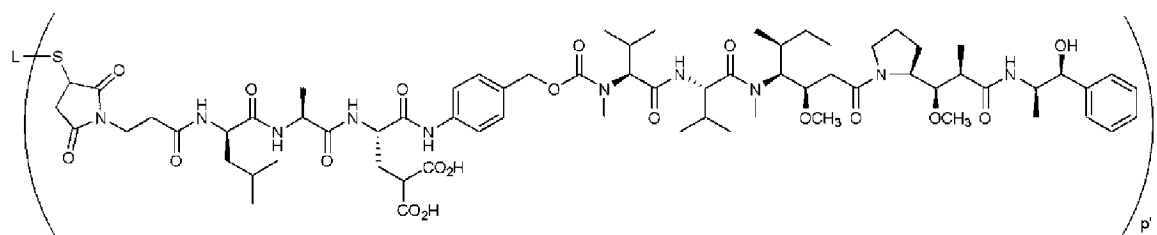
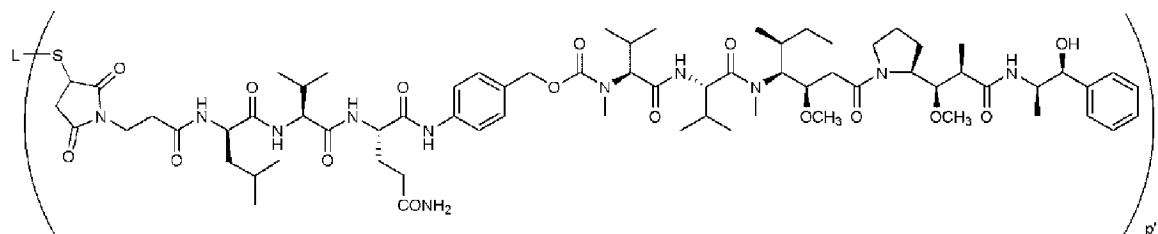
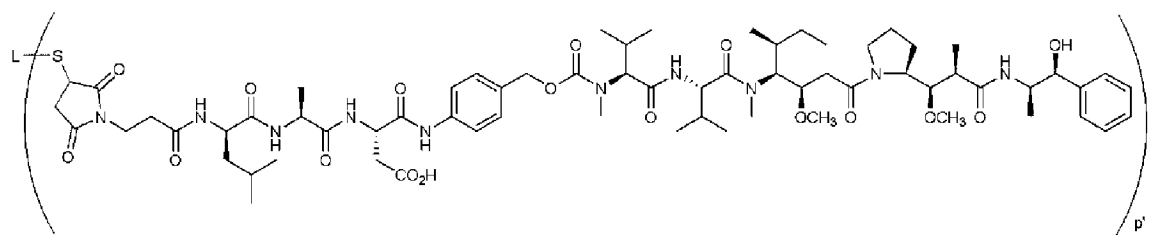
[0497] В некоторых вариантах осуществления соединение-конъюгат Лиганд-Лекарственное средство представлено следующей структурой:

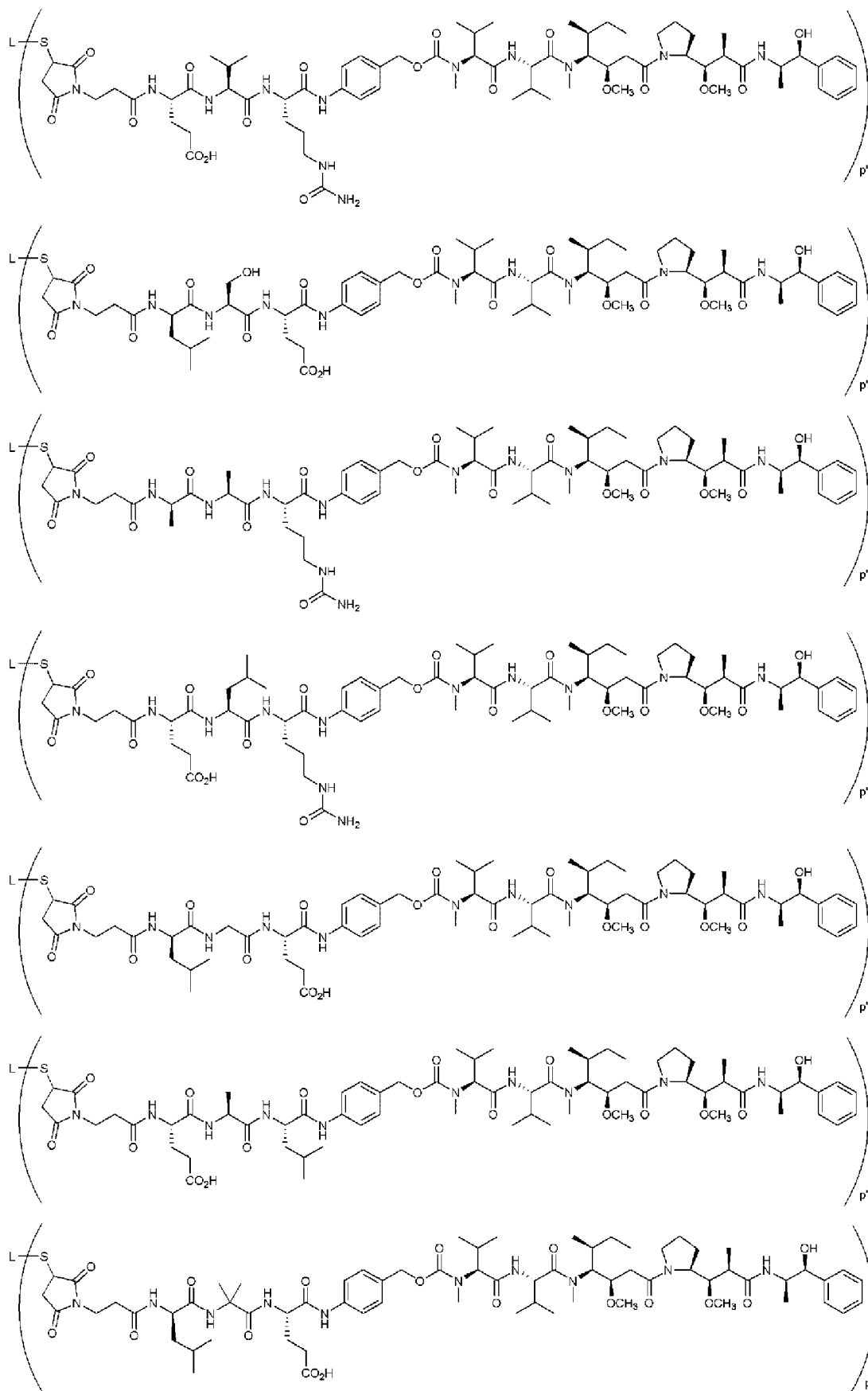


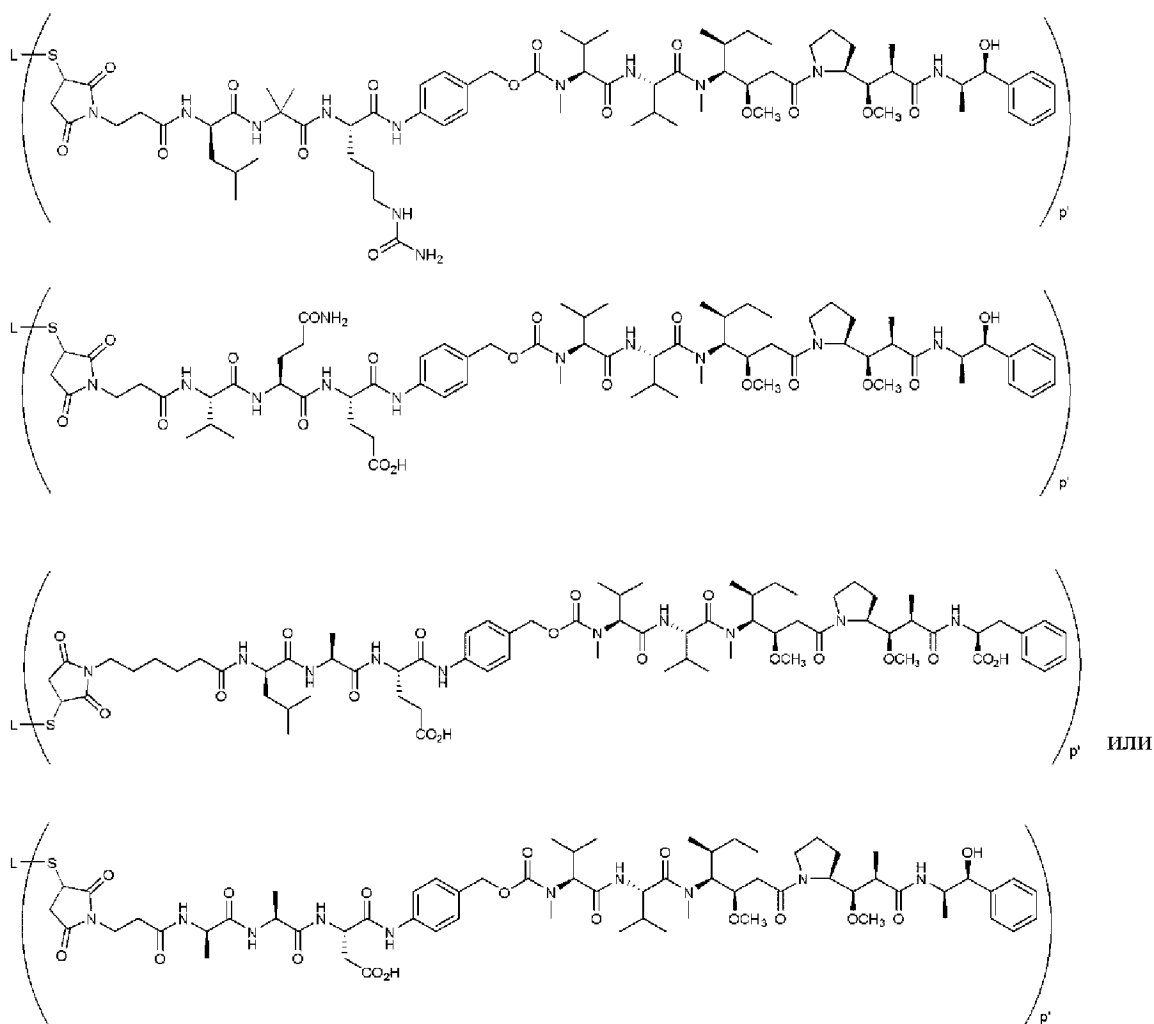












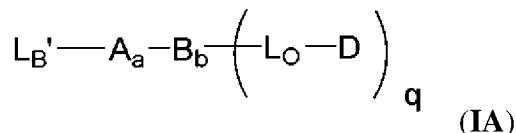
или его соль (например, его фармацевтически приемлемая соль), где L представляет собой Лигандный Компонент, и нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 24. Должно быть понятно, что когда L представляет собой антитело, атом серы S, связанный с L в вышеуказанных химических структурах, представляет собой серу из боковой цепи цистеинового остатка антитела. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или равное 4 или 8. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p' равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или 24. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p' равен 2, 4, 6 или 8. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p' равен 2. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p' равен 4. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p' равен 6. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p' равен 8. Также включены композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, содержащие любое из соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, перечисленных выше, где p' заменен p, как описано в настоящей заявке.

[0498] 2.3 Соединения Лекарственное средство-Линкер

[0499] Соединение Лекарственное средство-Линкер представлено структурой формулы I:

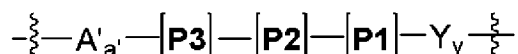
LU'-(D') (I)

[0500] или его соль, где LU' является предшественником LU; и D' представляет собой от 1 до 4 Лекарственных Единиц, которые предпочтительно идентичны друг другу, где соединение Лекарственное средство-Линкер дополнительно определено структурой формулы IA:



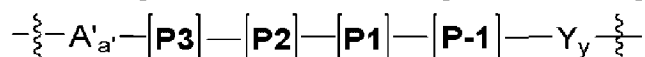
[0501] где L_B' является предшественником ковалентно связывающегося с лигандом фрагмента; A представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент; нижний индекс a равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A соответственно, B представляет собой необязательный Разветвляющийся Компонент; нижний индекс b равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие B соответственно, при условии, что нижний индекс b равен 1, когда нижний индекс q выбран от 2 до 4, и

[0502] L_O представляет собой вторичный линкер, имеющий формулу:



[0503] или его соль, в частности фармацевтически приемлемую соль, где A' представляет собой второй необязательный Удлиняющий Компонент, нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A' соответственно, Y представляет собой необязательный Спейсерный Компонент, нижний индекс y равен 0, 1 или 2, указывая на отсутствие или присутствие 1 или 2 Спейсерных Компонентов соответственно, и P1, P2 и P3 представляют собой аминокислотные остатки, которые вместе обеспечивают селективность к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани, и/или вместе обеспечивают предпочтительную биодистрибуцию Конъюгата, полученного из соединения Лекарственное средство-Линкер формулы IA, в опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью, где цитотоксичность свободного лекарственного средства, высвобождаемого из Конъюгата, в отношении нормальной ткани ответственна, по меньшей мере частью, за нежелательное явление, типично связанное с введением терапевтически эффективного количества сравнительного Конъюгата на основе дипептида, где протеолитическое расщепление происходит по ковалентной связи между P1 и Y, если нижний индекс y равен 1 или 2, или по ковалентной связи между P1 и D, если нижний индекс y равен 0, или

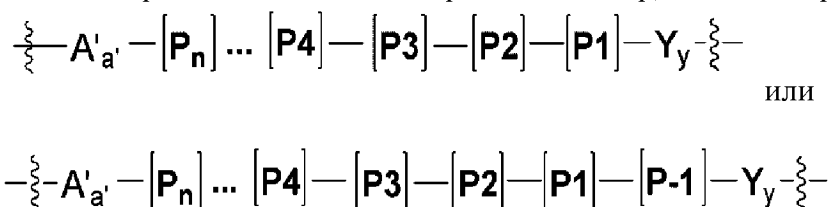
[0504] L_O представляет собой вторичный линкер, имеющий формулу:



[0505] или его соль, в частности фармацевтически приемлемую соль, где A', a', Y и

у сохраняют их прежнее значение, а P1, P2 и P3 представляют собой аминокислотные остатки, необязательно с P-1 аминокислотой, которые вместе обеспечивают селективность к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани, и/или вместе обеспечивают предпочтительную биодистрибуцию Конъюгата, полученного из соединения Лекарственное средство-Линкер формулы IA, в опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью, где цитотоксичность свободного лекарственного средства, высвобождаемого из Конъюгата, в отношении нормальной ткани ответственна, по меньшей мере частью, за нежелательное явление, типично связанное с введением терапевтически эффективного количества сравнительного Конъюгата на основе дипептида, где протеолитическое расщепление происходит по ковалентной связи между P1 и P-1 для высвобождения линкерного фрагмента, имеющего структуру [P-1]-Y_y-D, или

[0506] L_O представляет собой вторичный линкер, имеющий формулу:



[0507] или его соль, в частности фармацевтически приемлемую соль, где A', a', Y и у сохраняют их прежнее значение, а P-1 и P1, P2, P3...P_n представляют собой смежные аминокислотные остатки, где нижний индекс n представляет собой целое число, имеющее значение, предусматривающее вплоть до 12 (например, 3-12 или 3-10) этих аминокислот, и P1, P2 и P3, необязательно с P-1, вместе обеспечивают селективность к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани, и/или вместе обеспечивают предпочтительную биодистрибуцию Конъюгата, полученного из соединения Лекарственное средство-Линкер, в опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью, где цитотоксичность свободного лекарственного средства, высвобождаемого из Конъюгата, в отношении нормальной ткани ответственна, по меньшей мере частью, за нежелательное явление, типично связанное с введением терапевтически эффективного количества сравнительного Конъюгата на основе дипептида, где протеолитическое расщепление происходит по ковалентной связи между P1 и Y_y-D или между P1 и P-1 с высвобождением линкерного фрагмента, имеющего структуру Y_y-D или [P-1]-Y_y-D соответственно, где последний затем подвергается экзопептидазному расщеплению с высвобождением линкерного фрагмента, имеющего структуру Y_y-D. В обоих случаях Y_y-D линкерный фрагмент претерпевает спонтанное разложение с полным высвобождением D в виде свободного лекарственного средства.

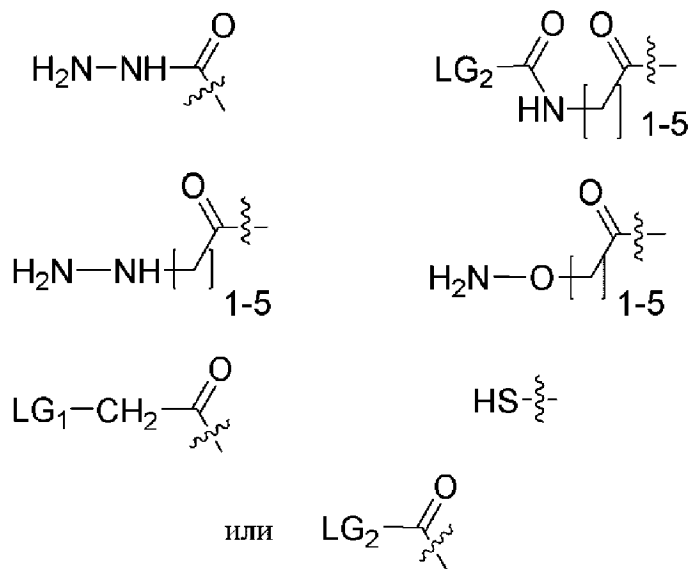
[0508] Дополнительные P4, P5...P_n аминокислотные остатки выбраны таким образом, чтобы не изменять сайт расщепления, который обеспечивает -Y_y-D или -[P-1]-Y_y-D фрагмент, но напротив выбраны для сохранения желаемого физико-химического и/или фармакокинетического свойства для Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство,

которые получают из соединения Лекарственное средство-Линкер формулы IA, где желаемое физико-химическое и/или фармакокинетическое свойство обеспечивается преимущественно аминокислотными остатками P1, P2 и P3, такое как повышенная биодистрибуция конъюгата в опухолевой ткани в ущерб биодистрибуции в нормальной ткани, или для усиления этого физико-химического и/или фармакокинетического свойства по сравнению с сравнительным Конъюгатом на основе дипептида.

[0509] В любом из этих вариантов осуществления L_O , если нижний индекс q равен 1, то нижний индекс b равен 0, таким образом В отсутствует и A' становится необязательной субъединицей А, и если нижний индекс q равен 2, 3 или 4, то нижний индекс b равен 1, таким образом В присутствует, A' остается компонентом L_O , как показано, и необязательная субъединица А тогда указана как A_O .

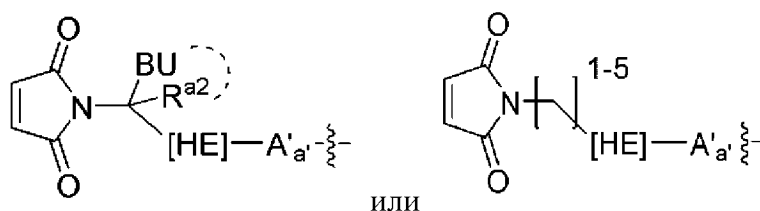
[0510] Соединение Лекарственное средство-Линкер является особенно полезным при получении Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство формулы 1, таким образом, LU' является предшественником LU для фрагмента лекарственное средство-линкер соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство.

[0511] В некоторых вариантах осуществления $L_B'-A$ - соединения Лекарственное средство-Линкер имеет или включает одну из следующих структур:



[0512] или соль вышеуказанного соединения, где LG_1 представляет собой удаляемую группу, подходящую для нуклеофильного вытеснения нуклеофилом нацеливающего агента; LG_2 представляет собой удаляемую группу, подходящую для образования амидной связи с нацеливающим агентом, или $-OH$ для обеспечения активируемой карбоновой кислоты, подходящей для образования амидной связи с нацеливающим агентом; и волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к остальной структуре соединения Лекарственное средство-Линкер.

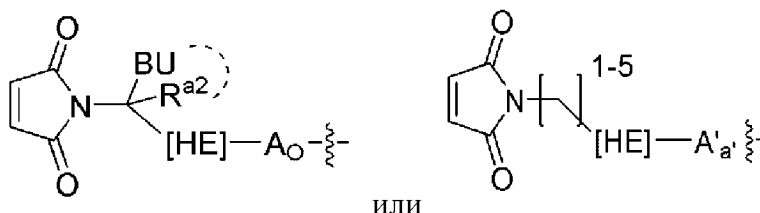
[0513] В других вариантах осуществления соединения Лекарственное средство-Линкер формулы IA, где нижний индекс q равен 1, $L_B'-A$ - имеет или включает одну из следующих структур:



[0514] или соль вышеуказанного соединения, где A' представляет собой необязательную вторую субъединицу A , иногда указанную как A_2 , если эта субъединица присутствует; нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A' соответственно; волнистая линия смежная с A' указывает место ковалентного присоединения к другой субъединице A или к Пептидному Расщепляемому Компоненту; $[HE]$ представляет собой необязательный Усиливающий Гидролиз Компонент, который представляет собой компонент, обеспечиваемый A или его первой субъединицей; BU представляет собой Основной Компонент; R^{a2} представляет собой необязательно замещенную C_1 - C_{12} алкильную группу; и изогнутая пунктирная линия указывает необязательную циклизацию, таким образом, что в отсутствие указанной циклизации BU представляет собой ациклический Основной Компонент, содержащий первичную, вторичную или третичную аминую функциональную группу в качестве основной функциональной группы ациклического Основного Компонента, или в присутствии указанной циклизации BU представляет собой циклизированный Основной Компонент, в котором R^{a2} и BU вместе с атомом углерода, с которым оба связаны, определяют необязательно замещенный спиро C_3 - C_{20} гетероцикло, содержащий скелетный основной атом азота вторичной или третичной аминной функциональной группы в качестве основной функциональной группы циклического Основного Компонента,

[0515] где основной атом азота ациклического Основного Компонента или циклического Основного Компонента необязательно подходяще защищен азот-защитной группой, в зависимости от степени замещения основного атома азота, или является необязательно протонированным

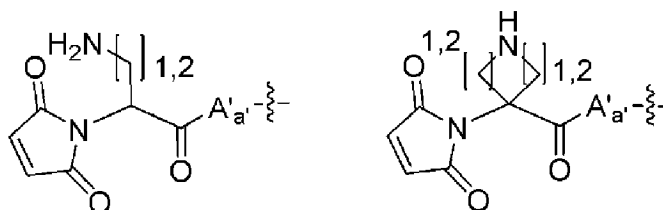
[0516] В других вариантах осуществления, где нижний индекс q равен 2, 3 или 4, $L_B'-A-$ включает одну из следующих структур:



[0517] или соль вышеуказанного соединения, где волнистая линия смежная с A_o указывает место ковалентного присоединения к B , A_o представляет собой необязательную субъединицу A , иногда указанную как A_2 , если эта субъединица присутствует, и остальные переменные группы имеют значение, определенное для соединений лекарственное средство-линкер формулы IA , где нижний индекс q равен 1.

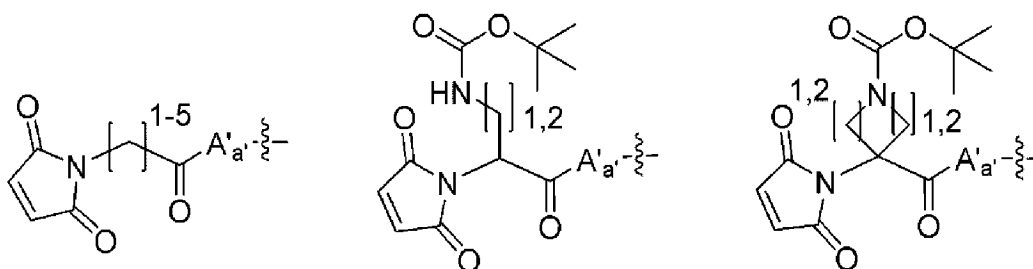
[0518] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления, где нижний

индекс q равен 1, L_B' -A- соединения Лекарственное средство-Линкер имеет или включает одну из следующих структур:



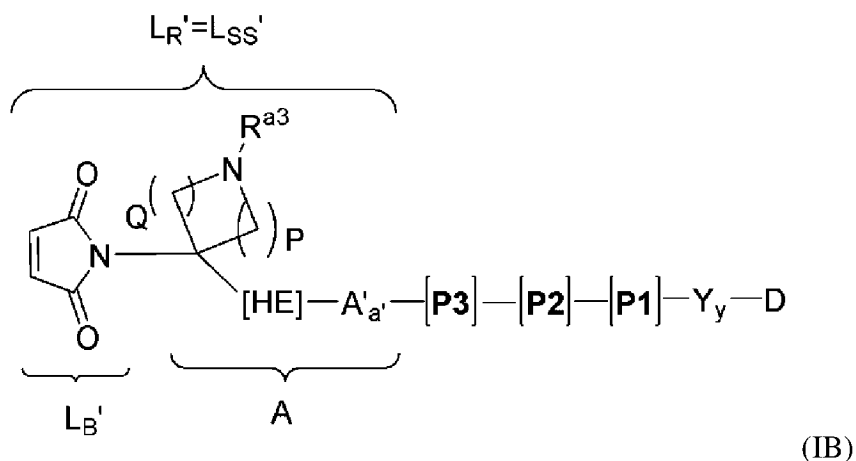
[0519] или соль вышеуказанного соединения, в частности в виде кислотно-аддитивной соли, где A' и нижний индекс a' такие, как описано выше. Эти L_B' -A-структуры являются иллюстративными самостабилизирующимися фрагментами-предшественниками, иногда указанными как L_{SS}' , поскольку каждый способен преобразовываться в L_{SS} фрагмент соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство.

[0520] В других предпочтительных вариантах осуществления L_B' -A- соединения Лекарственное средство-Линкер имеет или включает одну из следующих структур:



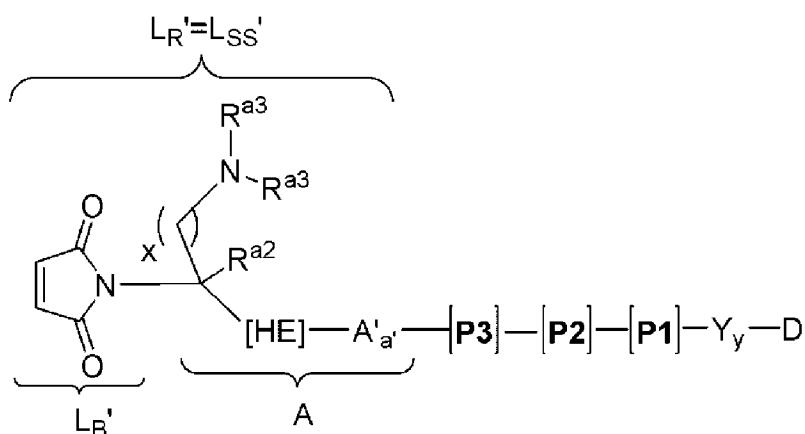
[0521] где A' и нижний индекс a' являются такими, как описано выше для соединений лекарственное средство-линкер формулы **IA**, где нижний индекс q равен 1.

[0522] В предпочтительных вариантах осуществления L_{SS}' -содержащих соединений Лекарственное средство-Линкер, L_{SS}' фрагмент содержит циклический Основной Компонент, представляющий собой гетероцикло. Иллюстративные соединения Лекарственное средство-Линкер, имеющие эти первичные линкеры, в которых Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой трипептид, представлены структурами формулы **IB**:



[0523] или соль вышеуказанного соединения, где НЕ представляет собой необязательный Усиливающий Гидролиз Компонент; А' представляет собой субъединицу, если присутствует, первого Удлиняющего Компонента (А); нижний индекс а' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие А' соответственно; нижний индекс Р равен 1 или 2; нижний индекс Q находится в пределах от 1 до 6, предпочтительно нижний индекс q равен 1 или 2, более предпочтительно нижний индекс Q имеет такое же значение, как и нижний индекс Р; и где R^{a3} представляет собой -H, необязательно замещенный C_1 - C_6 алкил, необязательно замещенный - C_1 - C_4 алкилен-(C_6 - C_{10} арил) или $-R^{PEG1}-O-(CH_2CH_2O)_{1-36}-R^{PEG2}$, где R^{PEG1} представляет собой C_1 - C_4 алкилен, R^{PEG2} представляет собой -H или C_1 - C_4 алкилен, где основной азот, связанный с R^{a3} является необязательно протонированным в форме соли, предпочтительно в форме фармацевтически приемлемой соли, или R^{a3} представляет собой азот-защитную группу, такую как подходящая кислотолабильная защитная группа; P1, P2 и P3 имеют значение, определенное выше для любых из вариантов осуществления Пептидных Расщепляемых Компонентов для фрагмента лекарственное средство-линкер соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство; и остальные переменные группы являются такими, как описано для соединения Лекарственное средство-Линкер формулы **IA**.

[0524] В других предпочтительных вариантах осуществления $L_{SS'}$ -содержащих соединений Лекарственное средство-Линкер формулы **IA** $L_{SS'}$ фрагмент содержит ациклический циклический Основной Компонент. Иллюстративные соединения Лекарственное средство-Линкер, имеющие этот первичный линкер, в котором Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой дипептид, представлены структурами формулы **IE**:

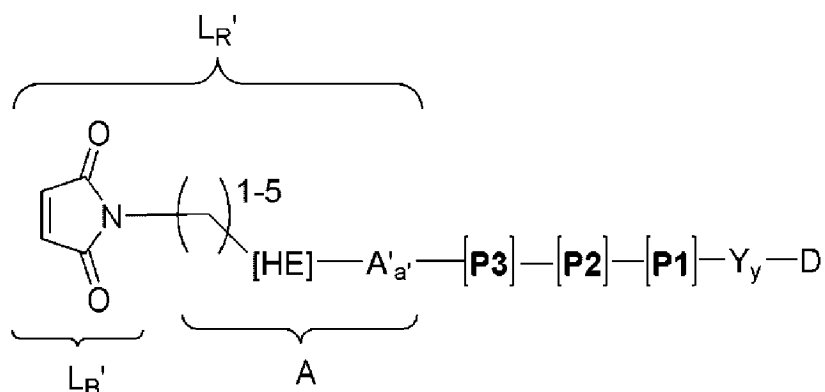


(Формула IE)

[0525] или соль вышеуказанного соединения, где НЕ представляет собой необязательный Усиливающий Гидролиз Компонент; А' представляет собой субъединицу, если присутствует, первого Удлиняющего Компонента (А); нижний индекс а' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие А' соответственно; нижний индекс x равен 1 или 2; R^{a2} представляет собой водород или - CH_3 или - CH_2CH_3 ; R^{a3} в каждом случае независимо представляет собой водород, - CH_3 или - CH_2CH_3 , или оба R^{a3} вместе с азотом, с которым они связаны, определяют гетероцикл азетидинил, пирролидинил или

пиперидинил, в котором основной первичный, вторичный или третичный амин, определенный таким образом, является необязательно протонированным в форме соли, предпочтительно в форме фармацевтически приемлемой соли; P1, P2 и P3 имеют значение, определенное выше для любого из вариантов осуществления Пептидных Расщепляемых Компонентов, и остальные переменные группы являются такими, как описано для соединения Лекарственное средство-Линкер формулы **IA**.

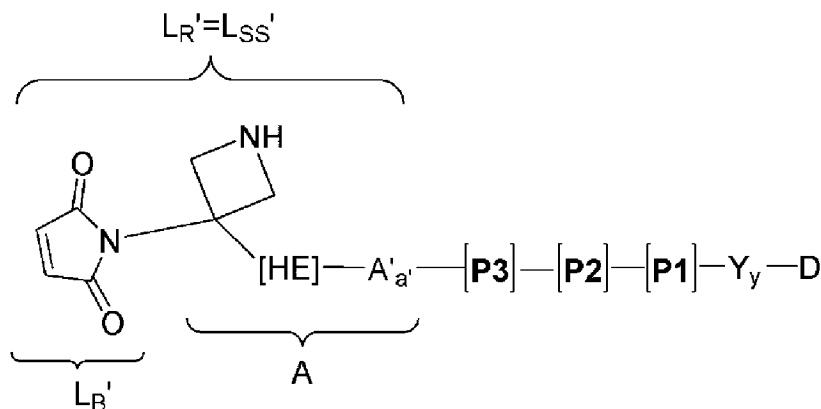
[0526] В других предпочтительных вариантах осуществления первичный линкер не содержит Основной Компонент. Иллюстративные соединения Лекарственное средство-Линкер, имеющие этот первичный линкер, где Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой трипептид, представлены структурой формулы **IIH**:



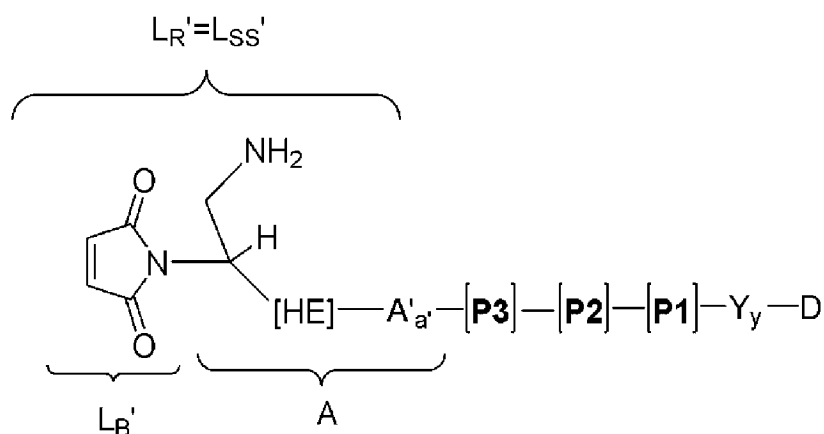
(Формула IIH)

[0527] или соль вышеуказанного соединения, где HE представляет собой необязательный Усиливающий Гидролиз Компонент; A' представляет собой субъединицу, если присутствует, первого Удлиняющего Компонента (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A'; P1, P2 и P3 имеют значение, определенное выше для любого из вариантов осуществления Пептидных Расщепляемых Компонентов фрагмента лекарственное средство-линкер соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, и остальные переменные группы являются такими, как описано для любого из вариантов осуществления соединения Лекарственное средство-Линкер формулы **IA**.

[0528] В более предпочтительных вариантах осуществления, в которых присутствует гетероцикло в качестве циклического Основного Компонента в Линкерном Компоненте, соединение Лекарственное средство-Линкер представлено структурой:



[0529] необязательно в форме соли, в частности в форме фармацевтически приемлемой соли, и в более предпочтительных вариантах осуществления, в которых присутствует ациклический Основной Компонент в Линкерном Компоненте, соединение Лекарственное средство-Линкер представлено структурой:

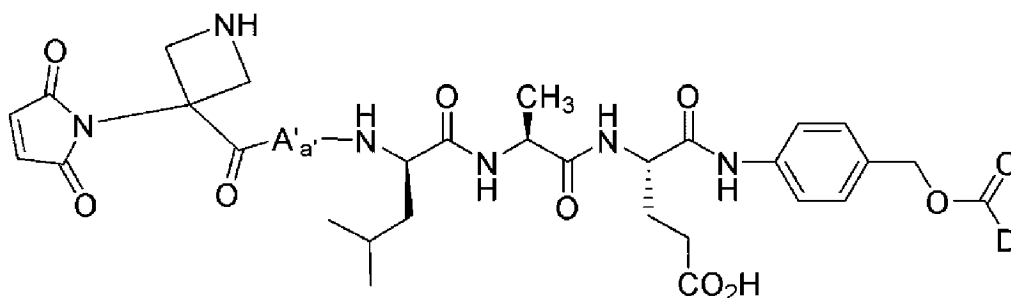


[0530] необязательно в форме соли, где переменные группы $L_{SS'}$ -содержащего соединения Лекарственное средство-Линкер имеют значение, описанное выше для соединения Лекарственное средство-Линкер, имеющего ациклический или циклический (гетероцикло) Основной Компонент.

[0531] В любом из представленных выше фрагментов лекарственное средство-линкер HE предпочтительно присутствует в виде $-C(=O)$ и/или нижний индекс у равен 1 или 2, указывая на присутствие одного или двух саморасщепляющихся Спейсерных Компонентов, соответственно.

[0532] В особенно предпочтительных вариантах осуществления $-[P3]-[P2]-[P1]-$ трипептид в любом из указанных выше соединений Лекарственное средство-Линкер представляет собой D-Leu-Leu-Cit, D-Leu-Leu-Lys, D-Leu-Leu-Met(O), D-Leu-Ala-Glu или Pro-Ala(Nap)-Lys, где Met(O) представляет собой метионин, в котором атом серы окислен до сульфоксида, Cit представляет собой цитруллин и Ala(Nap) представляет собой аланин, в котором его метильная боковая цепь замещена нафт-1-илом.

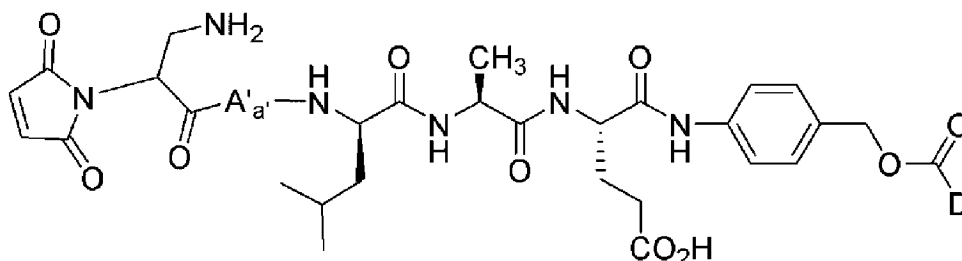
[0533] В особенно предпочтительных вариантах осуществления, в которых присутствует гетероцикло в качестве циклического Основного Компонента в Линкерном Компоненте, соединение Лекарственное средство-Линкер представлено структурой:



[0534] или соль вышеуказанного соединения, где нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A' соответственно, где A' представляет собой

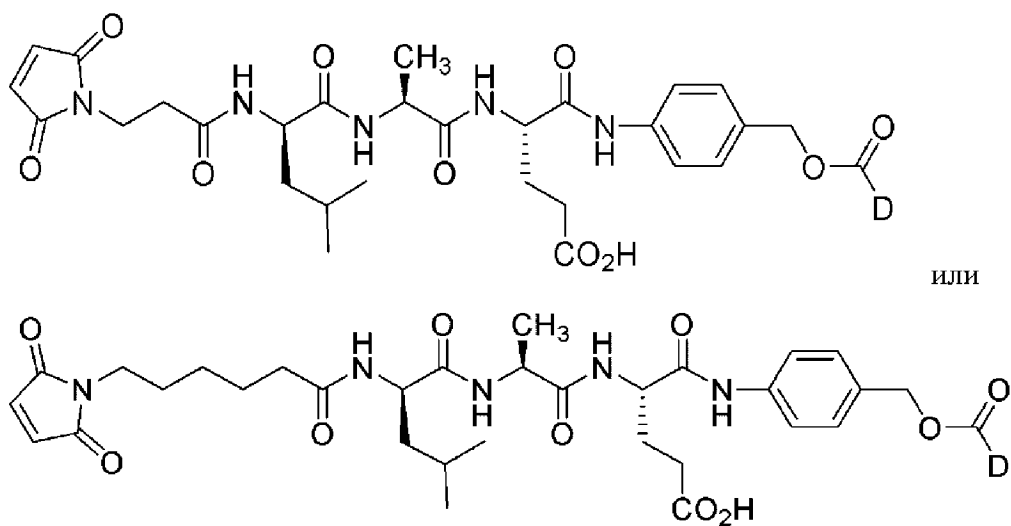
амин-содержащий кислотный остаток формулы **3a**, **4a** или **5a**, как описано в настоящей заявке для второго необязательного Удлиняющего Компонента или субъединицы первого необязательного Удлиняющего Компонента, или A' представляет собой α-аминокислоту или β-аминокислотный остаток; и D представляет собой цитотоксическое лекарственное средство, имеющее вторичную амино группу в качестве сайта присоединения к Линкерному Компоненту фрагмента лекарственное средство-линкер.

[0535] В других особенно предпочтительных вариантах осуществления, в которых присутствует ациклический Основной Компонент в Линкерном Компоненте, соединение Лекарственное средство-Линкер представлено структурой:



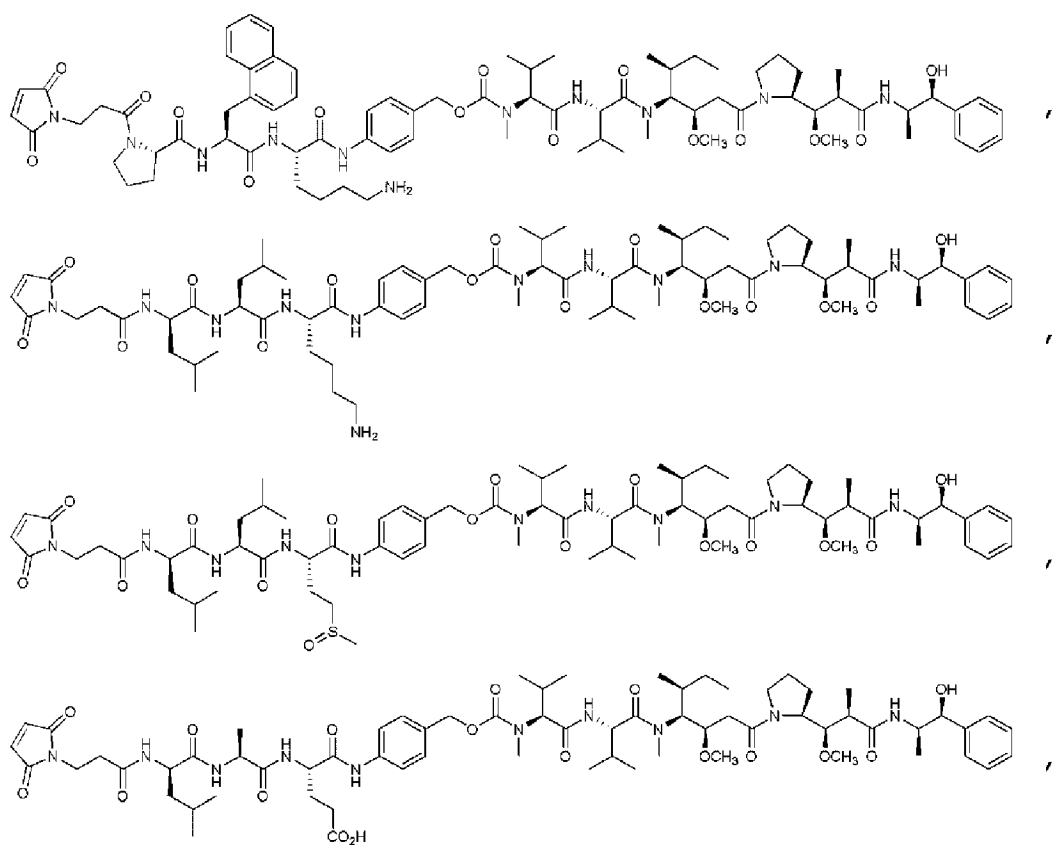
[0536] или соль вышеуказанного соединения, где переменные группы имеют значение, указанное выше для соединений Лекарственное средство-Линкер, имеющих циклический Основной Компонент.

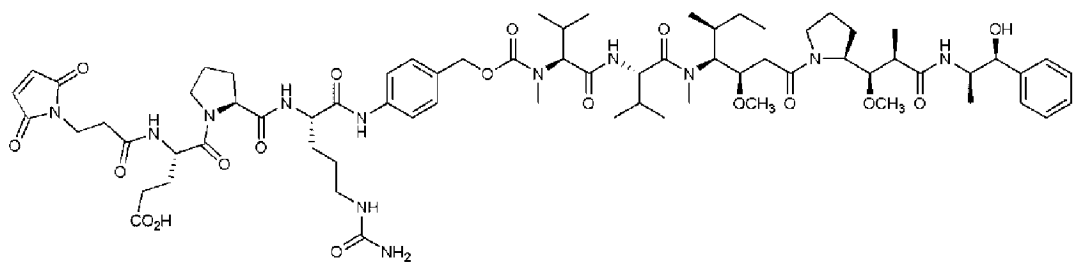
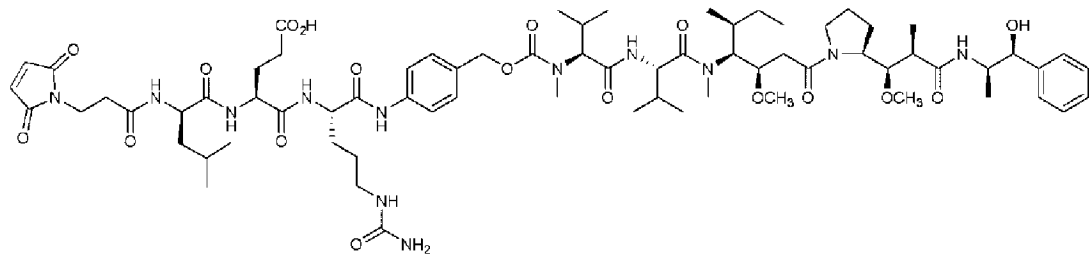
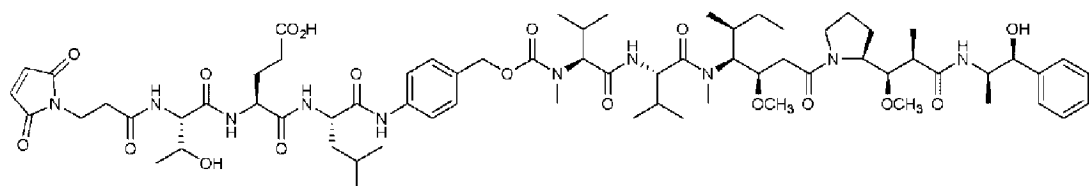
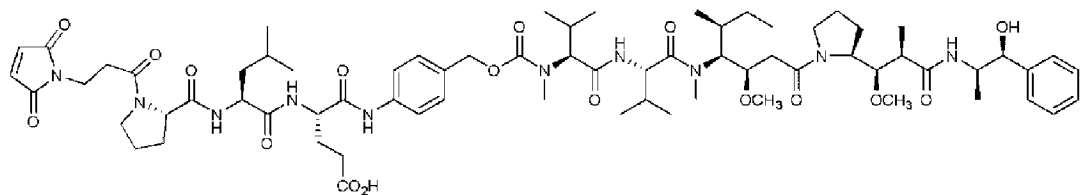
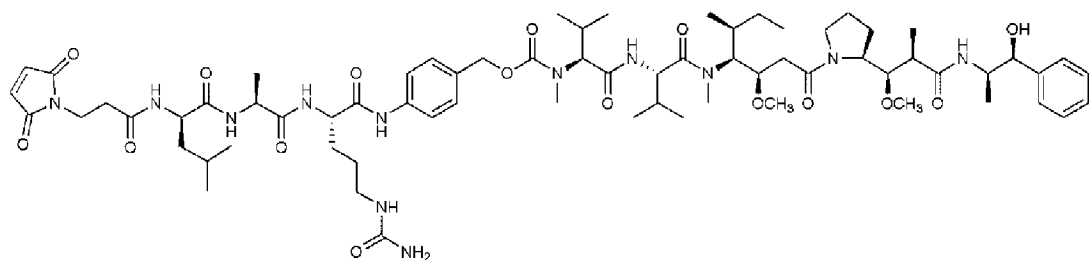
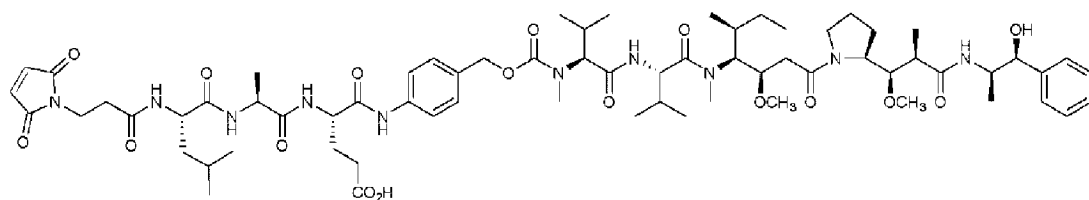
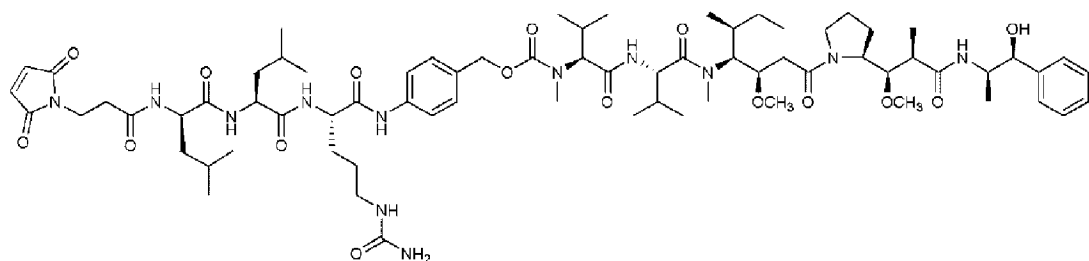
[0537] В других особенно предпочтительных вариантах осуществления, в которых не содержится Основной Компонент, соединение Лекарственное средство-Линкер представлен структурой:

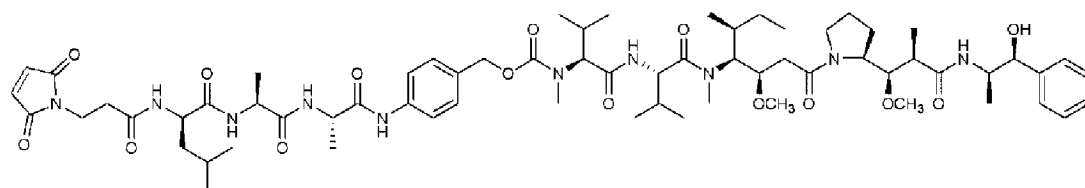
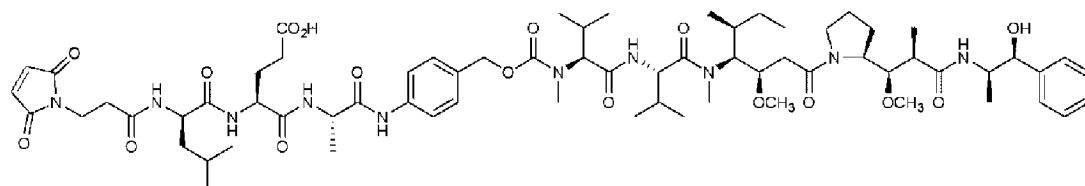
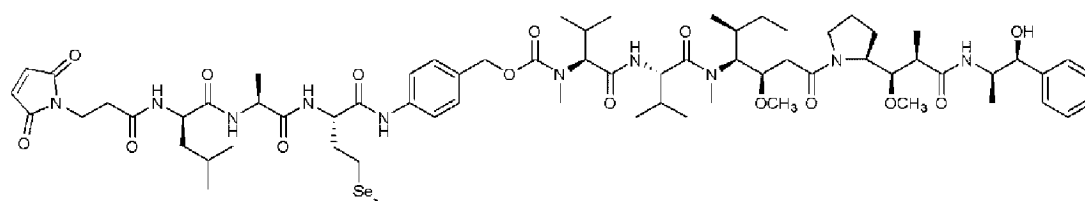
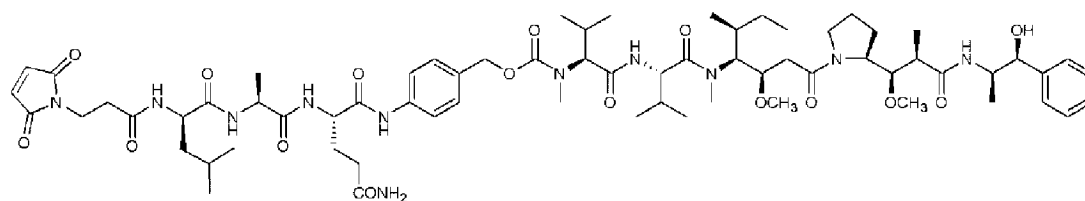
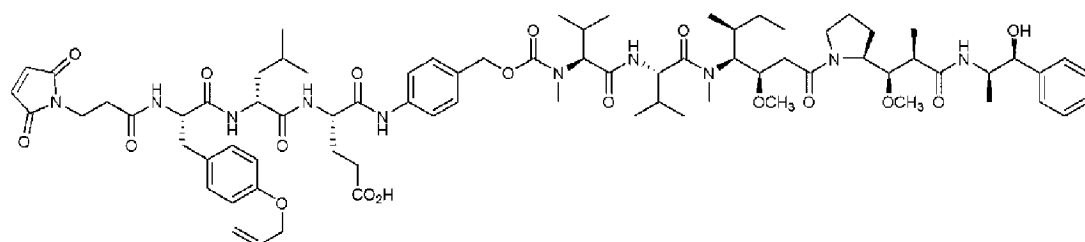
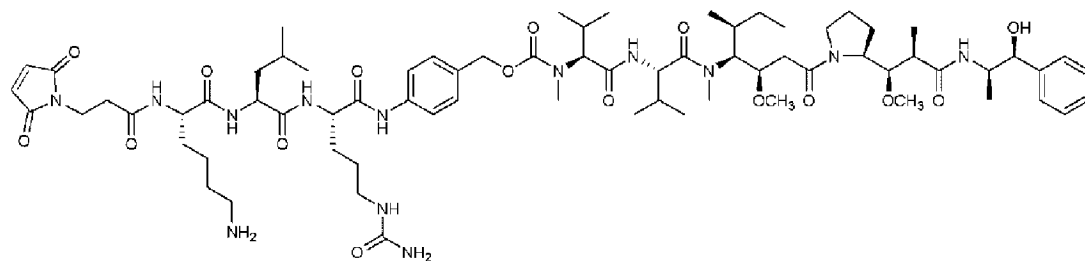
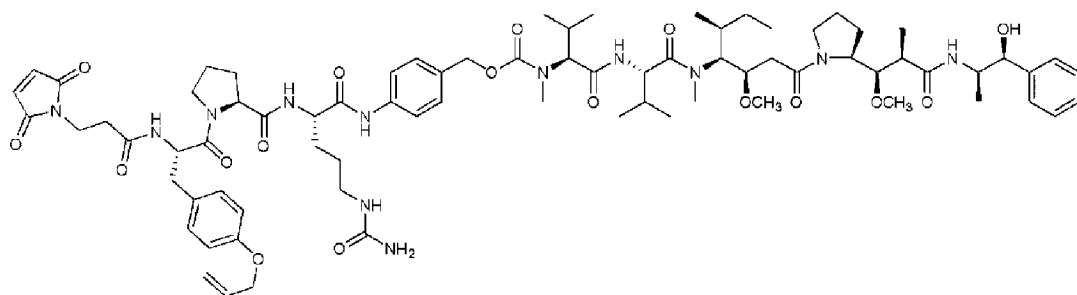


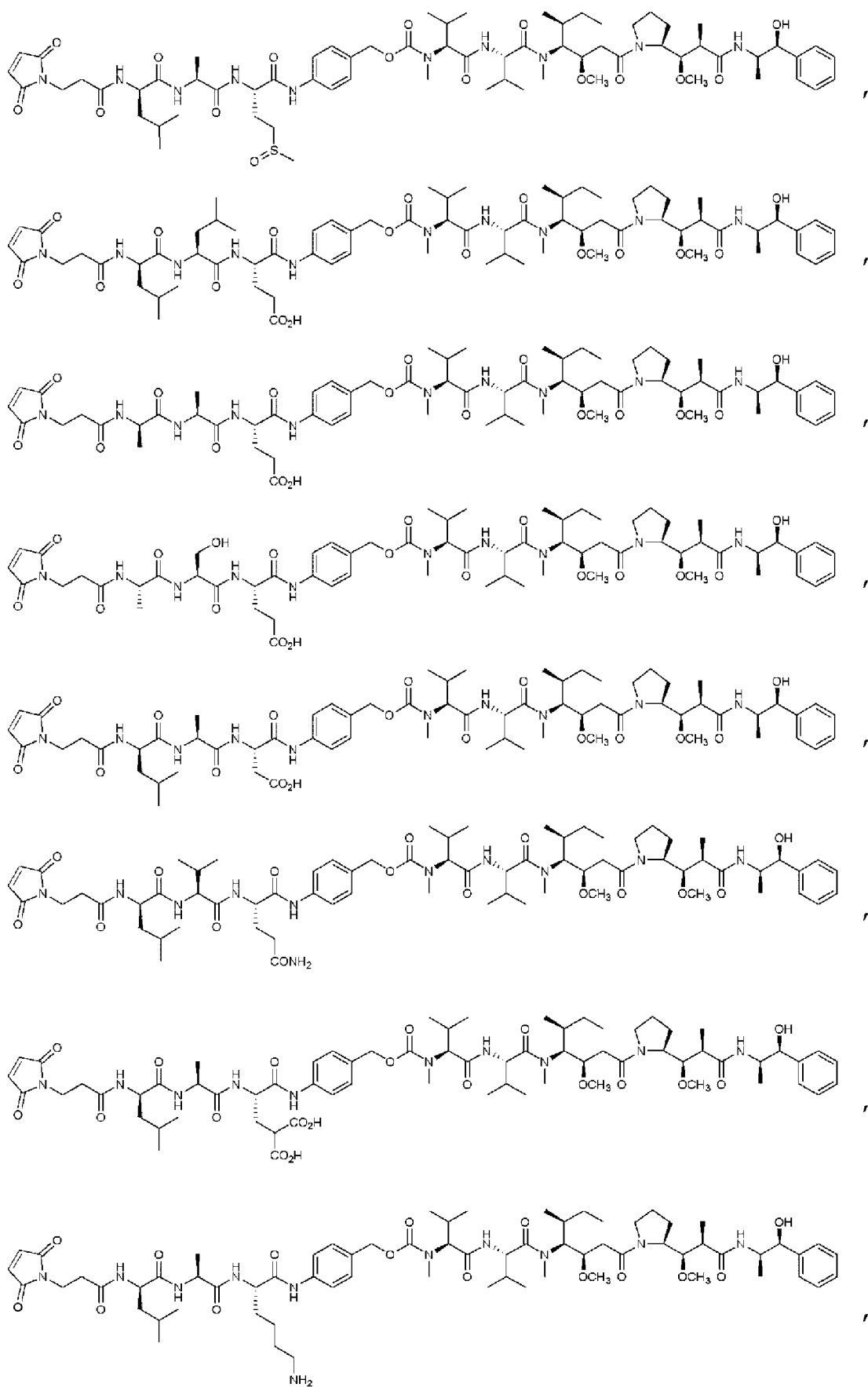
[0538] или соль вышеуказанного соединения, где переменные группы имеют значение, указанное выше для соединений Лекарственное средство-Линкер, имеющих циклический Основной Компонент.

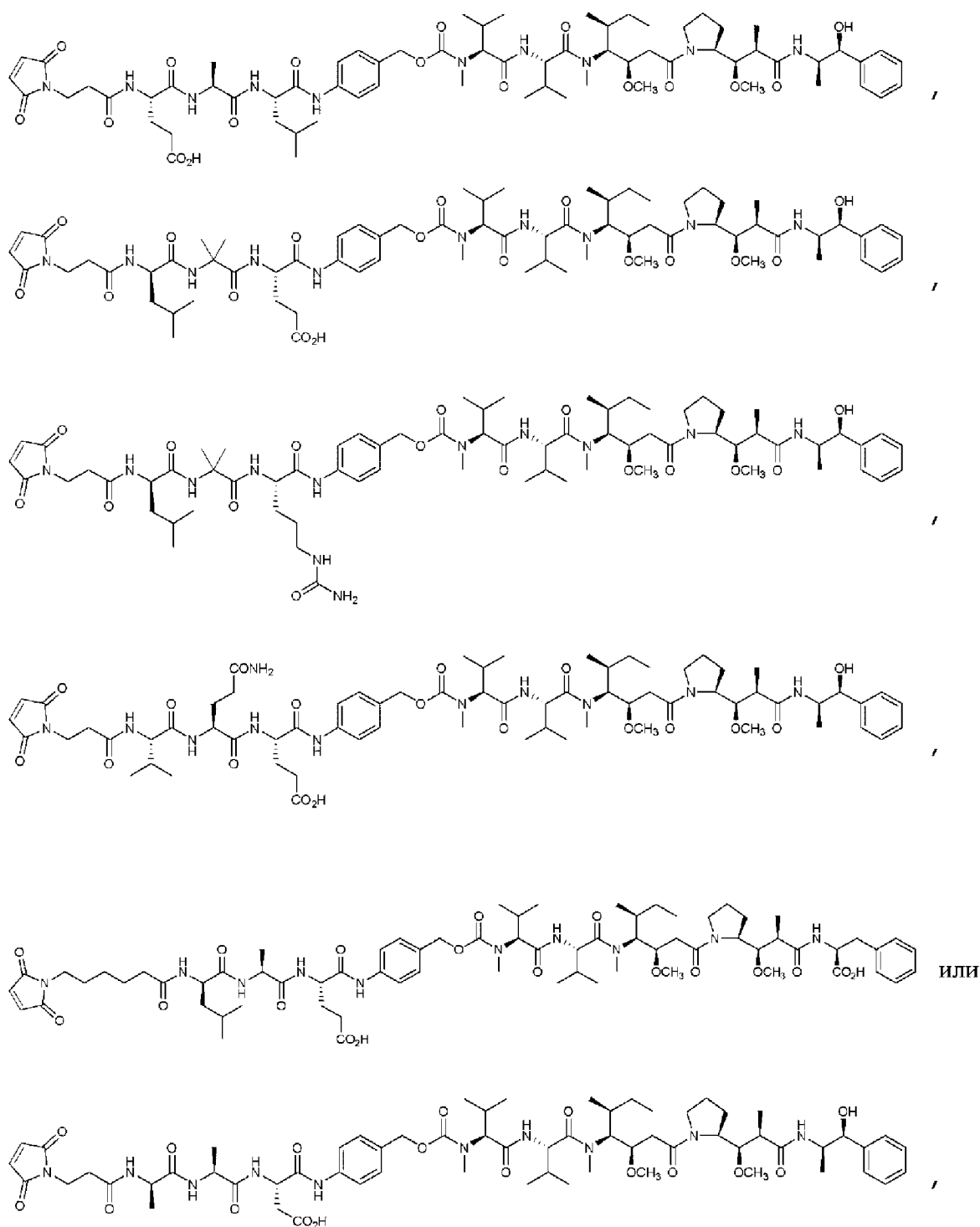
[0539] В некоторых вариантах осуществления соединение Лекарственное средство-Линкер представлено:





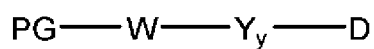






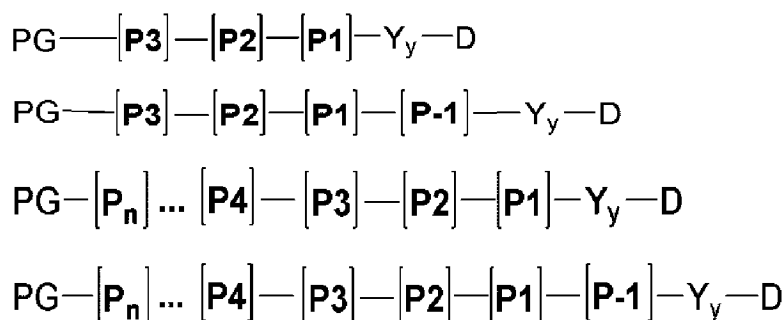
или соль вышеуказанного соединения.

[0540] В некоторых вариантах осуществления представлено соединение-предшественник Лекарственное средство-Линкер, представленное структурой:



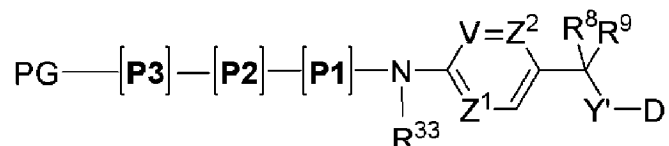
[0541] или его соль, где W, Y, нижний индекс y и D сохраняют их прежнее значение, и PG представляет собой амин-защитную группу или водород. В некоторых вариантах осуществления амин-защитная группа представляет собой Fmoc.

[0542] В некоторых вариантах осуществления соединение-предшественник Лекарственное средство-Линкер представлено структурой:



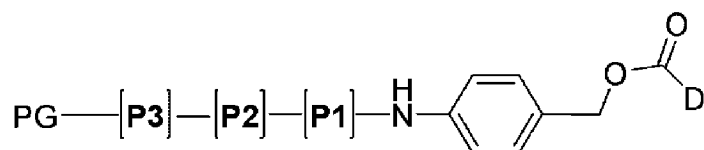
[0543] или соль вышеуказанного соединения, где P-1, P1, P2, P3...P_n, Y, нижний индекс y и D сохраняют их прежнее значение, и PG представляет собой амин-защитную группу или водород.

[0544] В некоторых вариантах осуществления соединение-предшественник Лекарственное средство-Линкер представлено структурой:



[0545] или соль вышеуказанного соединения, где P1, P2, P3, R⁸, R⁹, R³³, V, Y', Z¹, Z² и D сохраняют их прежнее значение, и PG представляет собой амин-защитную группу или водород.

[0546] В любом из соединений Лекарственное средство-Линкер, описанных в настоящей заявке, L_B'-A_a-B_b-A'_a'- часть может быть заменена PG с образованием соединения-предшественника Лекарственное средство-Линкер, представленного структурой:



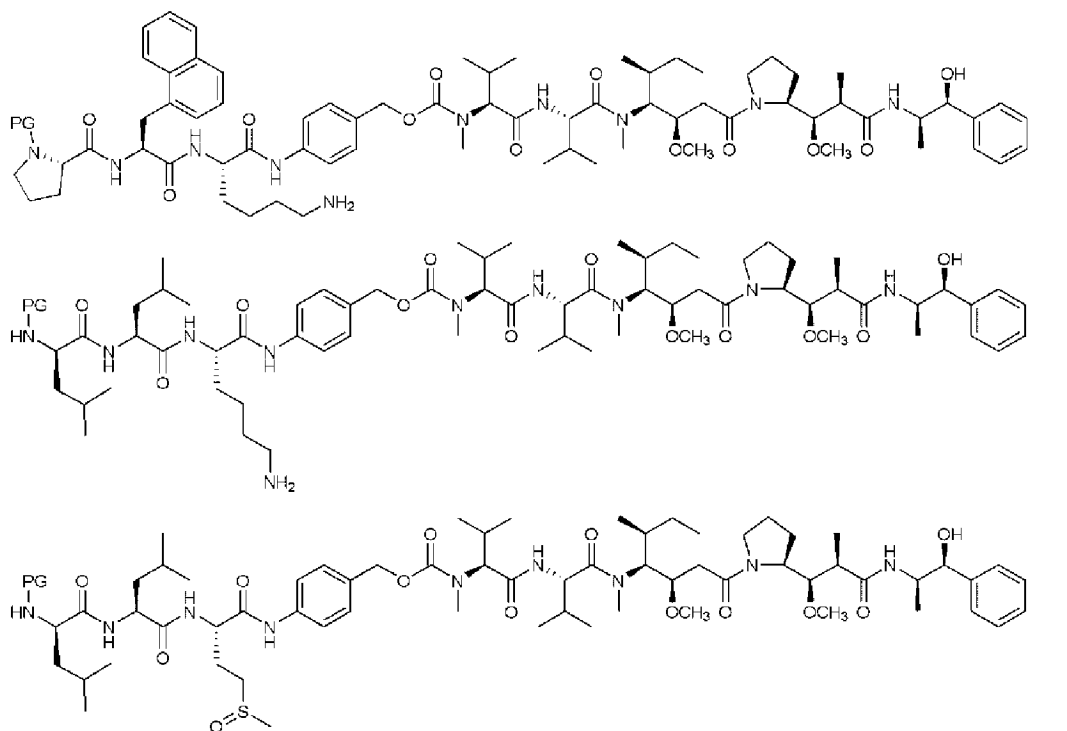
[0547] или соль вышеуказанного соединения, где P1, P2, P3, и D сохраняют их прежнее значение, и PG представляет собой амин-защитную группу или водород.

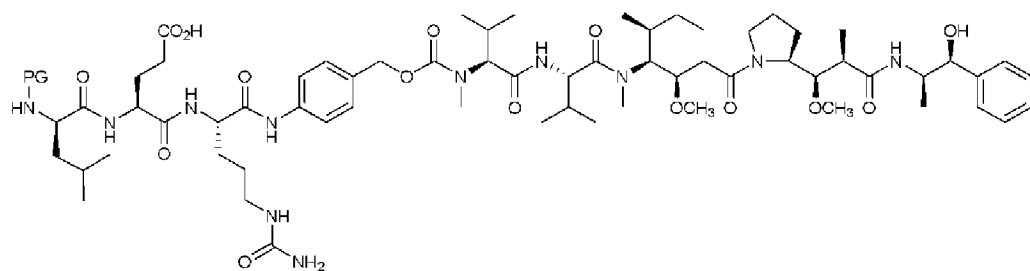
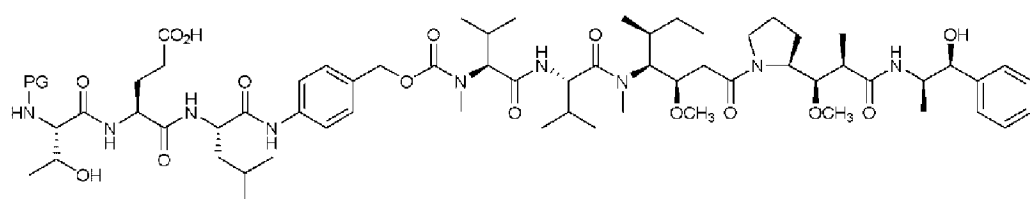
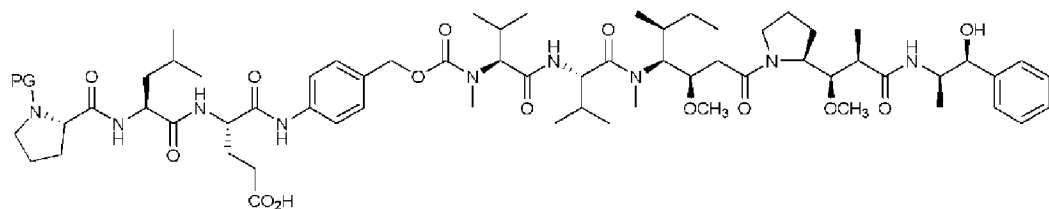
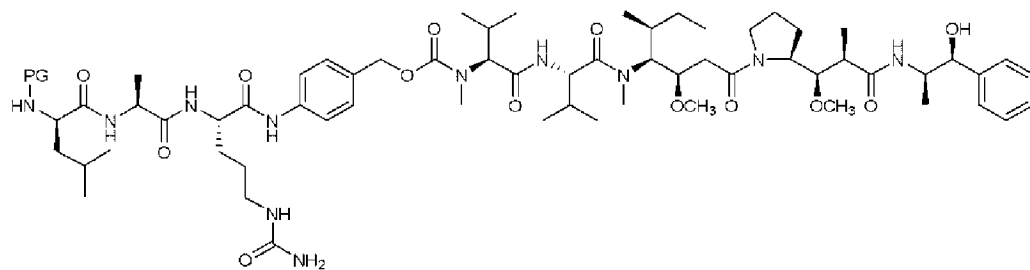
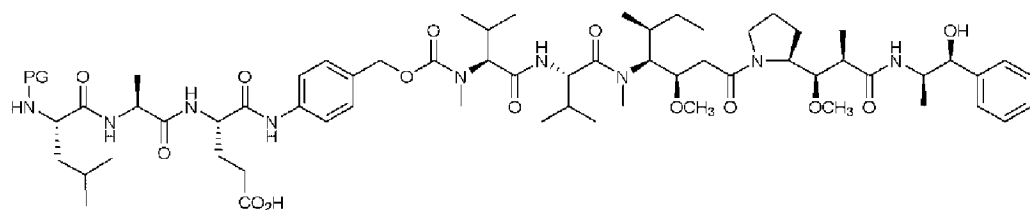
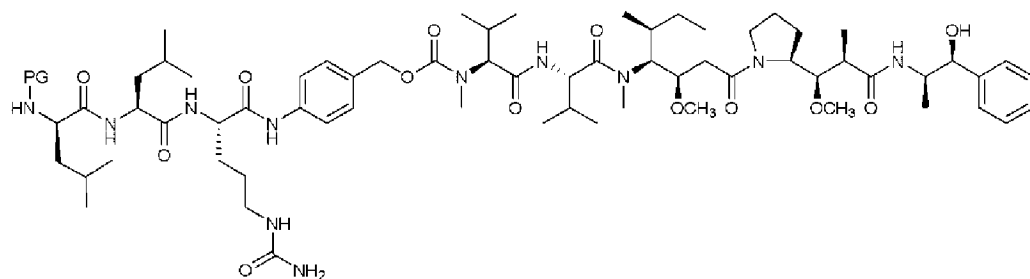
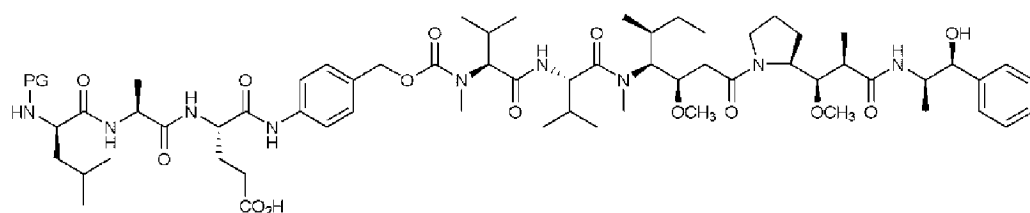
[0548] Должно быть понятно, что Предшественник Лекарственное средство-Линкер может быть далее модифицирован Удлиняющим Компонентом для присоединения к лиганду, такому как антитело. В некоторых вариантах осуществления затем можно осуществить взаимодействие Предшественника Лекарственное средство-Линкер с Удлиняющим Компонентом, подходящим для присоединения к цистеиновому остатку антитела. Подходящие Удлиняющие Компоненты для присоединения к цистеиновому остатку антитела описаны в настоящей заявке, в том числе Удлиняющие Компоненты, включающие малеимидную группу. В некоторых вариантах осуществления

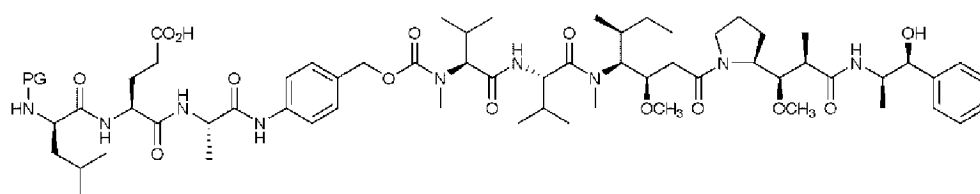
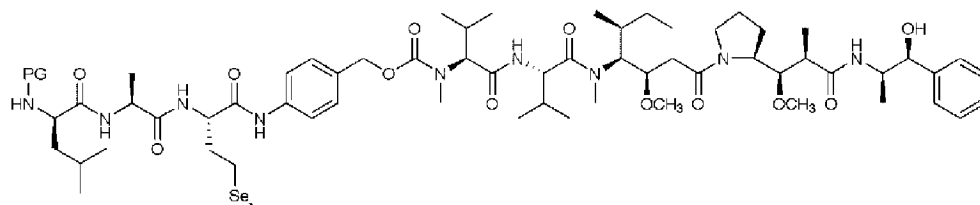
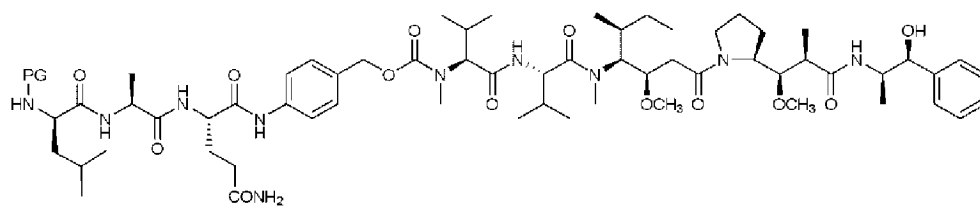
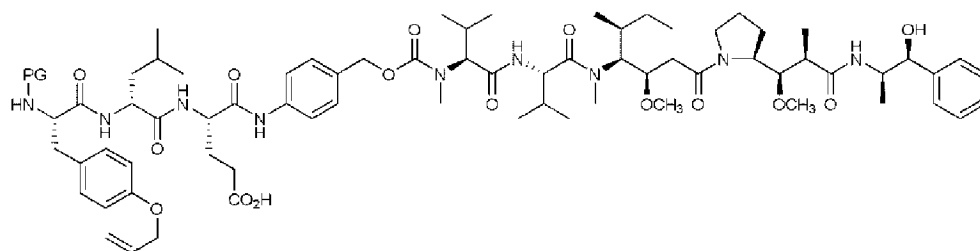
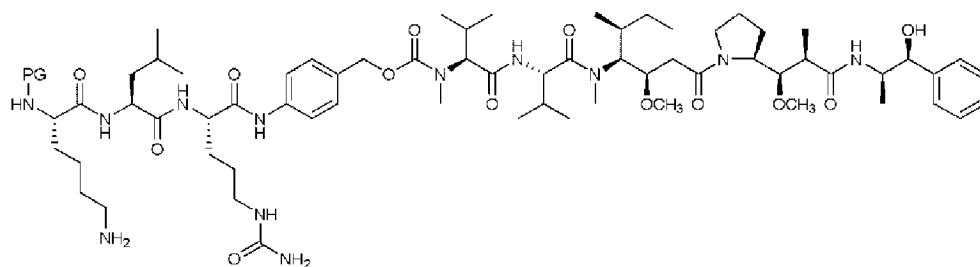
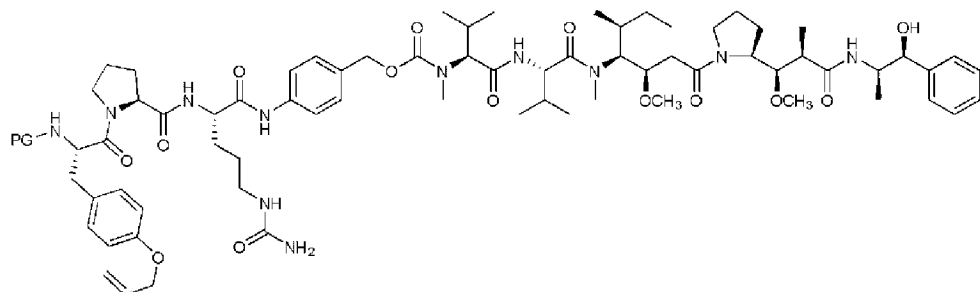
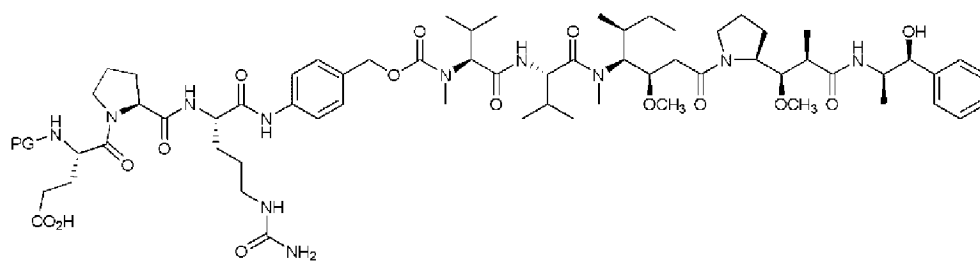
затем можно осуществить взаимодействие Предшественника Лекарственное средство-Линкер с Удлиняющим Компонентом, подходящим для присоединения к лизиновому остатку антитела. Подходящие Удлиняющие Компоненты для присоединения к лизиновому остатку антитела описаны в настоящей заявке, в том числе Удлиняющие Компоненты, включающие NHS сложноэфирную группу. В некоторых вариантах осуществления Предшественник Лекарственное средство-Линкер представляет собой промежуточное соединение в синтезе соединений Лекарственное средство-Линкер.

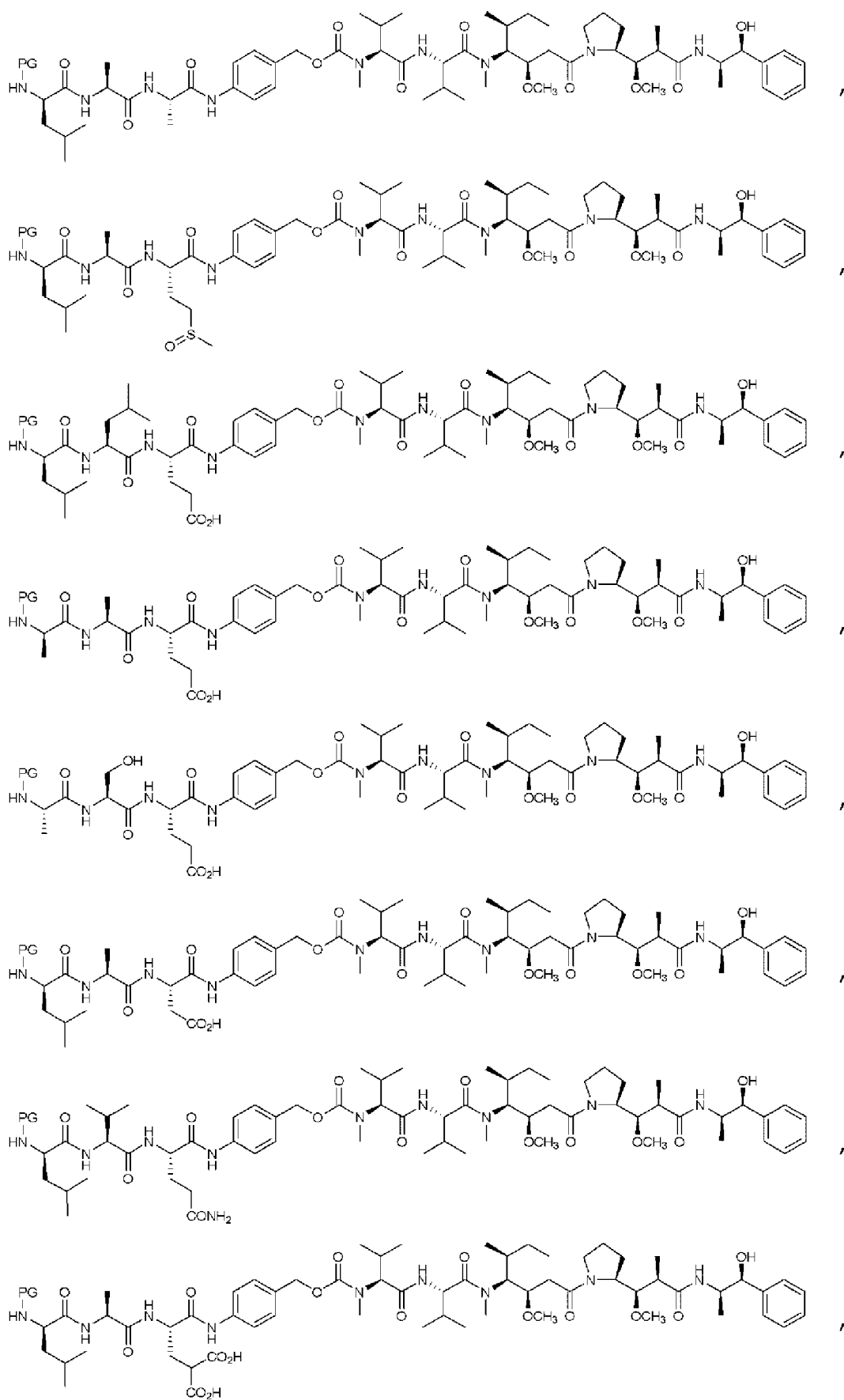
[0549] В любом из вариантов осуществления, описанных в настоящей заявке для W, P-1, P1, P2, P3...P_n, Y, нижнего индекса y, R⁸, R⁹, R³³, V, Y', Z¹, Z² и D в отношении, например, соединений Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство (LDC), соединений Лекарственное средство-Линкер, фрагментов лекарственное средство-линкер, Пептидных Расщепляемых Компонентов, Спейсерных Компонентов и Лекарственных Компонентов, эти варианты осуществления также применимы для соединений-предшественников Лекарственное средство-Линкер, описанных в настоящей заявке.

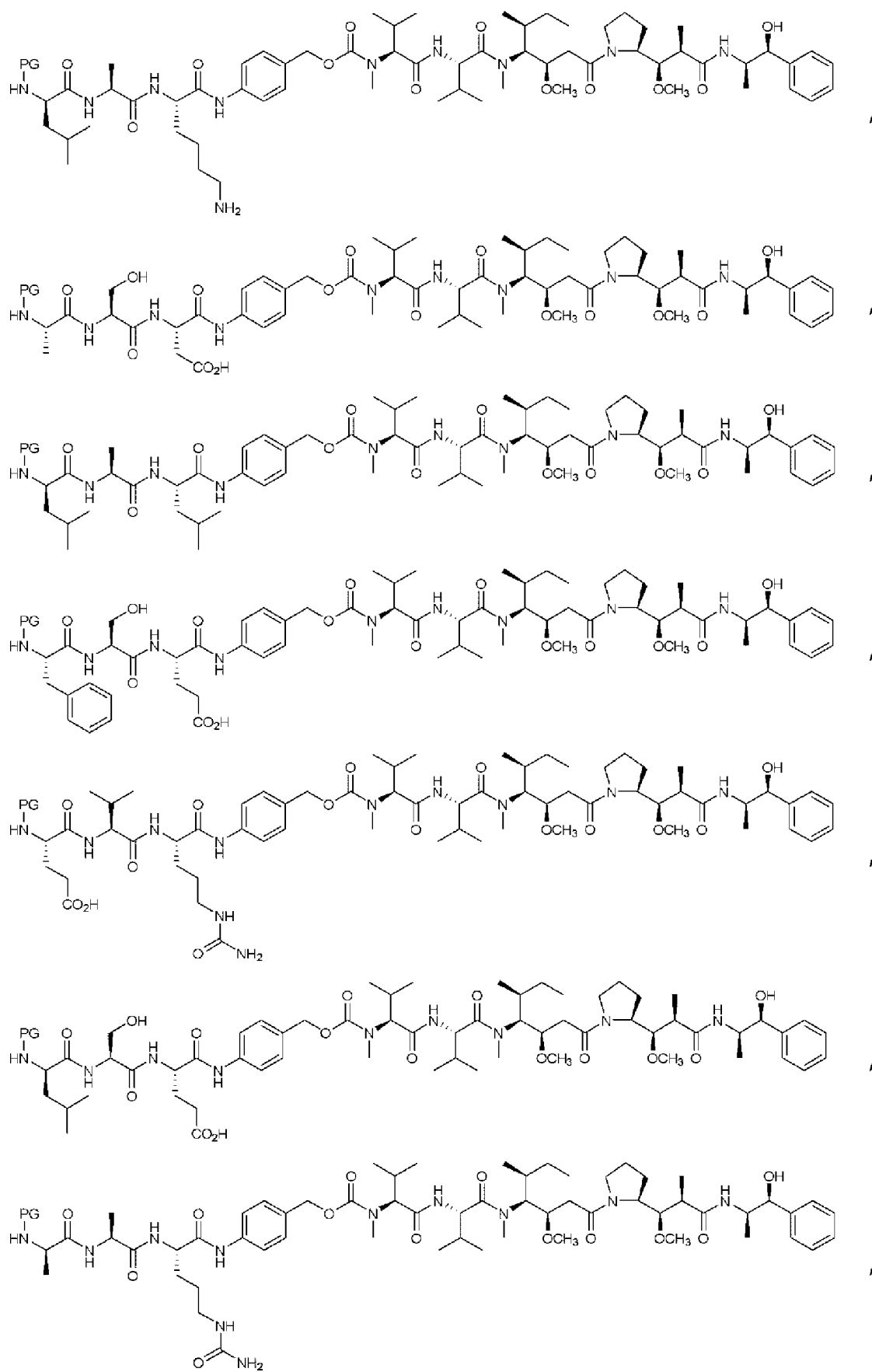
[0550] В некоторых вариантах осуществления соединение-предшественник Лекарственное средство-Линкер представлено ниже:

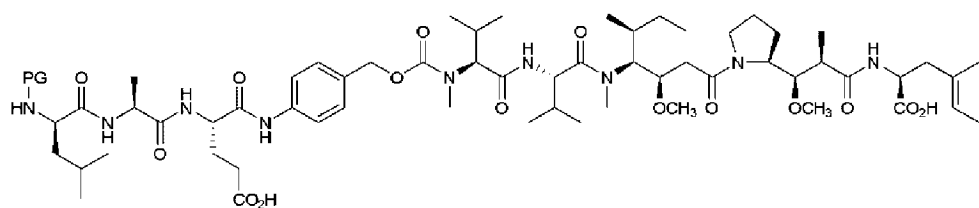
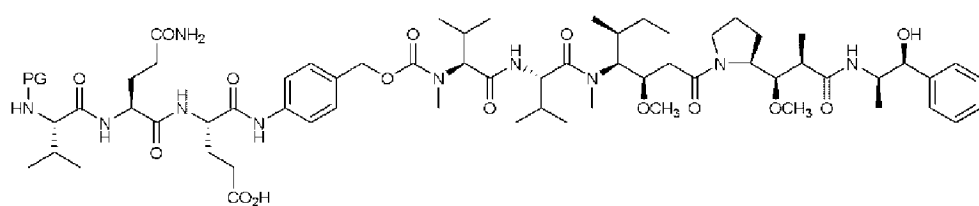
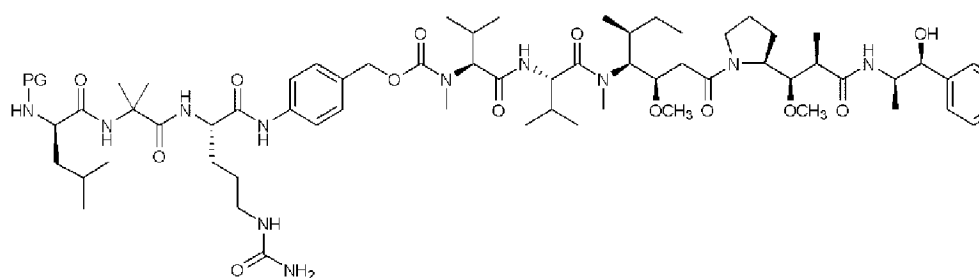
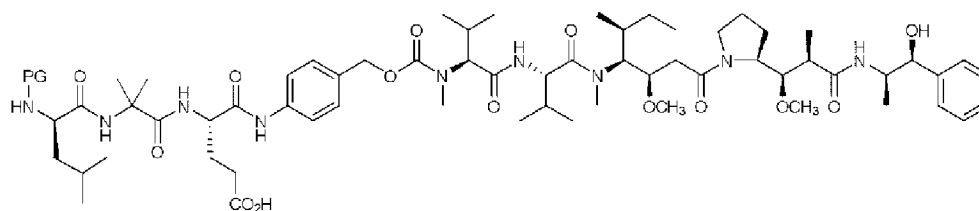
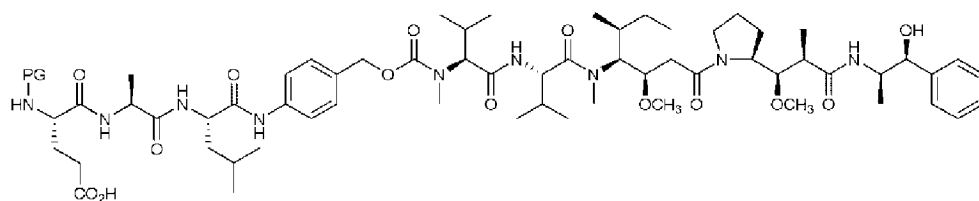
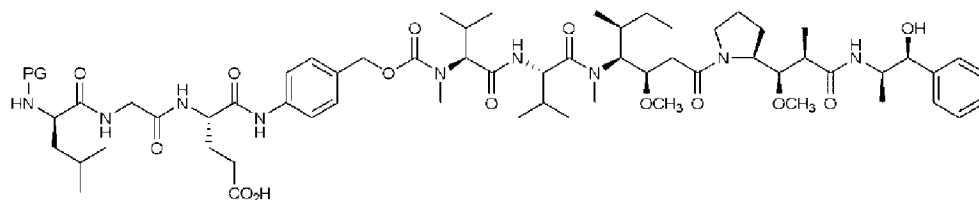
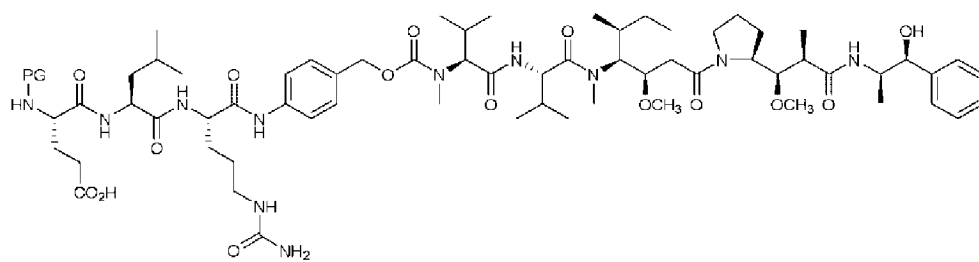


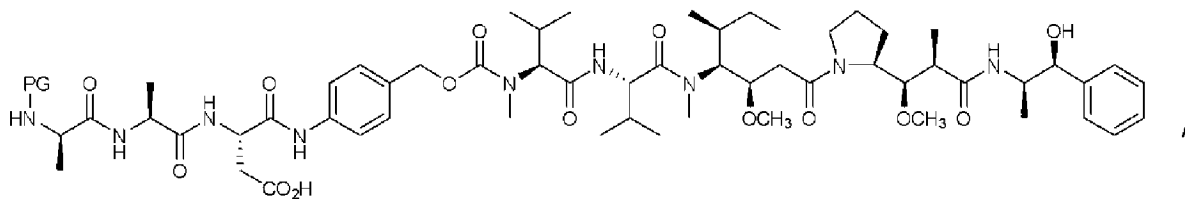








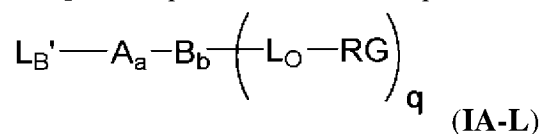




или его соль, где PG представляет собой амин-защитную группу (например, Fmoc) или водород.

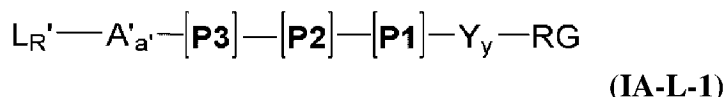
[0552] **2.4 Линкерные Соединения**

[0553] Линкерное соединение представлено структурой формулы **IA-L**:



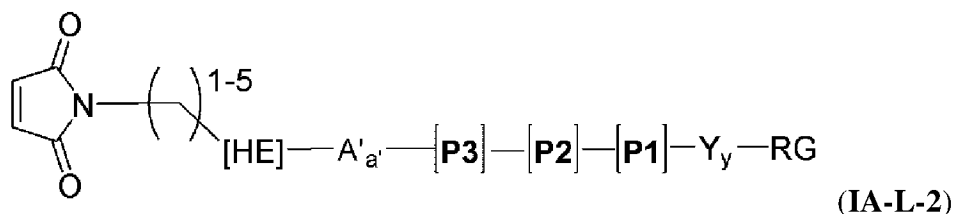
[0554] или соль вышеуказанного соединения, где $L_{B'}$, A, нижний индекс a, B, нижний индекс b, L_O и нижний индекс q сохраняют их прежнее значение, и RG представляет собой реакционноспособную группу. В некоторых вариантах осуществления реакционноспособная группа представляет собой 4-нитрофенокси или перфторфенокси. В некоторых вариантах осуществления реакционноспособная группа представляет собой 4-нитрофенокси.

[0555] В некоторых вариантах осуществления Линкерное соединение представлено структурой формулы **IA-L-1**:



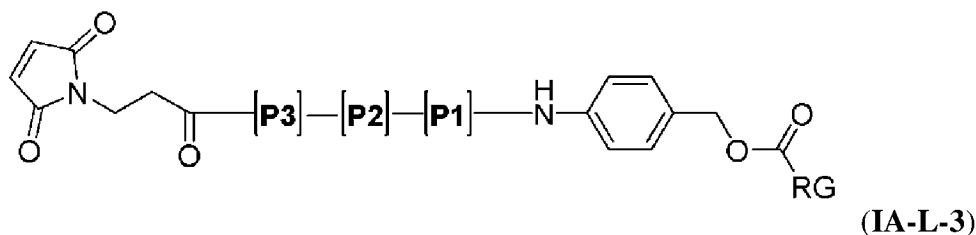
[0556] или соль вышеуказанного соединения, где $L_{R'}$, A' , нижний индекс a' , P1, P2, P3, Y и нижний индекс y сохраняют их прежнее значение, и RG представляет собой реакционноспособную группу.

[0557] В некоторых вариантах осуществления Линкерное соединение представлено структурой формулы **IA-L-2**:

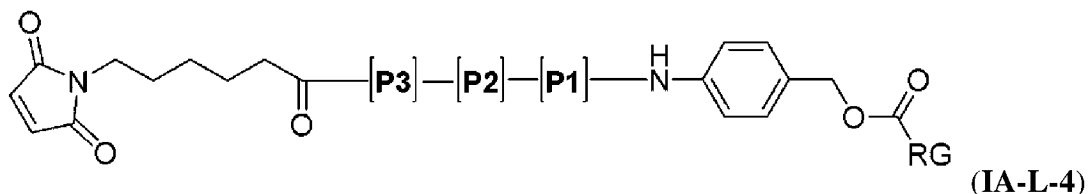


[0558] или соль вышеуказанного соединения, где HE, A' , нижний индекс a' , P1, P2, P3, Y и нижний индекс y сохраняют их прежнее значение, и RG представляет собой реакционноспособную группу.

[0559] В некоторых вариантах осуществления Линкерное соединение представлено структурами формулы IA-L-3 или формулы IA-L-4:



или

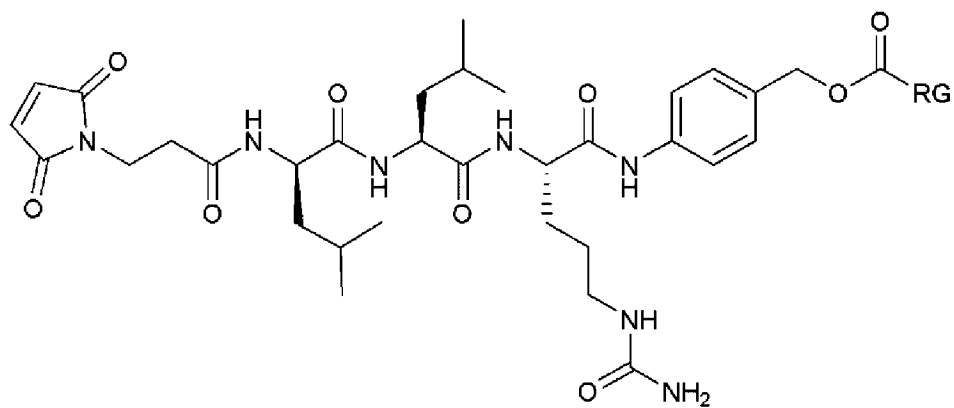
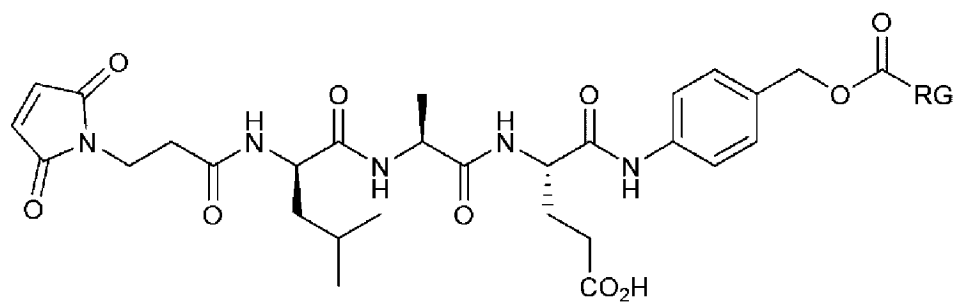
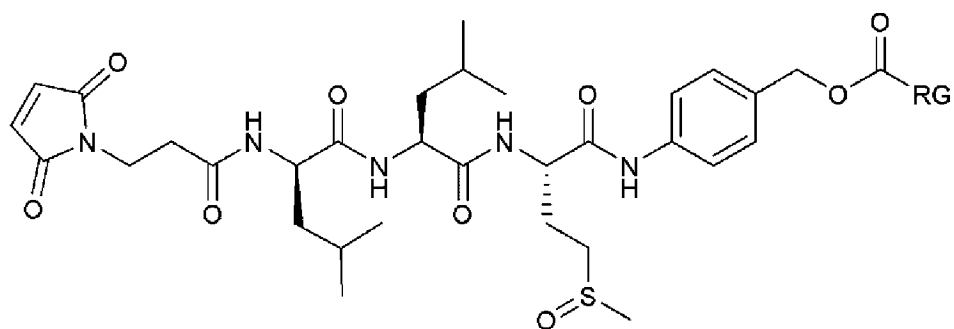
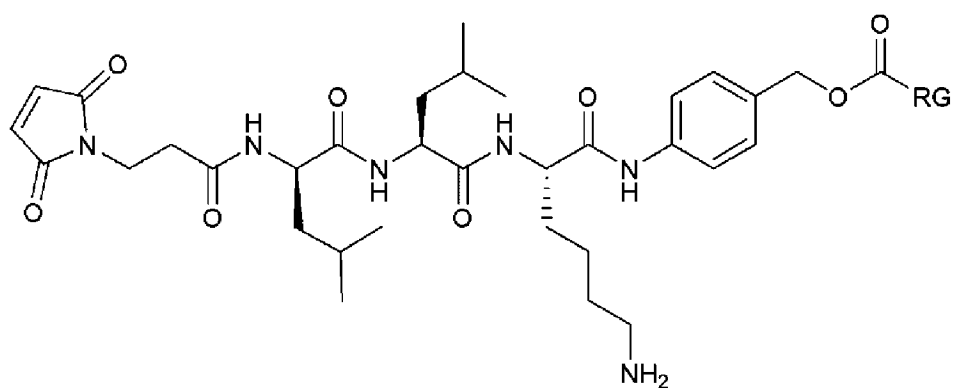
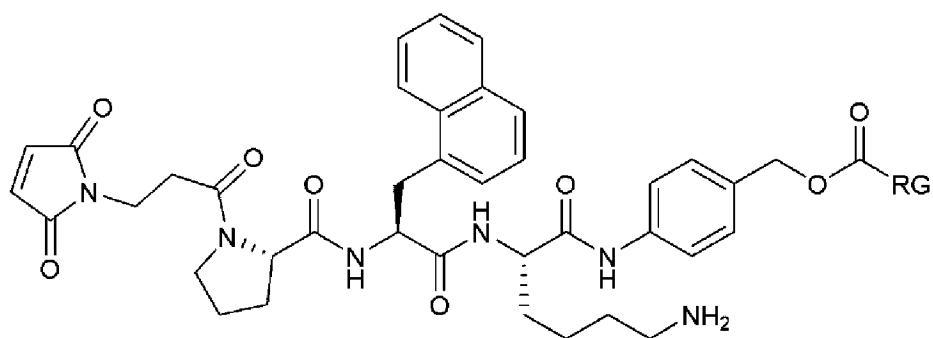


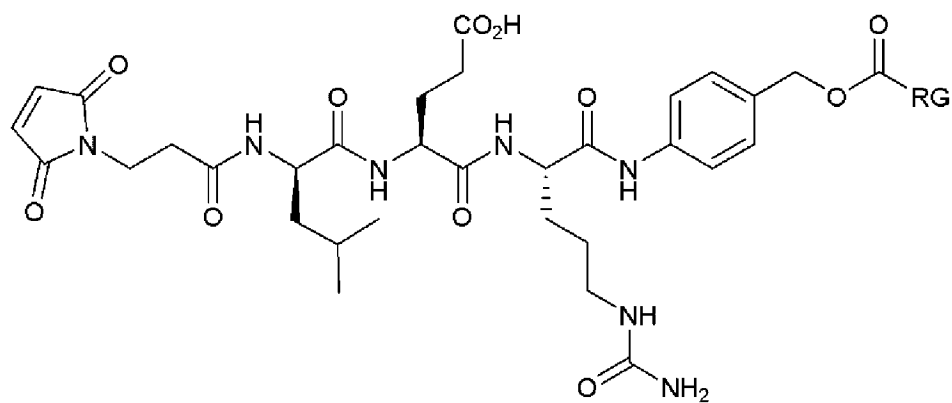
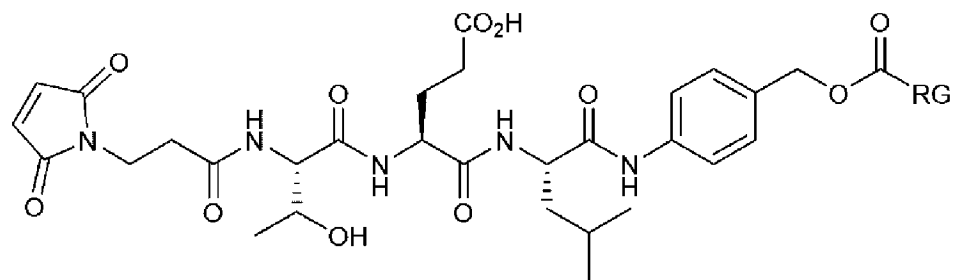
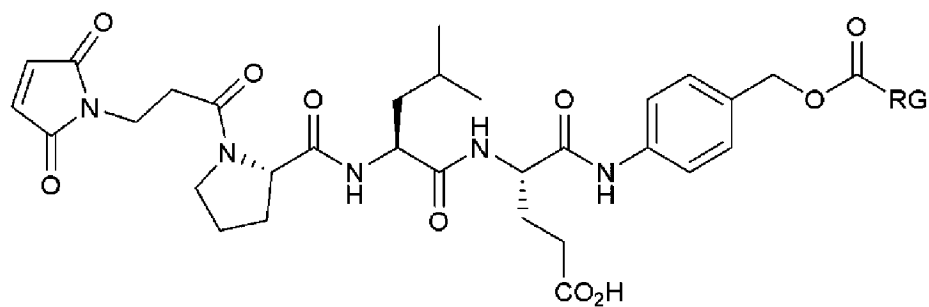
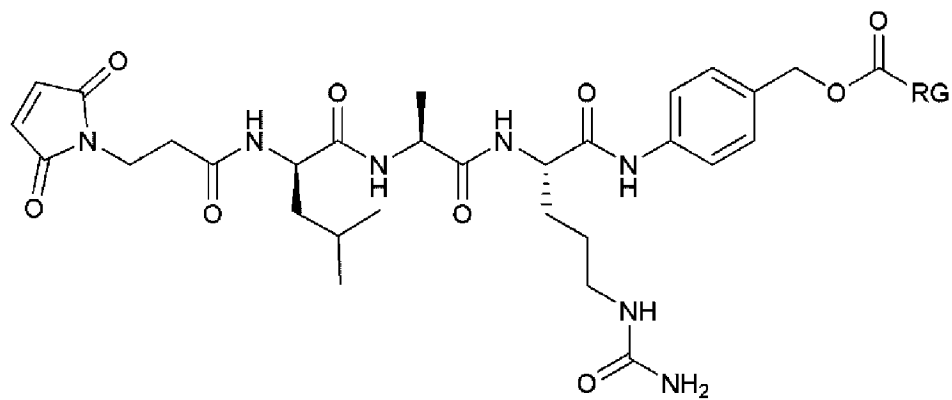
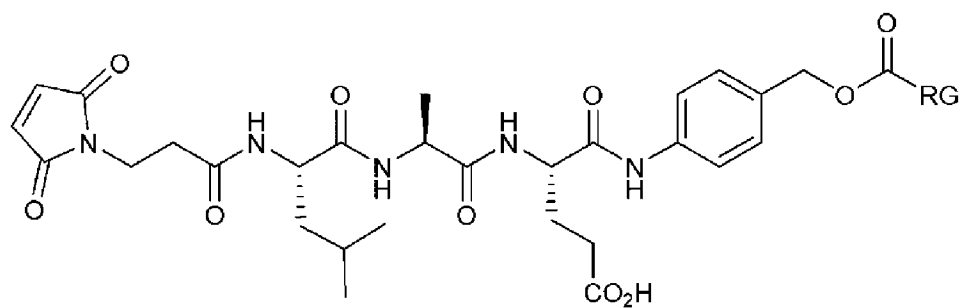
[0560] или соль вышеуказанного соединения, где P1, P2 и P3 сохраняют их прежнее значение, и RG представляет собой реакционноспособную группу. В некоторых вариантах осуществления RG представляет собой перфторфенокси. В некоторых вариантах осуществления RG представляет собой 4-нитрофенокси.

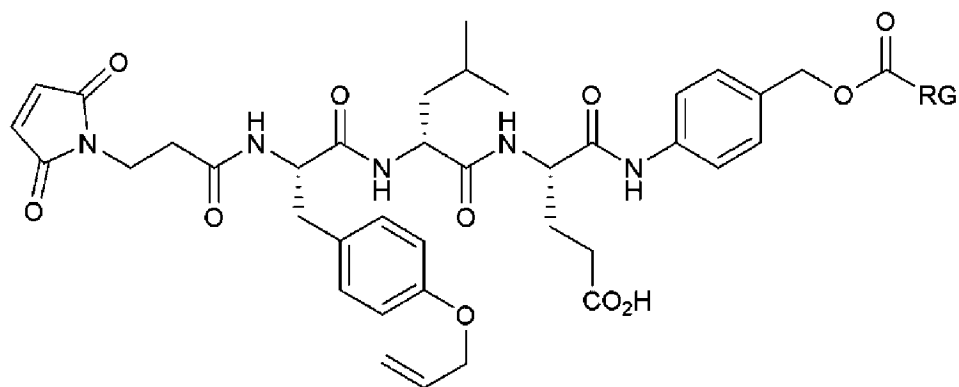
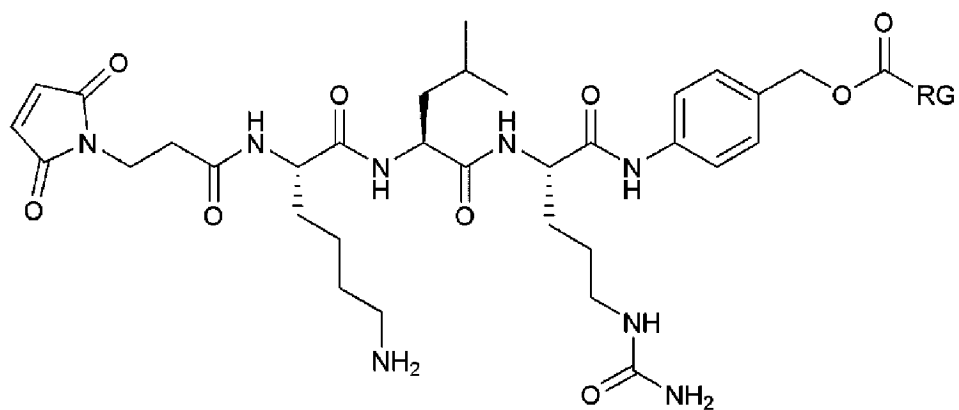
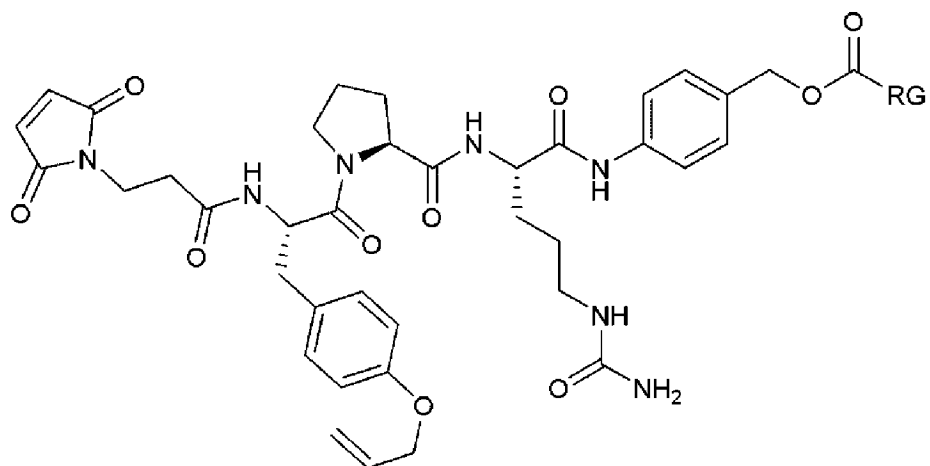
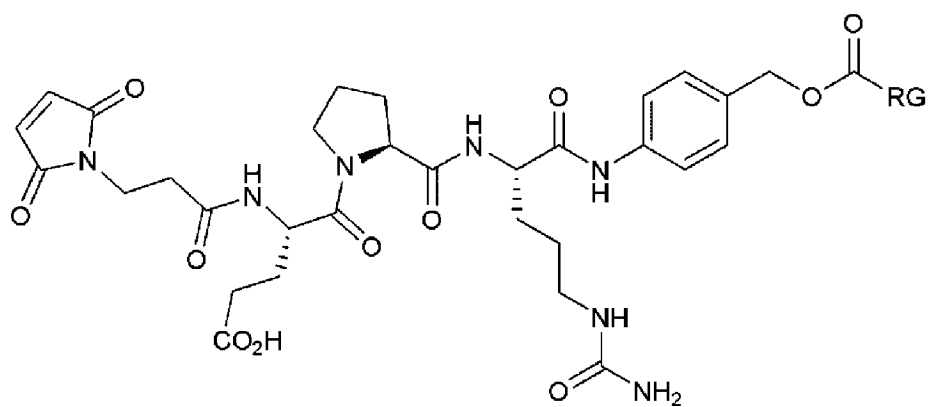
[0561] В любом из вариантов осуществления, описанных в настоящей заявке для L_B', A, нижнего индекса a, B, нижнего индекса b, L_O, нижнего индекса q, L_R', A', нижнего индекса a', P1, P2, P3, Y, нижнего индекса y и HE в отношении соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство (LDC), первичных линкеров, вторичных линкеров, соединений Лекарственное средство-Линкер, фрагментов лекарственное средство-линкер, Пептидных Расщепляемых Компонентов, Удлиняющих Компонентов и Спейсерных Компонентов, эти варианты осуществления также применимы к Линкерным соединениям, описанным в настоящей заявке, таким как соединения формулы IA-L, формулы IA-L-1, формулы IA-L-2, формулы IA-L-3 или формулы IA-L-4.

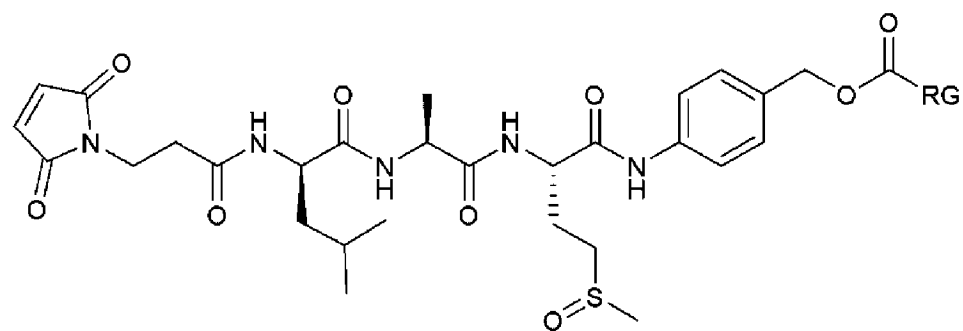
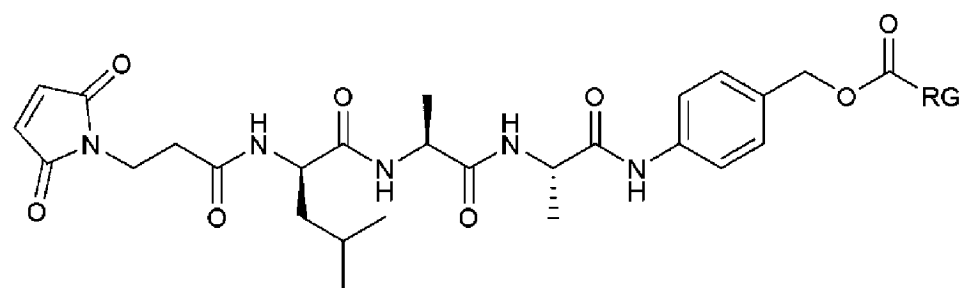
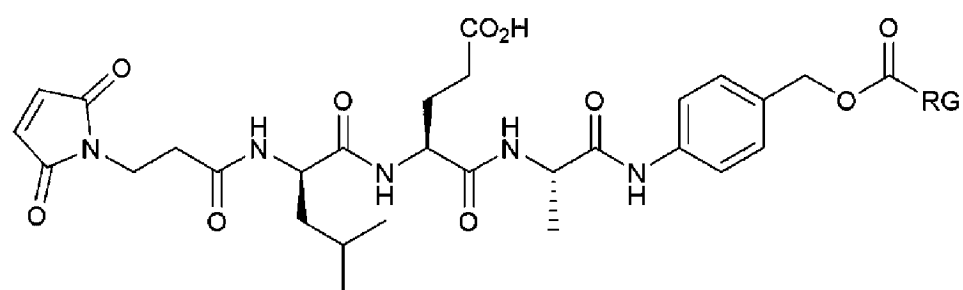
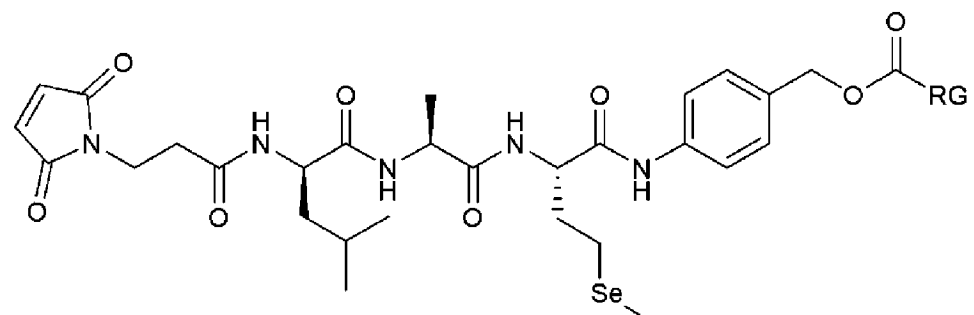
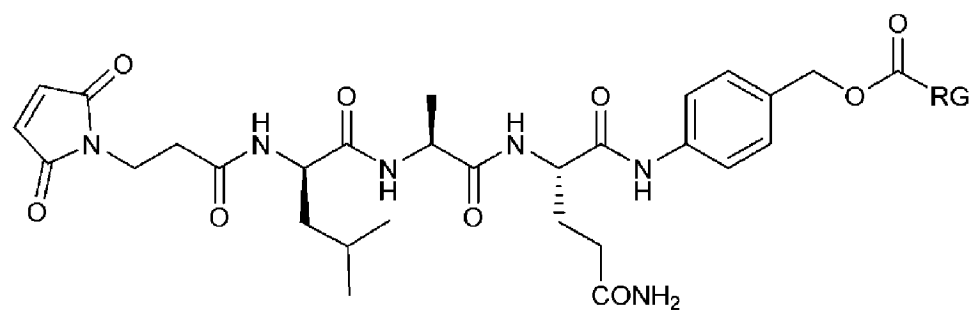
[0562] В любом из соединений Лекарственное средство-Линкер, описанных в настоящей заявке, Лекарственный Компонент (D) может быть замещен подходящей реакционноспособной группой (т.е. группой, подходящей для присоединения к Лекарственному Компоненту (D)) с образованием Линкерного соединения, например структуры, представленной формулой IA-L, формулой IA-L-1, формулой IA-L-2, формулой IA-L-3 или формулой IA-L-4. Реакционноспособная группа представляет собой группу, подходящую для взаимодействия линкерного соединения с ауристатиновым лекарственным соединением, описанным в настоящей заявке (таким как MMAE или MMAF), с образованием соединения Лекарственное средство-Линкер.

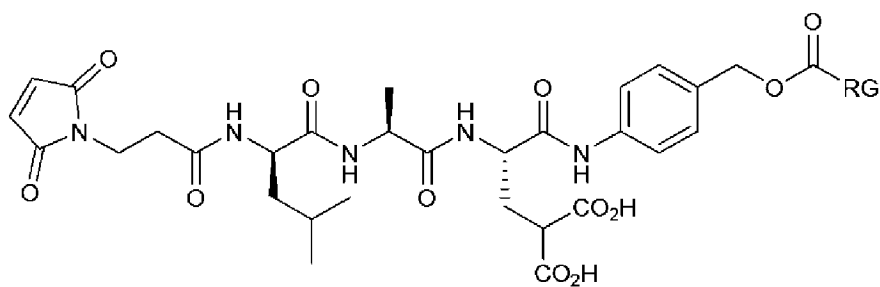
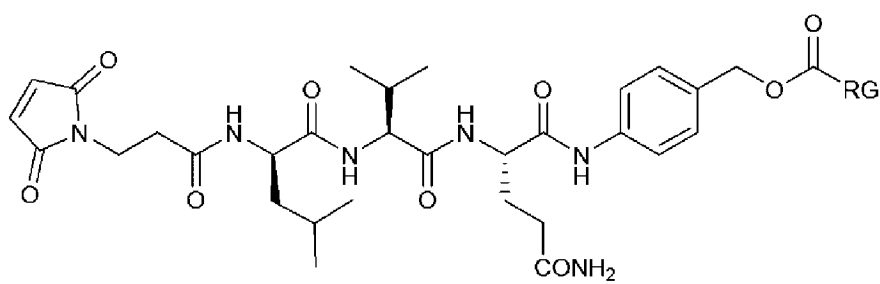
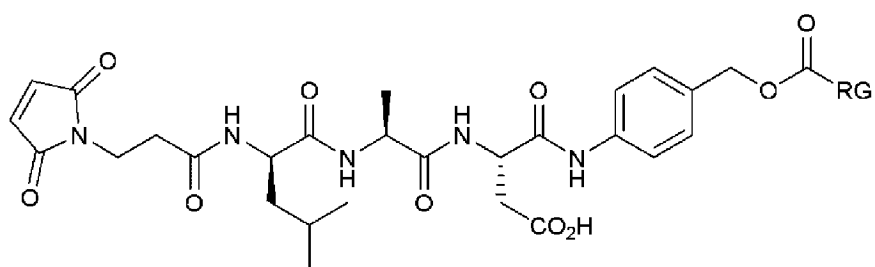
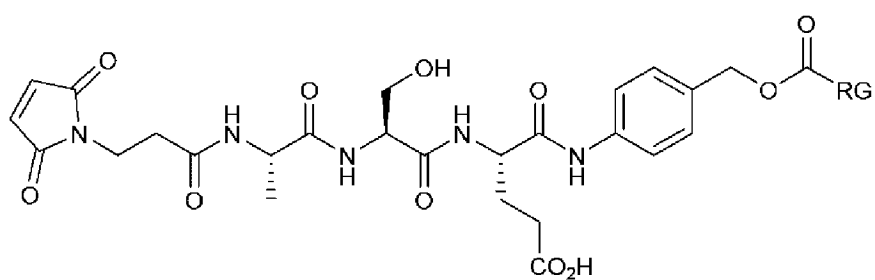
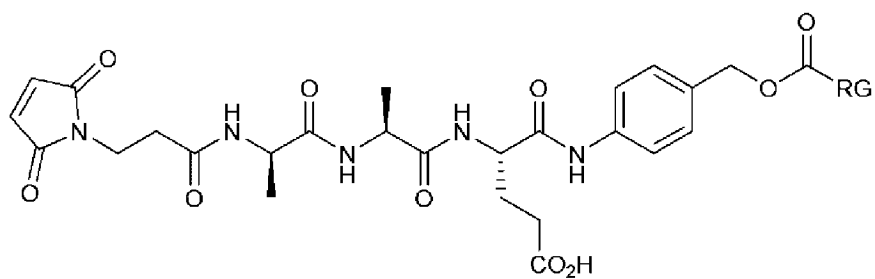
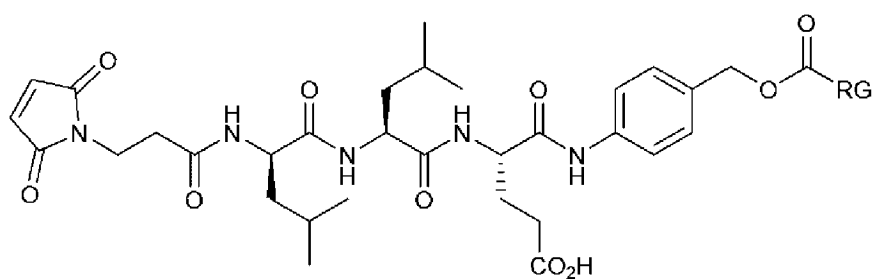
[0563] В некоторых вариантах осуществления Линкерное соединение представлено структурой:

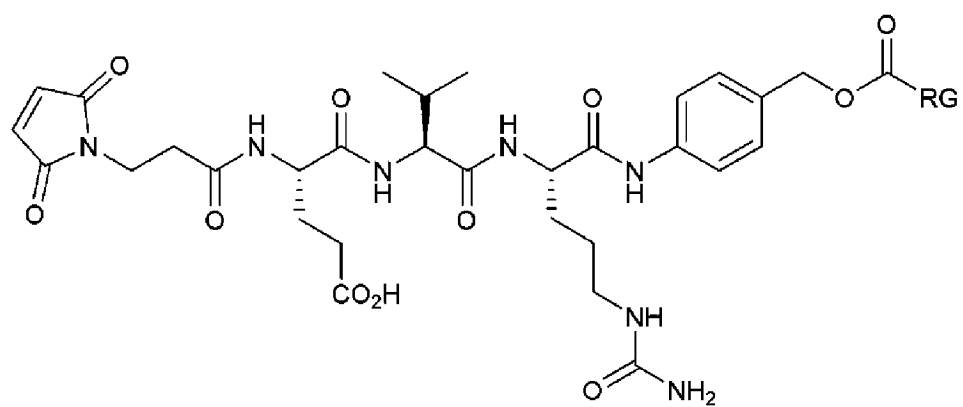
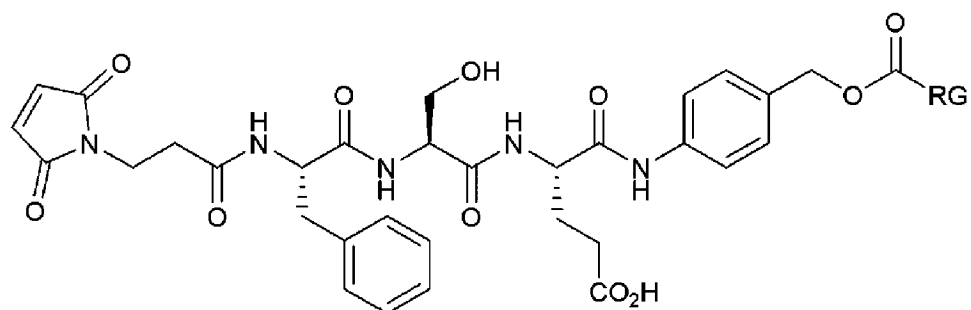
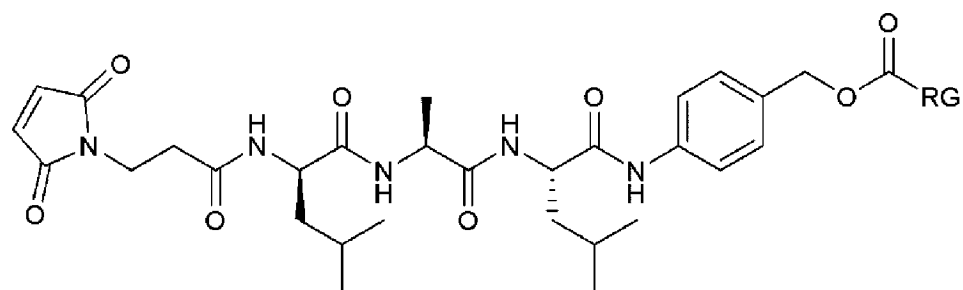
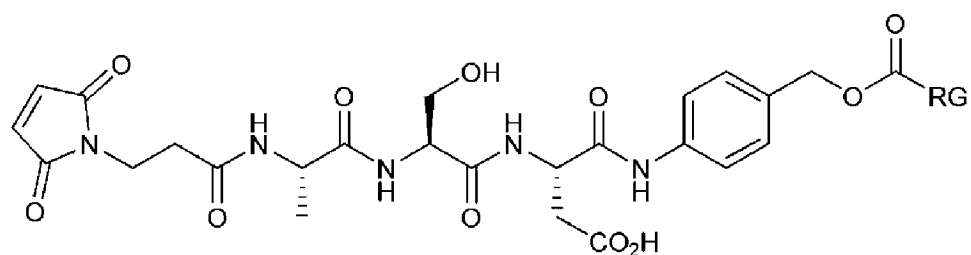
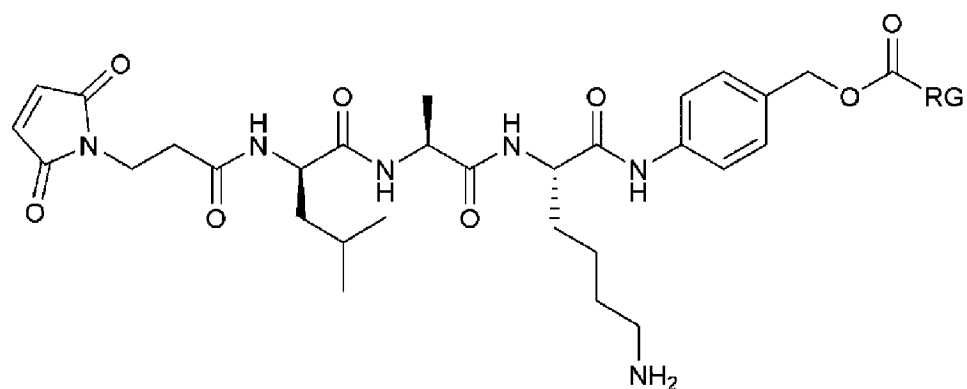


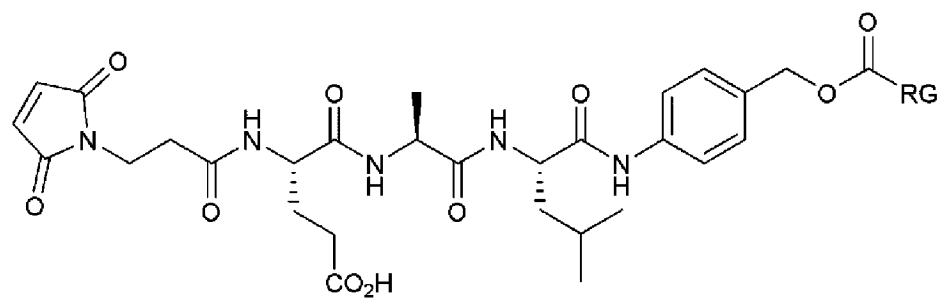
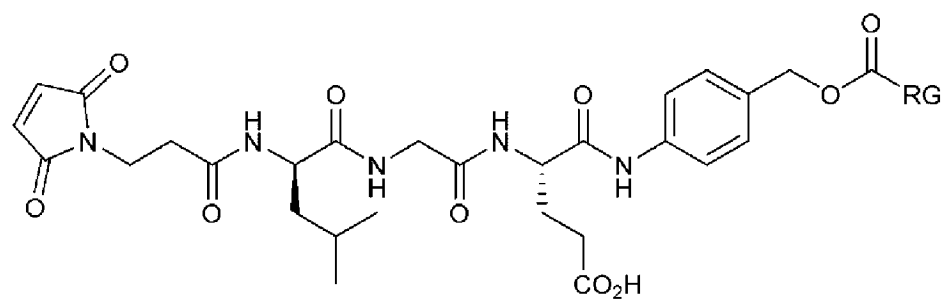
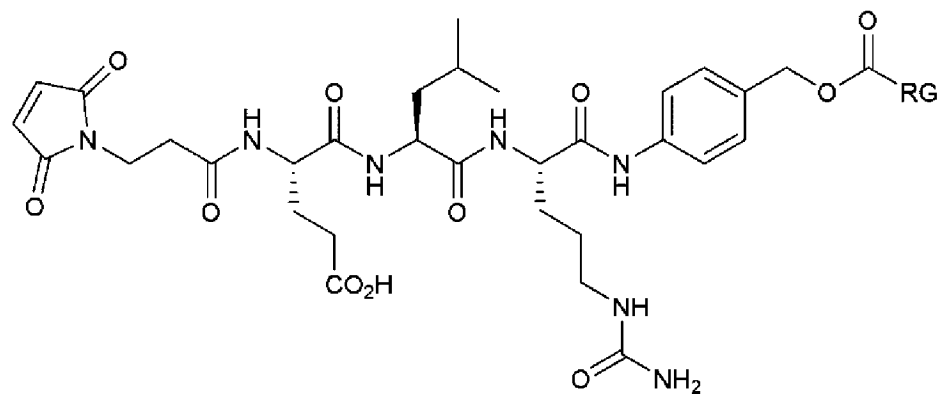
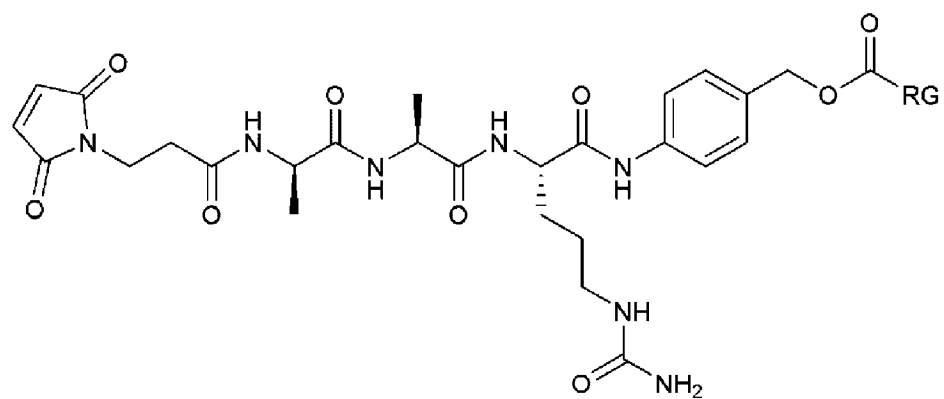
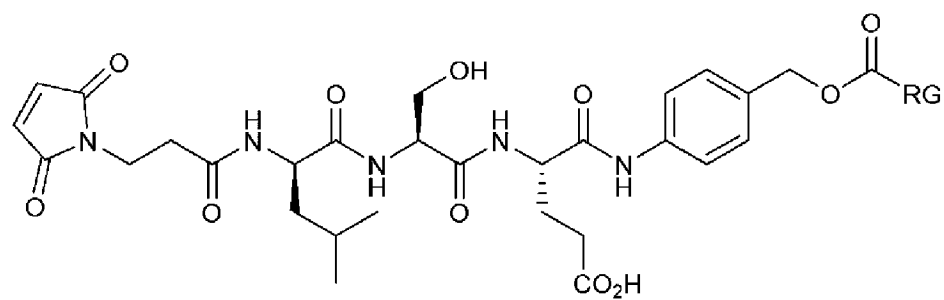


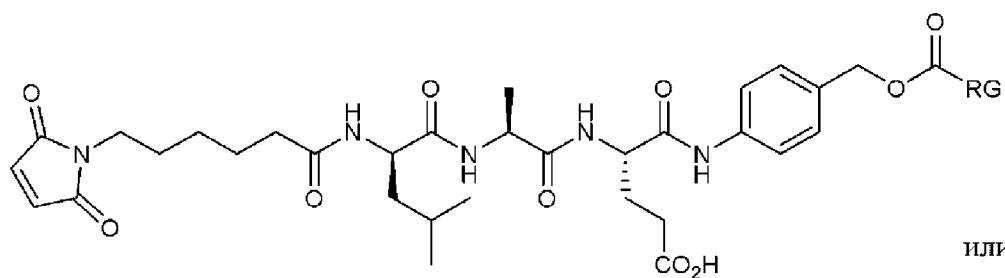
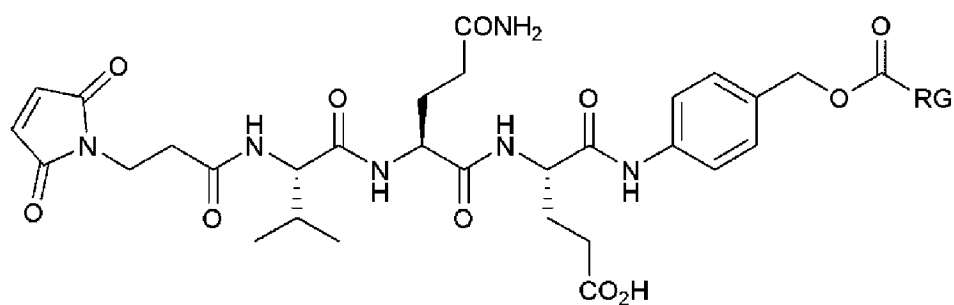
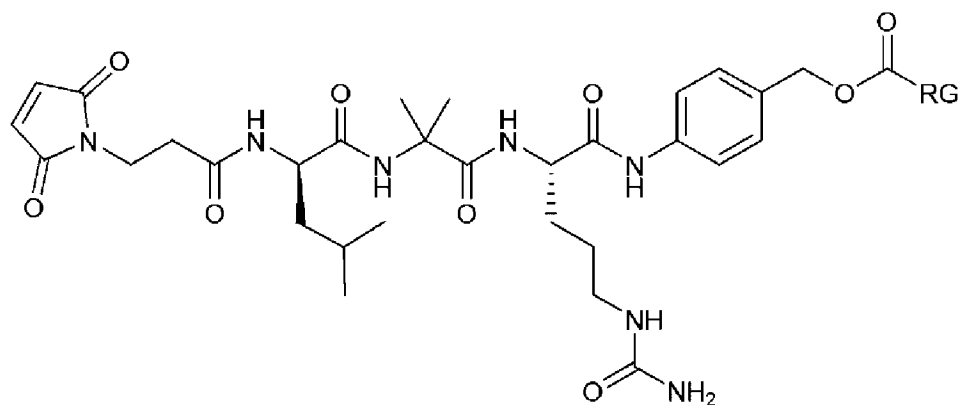
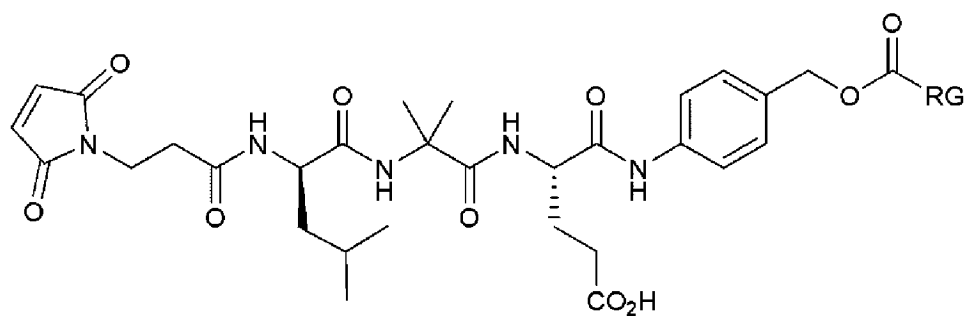




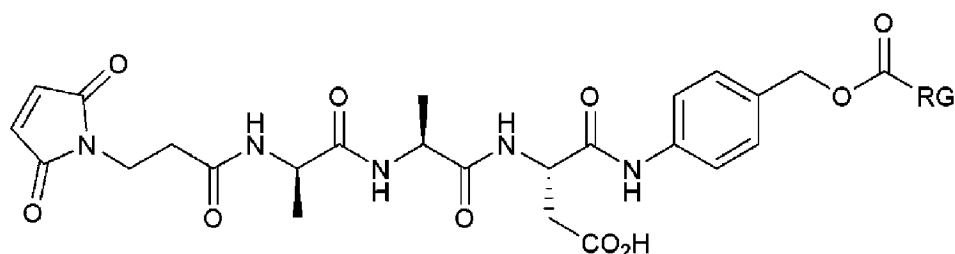








или



[0564] или соль вышеуказанного соединения, где RG представляет собой реакционноспособную группу.

[0565] 3. Фармацевтическая композиция

[0565] Настоящее изобретение обеспечивает фармацевтические композиции,

включающие композицию LDC, которая представляет собой совокупность соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, описанных в настоящей заявке, и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент, такой как фармацевтически приемлемый носитель. Фармацевтические композиции представлены в любой форме, которая позволяет вводить композицию LDC пациенту для лечения расстройства, связанного с экспрессией целевой молекулы, с которой связывается Лигандный Компонент LDC. Например, фармацевтические композиции могут быть в форме жидкости или лиофилизированного твердого вещества. Предпочтительным путем введения является парентеральный. Парентеральное введение включает подкожные инъекции, внутривенные, внутримышечные и интратеральные инъекции или инфузии. В предпочтительных вариантах осуществления фармацевтическую композицию, включающую композицию LDC, вводят внутривенно в виде жидкого раствора.

[0566] Фармацевтические композиции сформулированы таким образом, чтобы соединение-конъюгат Лиганд-Лекарственное средство было биодоступным при введении композиции конъюгата Лиганд-Лекарственное средство пациенту, нуждающемуся в этом. Такие фармацевтические композиции могут иметь форму одной или нескольких дозированных единиц, где, например, лиофилизированное твердое вещество может обеспечить разовую дозированную единицу при восстановлении в виде раствора или суспензии при добавлении подходящего жидкого носителя.

[0567] Вещества, используемые при получении фармацевтических композиций, предпочтительно нетоксичны в используемых количествах. Для специалистов в данной области будет очевидно, что оптимальная дозировка активного ингредиента(ингредиентов) в фармацевтической композиции будет зависеть от множества факторов. Соответствующие факторы включают, без ограничения, тип животного (например, человек), конкретную форму фармацевтической композиции, способ введения и используемую композицию LDC.

[0568] Фармацевтическая композиция в некоторых вариантах осуществления представлена в форме жидкости. Жидкость полезна для доставки путем инъекции. В фармацевтическую композицию для введения путем инъекции включают одно или несколько из поверхностно-активного вещества, консерванта, смачивающего агента, диспергирующего агента, суспендирующего агента, буфера, стабилизатора и изотонического агента.

[0569] Жидкие композиции, будь то растворы, суспензии или другая подобная форма, включают один или несколько фармацевтически приемлемых эксципиентов, выбранных из группы, состоящей из: стерильных разбавителей, таких как вода для инъекций, солевой раствор, предпочтительно физиологический раствор, раствор Рингера, изотонический хлорид натрия, нелетучие масла, такие как синтетические моно- или диглицериды, которые в некоторых вариантах осуществления также служат в качестве растворителя или суспендирующей среды, полиэтиленгликоли, глицерин, циклодекстрин, пропиленгликоль или другие растворители; антибактериальных средств, таких как

бензиловый спирт или метилпарабен; антиоксидантов, таких как аскорбиновая кислота или бисульфит натрия; хелатирующих агентов, таких как этилендиаминтетрауксусная кислота; буферов, таких как аминокислоты, ацетаты, цитраты или фосфаты; детергентов, таких как неионогенные поверхностно-активные вещества, полиолы; и агентов для регулирования тоничности, таких как хлорид натрия или декстроза. В предпочтительных вариантах осуществления парентеральная композиция заключена в ампулу, одноразовый шприц или многодозовый флакон из стекла, пластика или другого материала. Физиологический раствор является иллюстративным адъювантом. Инъецируемая фармацевтическая композиция предпочтительно является стерильной.

[0570] Количество Конъюгата, эффективное для лечения конкретного расстройства или состояния, будет зависеть от характера расстройства или состояния и может быть определено стандартными клиническими методами. Кроме того, необязательно можно использовать анализы *in vitro* или *in vivo*, чтобы помочь определить оптимальные диапазоны доз. Точная доза, которую следует использовать в композициях, также будет зависеть от пути введения и серьезности заболевания или расстройства и должна определяться в соответствии с мнением практикующего врача и обстоятельствами каждого пациента.

[0571] Фармацевтическая композиция включает эффективное количество композиции LDC, такое, чтобы получить подходящую дозу для введения субъекту, нуждающемуся в этом. Как правило, это количество составляет по меньшей мере около 0,01% по массе фармацевтической композиции.

[0572] Фармацевтическая композиция для внутривенного введения включает от около 0,01 до около 100 мг композиции LDC на кг массы тела животного. В предпочтительном варианте осуществления фармацевтическая композиция включает от около 1 до около 100 мг композиции LDC на кг массы тела животного. В более предпочтительных вариантах осуществления вводимое количество будет находиться в диапазоне от около 0,1 до около 25 мг композиции LDC/кг массы тела.

[0573] Как правило, доза композиции LDC, вводимая пациенту, обычно составляет от около 0,01 мг/кг до около 100 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет от около 0,01 мг/кг до около 15 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет от около 0,1 мг/кг и до около 15 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет от около 0,1 мг/кг до около 20 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления вводимая доза составляет от около 0,1 мг/кг до около 5 мг/кг или от около 0,1 мг/кг до около 10 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления вводимая доза составляет от около 1 мг/кг до около 15 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления вводимая доза составляет от около 1 мг/кг до около 10 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления вводимая доза составляет от около 0,1 до 4 мг/кг, предпочтительно 0,1-3,2 мг/кг или более предпочтительно 0,1-2,7 мг/кг массы

тела субъекта в течение цикла лечения.

[0574] LDC вводят любым удобным путем, например, инфузией или болюсной инъекцией, путем абсорбции через эпителиальные или кожно-слизистые оболочки (например, слизистую оболочку полости рта, слизистую оболочку прямой кишки и кишечника). Введение является системным или местным. Известны различные системы доставки, например, инкапсуляция в липосомы, микрочастицы, микрокапсулы, капсулы, и их можно использовать для введения соединения. В определенных вариантах осуществления пациенту вводят более одной фармацевтической композиции.

[0575] В одном варианте осуществления композицию Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство формулируют в соответствии с обычными процедурами в виде фармацевтической композиции, адаптированной для внутривенного введения животным, в частности человеку. Как правило, носители или растворители для внутривенного введения представляют собой стерильные изотонические водные буферные растворы. При необходимости композиции также включают солюбилизующий агент. Фармацевтические композиции для внутривенного введения необязательно включают местный анестетик, такой как лигнокаин, для облегчения боли в месте инъекции. Как правило, ингредиенты поставляются либо по отдельности, либо смешиваются друг с другом в стандартной лекарственной форме, например, в виде сухого лиофилизированного порошка или безводного концентрата в герметически закрытом контейнере, таком как ампула или саше, с указанием количества активного агента. Если фармацевтическую композицию, включающую композицию Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, следует вводить путем инфузии, ее предпочтительно распределяют в бутылке для инфузии, содержащей стерильную воду фармацевтического качества или физиологический раствор. Если фармацевтическую композицию, включающую композицию Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, вводят путем инъекции, может быть обеспечена ампула со стерильной водой для инъекций или физиологическим раствором, чтобы можно было смешать ингредиенты перед введением.

[0576] Фармацевтические композиции, как правило, формулируют стерильными, по существу изотоническими и в полном соответствии всем правилам надлежащей производственной практики (GMP) Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США.

[0577] Фармацевтические композиции по настоящему изобретению включают композиции LDC по настоящему изобретению и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент, такой как фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления, все, или по существу все, или более 50% соединений LDC композиции LDC в фармацевтической композиции включают гидролизированный тио-замещенный сукцинимид. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления более 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, присутствующих в фармацевтической композиции, включают гидролизированный тио-

замещенный сукцинимид.

[0578] 4. Лечение гиперпролиферативных состояний

[0579] Конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство полезны для ингибирования размножения опухолевых клеток или раковых клеток или вызывают апоптоз в опухолевых или раковых клетках. Конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство также полезны в различных условиях для лечения рака. Соответственно, Конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство используют для доставки лекарственного средства к опухолевой или раковой клетке. Не желая ограничиваться теорией, в одном варианте осуществления Лигандный Компонент соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство связывается или вступает в ассоциацию с антигеном или рецептором, ассоциированным с раковой клеткой или опухолевой клеткой на клеточной поверхности, и при связывании соединение-конъюгат Лиганд-Лекарственное средство поглощается (интернализуется) внутри опухолевой клетки или раковой клетки посредством антиген- или рецептор-опосредованного эндоцитоза или другого механизма интернализации. В другом варианте осуществления антиген представляет собой белок внеклеточного матрикса, связанный с опухолевой клеткой или раковой клеткой. Оказавшись внутри клетки через механизм ферментативного протеолиза свободное лекарственное средство высвобождается внутри клетки. В альтернативном варианте осуществления Лекарственный Компонент отщепляется от соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство в непосредственной близости от опухолевой клетки или раковой клетки, и высвобождаемое в результате свободное лекарственное средство впоследствии проникает в клетку.

[0580] Соединения-конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство обеспечивают улучшенное нацеливание специфичного для конъюгации лекарственного средства на опухоль или рак, тем самым снижая общую токсичность лекарственного средства. Это улучшение обусловлено большей селективностью в отношении расщепления Линкерного Компонента соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство на основе трипептида в опухоли для осуществления внутриклеточной или внеклеточной доставки свободного лекарственного средства к раковым клеткам опухоли по сравнению с расщеплением в нормальных тканях, обычно связанным с нежелательным явлением при введении сравнительного Конъюгата, содержащего Линкерные Компоненты на основе дипептида, и/или обусловлено повышением биодоступности соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство для опухолевой ткани, что снижает биодоступность для нормальной ткани.

[0581] В некоторых вариантах осуществления Линкерные Компоненты на пептидной основе также стабилизируют соединения-конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство к ферментативному действию внеклеточных протеаз в крови, при этом они способны высвобождать лекарственное средство внутри клетки.

[0582] В одном варианте осуществления Лигандный Компонент связывается с опухолевой клеткой или раковой клеткой.

[0583] В другом варианте осуществления Лигандный Компонент связывается с

опухолевой клеткой или антигеном раковой клетки, который находится на поверхности опухолевой клетки или раковой клетки.

[0584] В другом варианте осуществления Лигандный Компонент связывается с опухолевой клеткой или антигеном раковой клетки, который представляет собой белок внеклеточного матрикса, связанный с опухолевой клеткой или раковой клеткой.

[0585] Специфичность Лигандного Компонента для конкретной опухолевой клетки или раковой клетки является важным фактором для определения тех опухолей или раковых заболеваний, которые наиболее эффективно лечатся. Например, конъюгат Лиганд-Лекарственное средство, содержащий Лигандный Компонент BR96, может быть полезен для лечения антиген-положительных карцином, в том числе карцином легкого, молочной железы, толстой кишки, яичников и поджелудочной железы. Конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство, содержащие анти-CD30 или анти-CD70 связывающий Лигандный Компонент, могут быть полезны для лечения гематологических злокачественных новообразований.

[0586] Другие конкретные типы рака, которые можно лечить при помощи конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, включают, но не ограничиваются этим, следующие солидные опухоли, раковые заболевания квоетворной системы, острые и хронические лейкозы и лимфомы.

[0587] Солидные опухоли включают, но не ограничиваются этим, фибросаркому, миксосаркому, липосаркому, хондросаркому, остеогенная саркому, хордому, ангиосаркому, эндотелиосаркому, лимфангиосаркому, лимфангиоэндотелиосаркому, синовиому, мезотелиому, опухоль Юинга, лейомиосаркому, рабдомиосаркому, рак толстой кишки, колоректальный рак, рак почки, рак поджелудочной железы, рак кости, рак молочной железы, рак яичников, рак предстательной железы, рак пищевода, рак желудка, рак ротовой полости, рак носа, рак горла, плоскоклеточный рак, базально-клеточный рак, аденокарциному, карциному потовых желез, карциному сальных желез, папиллярную карциному, папиллярную аденокарциному, цистаденокарциному, медуллярную карциному, бронхогенную карциному, почечно-клеточный рак, гепатому, карциному желчных протоков, хориокарциному, семиному, эмбриональную карциному, опухоль Вильмса, рак шейки матки, рак матки, тестикулярный рак, мелкоклеточную карциному легкого, карциному мочевого пузыря, рак легкого, эпителиальную карциному, глиому, мультиформную глиобластому, астроцитому, медуллобластому, краниофарингиому, эпендимому, пинеалому, гемангиобластому, акустическую неврому, олигодендроглиому, менингиому, рак кожи, меланому, нейробластому и ретинобластому.

[0588] Раковые заболевания кроветворной системы включают, но не ограничиваются этим, 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 эритролейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, острый миеломоноцитарный лейкоз, острый нелимфоцитарный лейкоз, острый недифференцированный лейкоз,

хронический миелоцитарный лейкоз “СМЛ”, хронический лимфоцитарный лейкоз “СЛЛ”, волосистоклеточный лейкоз и множественную миелому.

[0589] Острые и хронические лейкозы включают, но не ограничиваются этим, лимфобластные, миелогенные, лимфоцитарные и миелоцитарные лейкозы.

[0590] Лимфомы включают, но не ограничиваются этим, болезнь Ходжкина, неходжкинскую лимфому, множественную миелому, макроглобулинемию Вальденстрема, болезнь тяжелых цепей и истинную полицитемию.

[0591] Раковые заболевания, включая, но не ограничиваясь этим, опухоль, метастазы или другие заболевания или расстройства, характеризующиеся гиперпролиферацией клеток, поддаются лечению, или их прогрессирование ингибируется в некоторых вариантах осуществления путем введения композиции LDC.

[0592] В других вариантах осуществления представлены способы лечения рака, включая введение пациенту, нуждающемуся в этом, эффективного количества композиции LDC и химиотерапевтического средства. В одном варианте осуществления не было обнаружено, что рак, подлежащий лечению химиотерапевтическим средством в комбинации с LDC, устойчив к химиотерапевтическому средству. В другом варианте осуществления рак, подлежащий лечению химиотерапевтическим средством в комбинации с ADC, является устойчивым к химиотерапевтическому средству. Композиции LDC можно вводить пациенту, который также перенес хирургическую операцию для лечения рака.

[0593] В некоторых вариантах осуществления пациент также получает дополнительное лечение, такое как лучевая терапия. В конкретном варианте осуществления Конъюгат Лиганд-Лекарственное средство вводят одновременно с химиотерапевтическим средством или с лучевой терапией. В другом конкретном варианте осуществления химиотерапевтическое средство или лучевую терапию вводят до или после введения Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство.

[0594] Химиотерапевтическое средство часто вводят в течение серии сеансов. Любое химиотерапевтическое средство или комбинацию химиотерапевтических средств, таких как стандартное химиотерапевтическое средство(средства), можно вводить вместе с конъюгатом Лиганд-Лекарственное средство, но предпочтительно, чтобы химиотерапевтическое средство(средства) вызывало гибель клеток по механизму, отличному от механизма свободного лекарственного средства, высвобождаемого из соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство.

[0595] Кроме того, способы лечения рака Конъюгатом Лиганд-Лекарственное средство представлены в качестве альтернативы химиотерапии или лучевой терапии, когда химиотерапия или лучевая терапия оказались или могут оказаться слишком токсичными, например, приводят к неприемлемым или невыносимым побочным эффектам для подлежащего лечению субъекта. Подлежащего лечению пациента необязательно можно лечить другим видом лечения рака, таким как хирургическое вмешательство, лучевая терапия или химиотерапия, в зависимости от того, какое лечение

считается приемлемым или переносимым.

[0596] Также представлено применение соединения или композиции, подробно описанных в настоящей заявке, для получения лекарственного средства для лечения любого заболевания или состояния, описанного в настоящей заявке, такого как рак.

[0597] Также представлены соединение или композиция, подробно описанные в настоящей заявке, для применения в медицинском лечении. Далее представлены соединение или композиция, подробно описанные в настоящей заявке, для применения в лечении любого заболевания или состояния, описанного в настоящей заявке, такого как рак.

[0598] Также представлено применение соединения или композиции, подробно описанных в настоящей заявке, для медицинского лечения. Далее представлено применение соединения или композиции, подробно описанных в настоящей заявке, в лечении любого заболевания или состояния, описанного в настоящей заявке, такого как рак.

[0599] Также представлен набор, включающий соединение или композицию, подробно описанные в настоящей заявке. В некоторых вариантах осуществления набор включает инструкции по применению в соответствии с любым из представленных в настоящей заявке способов.

[0600] В другом аспекте представлен способ получения соединения или композиции, подробно описанных в настоящей заявке.

ПРОНУМЕРОВАННЫЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

Вариант осуществления 1. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, представленных формулой 1:



или соль вышеуказанного соединения, в частности фармацевтически приемлемая соль, где

L представляет собой Лигандный Компонент;

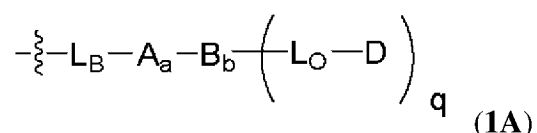
LU представляет собой Линкерный Компонент;

D' представляет собой от 1 до 4 Лекарственных Единиц (D) в каждом фрагменте лекарственное средство-линкер формулы -LU-D'; и

нижний индекс p представляет собой число от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или имеет значение около 4 или около 8,

где Лигандный Компонент происходит из антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела, которое способно селективно связываться с антигеном опухолевой ткани для последующего высвобождения Лекарственного Компонента(Лекарственных Единиц) в виде свободного лекарственного средства,

где фрагмент лекарственное средство-линкер формулы -LU-D' в каждом из соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство композиции имеет структуру формулы 1A:



или его соль, в частности фармацевтически приемлемая соль,

где волнистая линия указывает ковалентное присоединение к L;

D представляет собой Лекарственный Компонент;

L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающийся с лигандом;

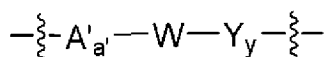
A представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент;

нижний индекс a равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A, соответственно;

B представляет собой необязательный Разветвляющийся Компонент;

нижний индекс b равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие B, соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, где вторичный линкер имеет формулу;



где волнистая линия смежная с Y указывает место ковалентного присоединения L_O к Лекарственному Компоненту, а волнистая линия смежная с A' указывает место ковалентного присоединения к остальной части фрагмента лекарственное средство-линкер;

A' представляет собой второй необязательный Удлиняющий Компонент, который в отсутствие B становится субъединицей A,

нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A', соответственно,

W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент, где Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой непрерывную последовательность до 12 аминокислот, где последовательность состоит из придающего селективность трипептида, который обеспечивает улучшенную селективность к воздействию на опухолевую ткань по сравнению с нормальной тканью для высвобождения цитотоксического соединения, высвобождаемого из соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство композиции по сравнению с соединениями сравнительной композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, в которой пептидная последовательность Пептидного Расщепляемого Компонента представляет собой дипептид -валин-цитруллин- или -валин-аланин-;

где опухолевые и нормальные ткани происходят от вида грызунов, и где композиция формулы I обеспечивает указанную улучшенную селективность воздействия, которая продемонстрирована следующим:

сохранение эффективности в модели опухолевого ксенотрансплантата

сравнительной композиции конъюгатов при введении при таком же эффективном количестве и схеме введения, как было определено ранее для сравнительной композиции конъюгатов, и

продемонстрированное снижение концентрации в плазме свободного лекарственного средства и/или сохранение нормальных клеток в ткани при введении при таком же эффективном количестве и схеме введения, как в модели опухолевого ксенотрансплантата не имеющему опухоль грызуну, по сравнению с таким же введением сравнительного конъюгата, в котором Лигандные Компоненты обеих композиций конъюгатов заменены не связывающимся антителом,

где нормальная ткань является тканью такого же типа у человека, и где цитотоксичность для клеток этой ткани ответственна, по меньшей мере частью, за нежелательное явление у субъекта-человека, которому вводят терапевтически эффективное количество сравнительной композиции конъюгата;

Y представляет собой саморасщепляющийся Спейсерный Компонент;

нижний индекс y равен 0, 1 или 2, указывая на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно; и

нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 4,

при условии, что нижний индекс q равен 1, когда нижний индекс b равен 0, и нижний индекс q имеет значение 2, 3 или 4, когда нижний индекс b равен 1; и

где соединения-конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство композиции имеют структуру формулы 1, где нижний индекс p заменен нижним индексом p', где нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или равное 4 или 8.

Вариант осуществления 2. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 1, где модель ксенотрансплантата представляет собой SCID или голую мышь, которой имплантировали раковые клетки HPAF-II, Ramos SK-MEL-5 или SU-DHL-4, в частности голую мышь, которой имплантировали раковые клетки HPAF-II.

Вариант осуществления 3. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 1 или 2, где нормальная ткань представляет собой костный мозг крысы.

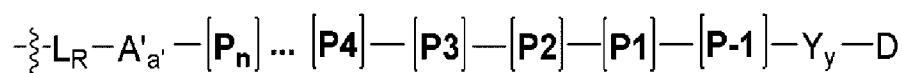
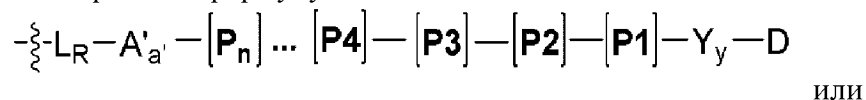
Вариант осуществления 4. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 1 или 2, где композиция формулы I обеспечивает указанную улучшенную селективность воздействия, дополнительно продемонстрирована повышенным показателем протеолиза композиции формулы 1 гомогенизированной тканью опухолевого ксенотрансплантата по сравнению с протеолизом сравнительного конъюгата гомогенизированной нормальной тканью при инкубации в тех же самых условиях, по сравнению с этим показателем для сравнительного конъюгата.

Вариант осуществления 5. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 4, где нормальная ткань получена из костного мозга

крысы или человека.

Вариант осуществления 6. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-5, где ткань опухолевого ксенотрансплантата получена от голых мышей, которым имплантировали раковые клетки НРАФ-II.

Вариант осуществления 7. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-6, где каждый фрагмент лекарственное средство-линкер имеет формулу:

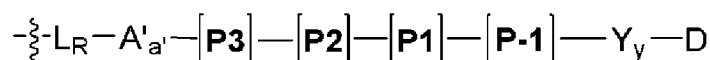
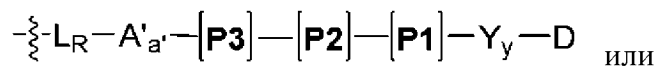


или его соль, в частности фармацевтически приемлемая соль, где

L_R представляет собой первичный линкер формулы $-L_B-A_a-B_b-$, при условии, что A' представляет собой субъединицу A , таким образом, A' представляет собой компонент L_R , когда нижний индекс a и a' каждый равен 1, а нижний индекс b равен 0; и

каждый P представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности Пептидного Расщепляемого Компонента, и где нижний индекс n представляет собой целое число, предусматривающее до 12 этих остатков.

Вариант осуществления 8. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-6, где каждый фрагмент лекарственное средство-линкер имеет формулу:



или его соль, в частности фармацевтически приемлемая соль,

где L_R представляет собой первичный линкер формулы $-L_B-A_a-B_b-$, при условии, что A' представляет собой субъединицу A , таким образом, A' является компонентом L_R , когда нижний индекс a и a' каждый равен 1, а нижний индекс b равен 0; и

где каждый P представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности Пептидного Расщепляемого Компонента.

Вариант осуществления 9. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-6, где каждый фрагмент лекарственное средство-линкер имеет формулу:



или его соль, в частности фармацевтически приемлемая соль, где

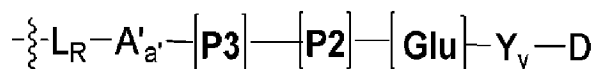
L_R представляет собой первичный линкер формулы $-L_B-A_a-B_b-$, при условии, что A' представляет собой субъединицу A , таким образом, A' является компонентом L_R , когда нижний индекс a и a' каждый равен 1, а нижний индекс b равен 0;

каждый P представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности Пептидного Расщепляемого Компонента, и где нижний индекс n представляет собой целое число, предусматривающее до 12 этих остатков; и

$P1$ представляет собой L -аминокислотный остаток, имеющий при физиологическом pH отрицательно заряженную боковую цепь или не имеющую положительный заряд полярную боковую цепь.

Вариант осуществления 10. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-9, где $P1$ представляет собой L -аминокислотный остаток, выбранный из группы, состоящей из глутаминовой кислоты, метионин-сульфоксида, аспарагиновой кислоты, (S)-3-аминопропан-1,1,3-трикарбоновой кислоты и фосфо-треонина.

Вариант осуществления 11. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-6, где каждый фрагмент лекарственное средство-линкер имеет формулу:



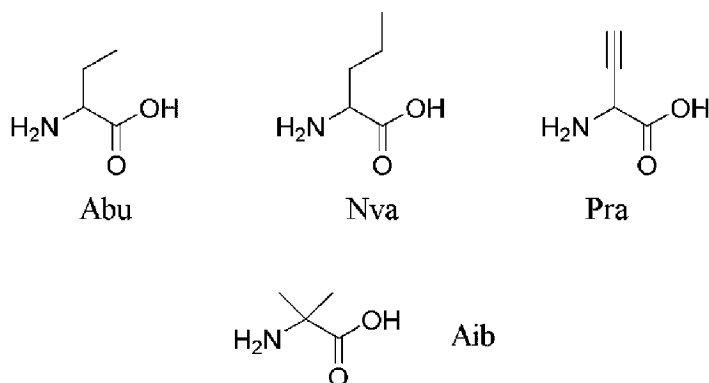
или соль вышеуказанного соединения, в частности фармацевтически приемлемая соль, где

L_R представляет собой первичный линкер формулы $-L_B-A_a-B_b-$, при условии, что A' представляет собой субъединицу A , таким образом, A' является компонентом L_R , когда нижний индекс a и a' каждый равен 1, а нижний индекс b равен 0; и

каждый P представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности Пептидного Расщепляемого Компонента.

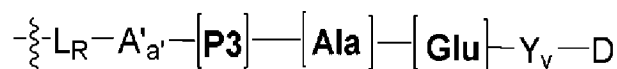
Вариант осуществления 12. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-11, где $P2$ представляет собой остаток глицин или L -аминокислоту, боковая цепь которого содержит не более трех смежных атомов углерода.

Вариант осуществления 13. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-11, где $P2$ аминокислота представляет собой L -аланин, L -валин или глицин, или неприродную аминокислоту, где неприродная аминокислота представляет собой Abu, Aib, Ala, Gly, Leu, Nva или Pra, где Abu, Aib, Nva и Pra имеют структуры:



и где боковые цепи Abu, Nva и Pra находятся в одинаковой стереохимической конфигурации L-аминокислоты.

Вариант осуществления 14. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-6, где каждый фрагмент лекарственное средство-линкер имеет формулу:



или соль вышеуказанного соединения, в частности фармацевтически приемлемая соль, где

L_R представляет собой первичный линкер формулы $-L_B-A_a-B_b-$, при условии, что A' представляет собой субъединицу A, таким образом, A' является компонентом L_R , когда нижний индекс a и a' каждый равен 1, а нижний индекс b равен 0; и

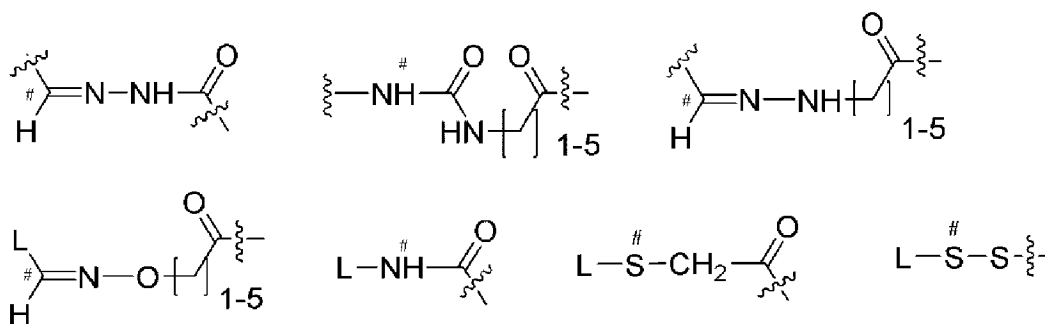
P3 представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности Пептидного Расщепляемого Компонента.

Вариант осуществления 15. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-14, где P3 представляет собой D-аминокислоту, боковая цепь которой является незаряженной при физиологическом pH.

Вариант осуществления 16. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-14, где P3 представляет собой D-Leu, L-Leu, L-Cit или L-Pro, предпочтительно D-Leu.

Вариант осуществления 17. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 1-9, где придающий селективность трипептид, $-[P3]-[P2]-[P1]-$, представляет собой -D-Leu-Ala-Glu- или его соль, в частности фармацевтически приемлемую соль.

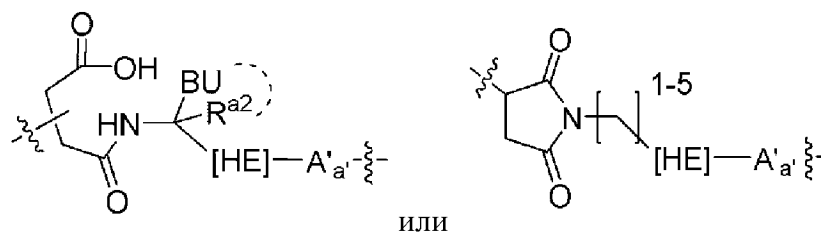
Вариант осуществления 18. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-17, где $-L_R-$ в фрагментах лекарственное средство-линкер каждого соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство имеет или включает одну из следующих структур:



где указанный (#) атом азота, углерода или серы происходит из Лигандного Компонента; и где смежная с ним волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к остальной части Лигандного Компонента, а другая волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к остальной части одного из фрагментов лекарственное средство-линкер.

Вариант осуществления 19. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-17, где нижний индекс q равен 1 и L_R представляет собой $-L_B-A-$,

где $-L_B-A-$ в фрагментах лекарственное средство-линкер каждого соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство преимущественно имеет структуру:



или соль вышеуказанного соединения, в частности фармацевтически приемлемая соль, где

волнистая линия смежная с $A'_{a'}$ указывает место ковалентного присоединения к Пептидному Расщепляемому Компоненту одного из фрагментов лекарственное средство-линкер; а другая волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к атому серы Лигандного Компонента;

[HE] представляет собой Усиливающий Гидролиз Компонент;

BU представляет собой Основной Компонент;

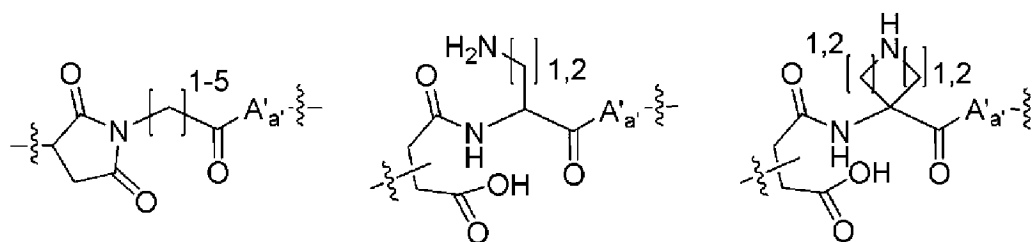
R^{a2} представляет собой необязательно замещенную C_1-C_{12} алкильную группу; и

изогнутая пунктирная линия указывает необязательную циклизацию, таким образом, в отсутствие указанной циклизации BU представляет собой ациклический Основной Компонент, содержащий первичную, вторичную или третичную аминую функциональную группу в качестве основной функциональной группы ациклического Основного Компонента, или в присутствии указанной циклизации BU представляет собой циклизованный Основной Компонент, в котором R^{a2} и BU вместе с атомом углерода, с которым оба связаны, определяют необязательно замещенный спиро C_3-C_{20} гетероцикло, содержащий скелетный основной атом азота вторичной или третичной аминной

функциональной группы в качестве основной функциональной группы циклического Основного Компонента,

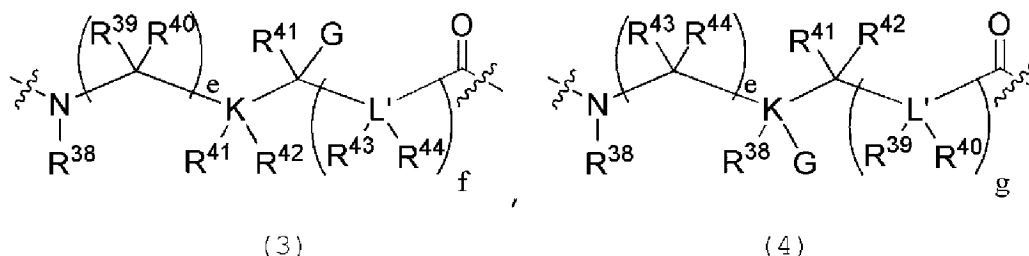
где основной атом азота ациклического Основного Компонента или циклического Основного Компонента необязательно подходяще защищен азот-защитной группой, в зависимости от степени замещения основного атома азота, или является необязательно протонированным.

Вариант осуществления 20. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 19, где $-L_B-A-$ в фрагментах лекарственное средство-линкер каждого соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство преимущественно имеют структуру:



или соль вышеуказанного соединения, в частности фармацевтически приемлемая соль.

Вариант осуществления 21. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-20, где нижний индекс q равен 1 и A' присутствует в качестве субъединицы A , где A' включает амин-содержащий кислотный остаток, имеющий структуру формулы (3) или формулы (4):



или его соль, в частности фармацевтически приемлемую соль, где волнистая линия смежная с атомом азота указывает место ковалентного присоединения к $[HE]$, где $[HE]$ представляет собой $-C(=O)-$, а волнистая линия смежная с карбонильным атомом углерода указывает место ковалентного присоединения к остальной части A' или к N-концевому аминокислотному остатку Пептидного Расщепляемого Компонента, где оба присоединения происходят через амидные функциональные группы;

K и L' независимо представляют собой C , N , O или S , при условии, что когда K или L' представляет собой O или S , R^{41} и R^{42} , связанные с K , R^{38} и G , связанные с K , R^{43} и R^{44} , связанные с L' , и R^{39} и R^{40} , связанные с L' отсутствуют, и когда K или L' представляют собой N , один из R^{41} или R^{42} , связанный с K , и один из R^{38} или G , связанный с K , один из R^{43} или R^{44} , связанный с L' , для каждого компонента $-L'(R^{43})(R^{44})$ и один из R^{39} или R^{40} ,

связанный с L' , для каждого компонента $-L'(R^{39})(R^{40})$ отсутствуют, и при условии, что никакие два смежные L' не выбраны независимо как N, O или S;

где нижние индексы e и f означают независимо выбранные целые числа от 0 до 12, и нижний индекс g представляет собой целое число от 1 до 12:

G представляет собой водород, необязательно замещенный C_1 - C_6 алкил, -ОН или $-CO_2H$;

R^{38} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_6 алкил;

R^{39} - R^{44} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C_1 - C_6 алкила и необязательно замещенного C_5 - C_{10} (гетеро)арила,

или R^{39} и R^{40} вместе с атомом углерода, с которым оба связаны, или R^{41} и R^{42} вместе с K, с которым оба связаны, когда K представляет собой атом углерода, определяют C_3 - C_6 карбоцикло, а остальные из R^{39} - R^{44} имеют значение, определенное в настоящей заявке,

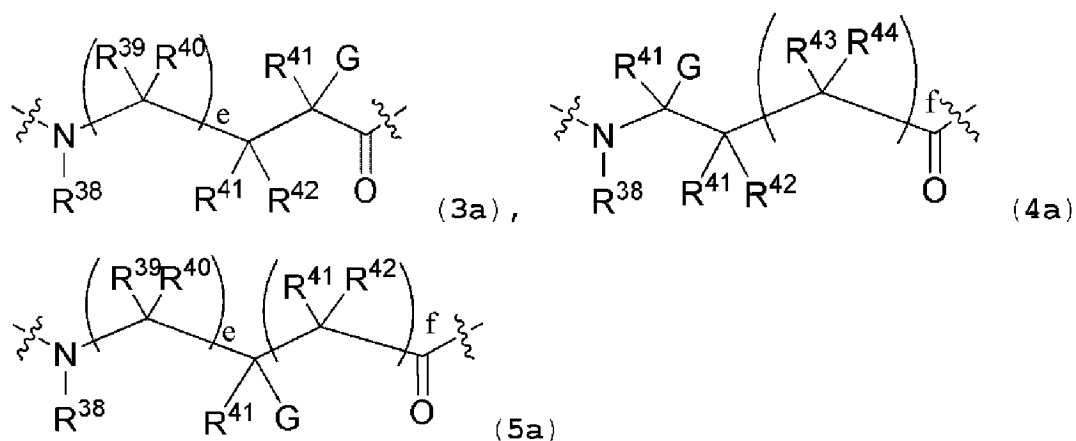
или R^{43} и R^{44} вместе с L' , с которым оба связаны, когда L' представляет собой атом углерода, определяют C_3 - C_6 карбоцикло, и R^{39} - R^{42} имеют значение, определенное в настоящей заявке,

или R^{40} и R^{41} , или R^{40} и R^{43} , или R^{41} и R^{43} , вместе с атомом углерода или гетероатомом, с которым оба связаны, и необязательными атомами, находящимися между этими атомами углерода и/или гетероатомами, определяют C_5 - C_6 карбоцикло или C_5 - C_6 гетероцикло, и R^{39} , R^{44} и остальные из R^{40} - R^{43} имеют значение, определенное в настоящей заявке,

при условии, что когда K представляет собой O или S, R^{41} и R^{42} отсутствуют, и когда K представляет собой N, один из R^{41} , R^{42} отсутствует, и когда L' представляет собой O или S, R^{43} и R^{44} отсутствуют, и когда L' представляет собой N, один из R^{43} , R^{44} отсутствует, или

A' включает альфа-амино, бета-амино или другой амин-содержащий кислотный остаток, где его атом азота амина ковалентно связан с карбонильным атомом углерода НЕ, а его карбонильный атом углерода карбоновой кислоты ковалентно связан с остальной частью A' или с N-концевой аминокислотой Пептидного Расщепляемого Компонента, где оба ковалентные присоединения происходят через амидные функциональные группы.

Вариант осуществления 22. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 21, где A' представляет собой амин-содержащий кислотный остаток, имеющий структуру формулы **3a**, формулы **4a** или формулы **5a**:



или его соль, в частности фармацевтически приемлемая соль, где

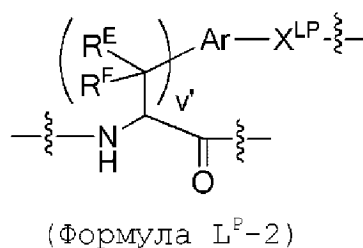
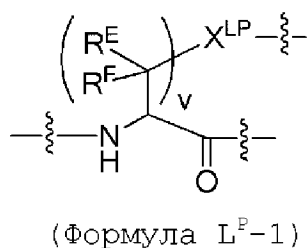
нижние индексы e и f независимо равны 0 или 1; и

R^{38} - R^{44} каждый представляет собой водород;

или A' представляет собой α -амино или β -аминокислотный остаток.

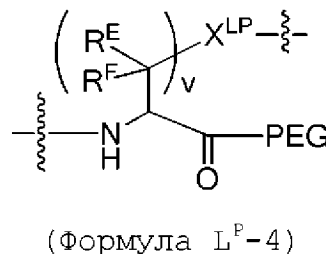
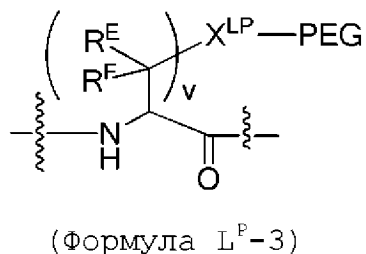
Вариант осуществления 23. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-20, где нижний индекс q равен 1 и A' включает β -аминокислотный остаток или $-L^P(\text{ПЭГ})-$,

где ПЭГ представляет собой ПЭГ Компонент, а L^P представляет собой Параллельный Соединительный Компонент, имеющий структуру формулы L^P-1 или L^P-2 :



или

где $-L^P(\text{ПЭГ})-$ или его ПЭГ-содержащая субъединица имеет структуру формулы L^P-3 или формулы L^P-4 :



где нижний индекс v представляет собой целое число от 1 до 4;

нижний индекс v' представляет собой целое число от 0 до 4;

X^{LP} обеспечивается боковой цепью природной или не природной аминокислоты или выбран из группы, состоящей из $-O-$, $-NR^{LP}-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-C(=O)-$, $-C(=O)N(R^{LP})-$, $-N(R^{LP})C(=O)N(R^{LP})-$, и $-N(R^{LP})C(=NR^{LP})N(R^{LP})-$ или C_3 - C_8 гетероцикло;

где каждый R^{LP} независимо выбран из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного C_1-C_6 алкила, или два из R^{LP} вместе с атомами углерода, с которыми они связаны, и их промежуточными атомами определяют C_5-C_6 гетероцикло, а любые остальные R^{LP} имеют значение, определенное выше;

Ag представляет собой C_6-C_{10} арилен или C_5-C_{10} гетероарилен, каждый из которых необязательно замещен;

каждый R^E и R^F независимо выбран из группы, состоящей из $-H$, необязательно замещенного C_1-C_6 алкила, необязательно замещенного C_2-C_6 алкилена, необязательно замещенного C_6-C_{10} арилена или необязательно замещенного C_5-C_{10} гетероарилена,

или R^E и R^F вместе с атомом углерода, с которым оба связаны, определяют необязательно замещенный спиро C_3-C_6 карбоцикло, или R^E и R^F от смежных атомов углерода вместе с этими атомами и любыми промежуточными атомами углерода определяют необязательно замещенный C_5-C_6 карбоцикло, а любые остальные R^E и R^F имеют значение, определенное выше;

где одна из волнистых линий указывает точку ковалентного присоединения ПЭГ Компонента, а другие две волнистые линии указывают ковалентное присоединение формулы L^P-1 или формулы L^P-2 в структуре, представляющей композицию конъюгата Лиганд-Лекарственное средство, или

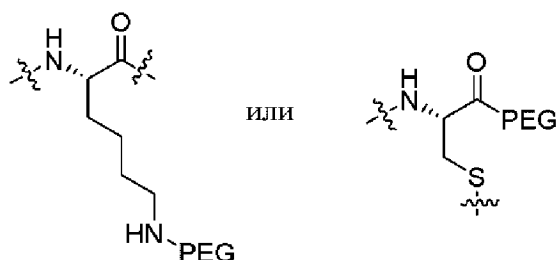
L^P представляет собой Параллельный Соединительный Компонент, имеющий структуру три-функционального амин-содержащего кислотного остатка или; и

ПЭГ представляет собой ПЭГ Компонент.

Вариант осуществления 24. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-20, где A' включает β -аминокислотный остаток или $-L^P(\text{ПЭГ})-$, где ПЭГ представляет собой ПЭГ Компонент, а L^P представляет собой Параллельный Соединительный Компонент,

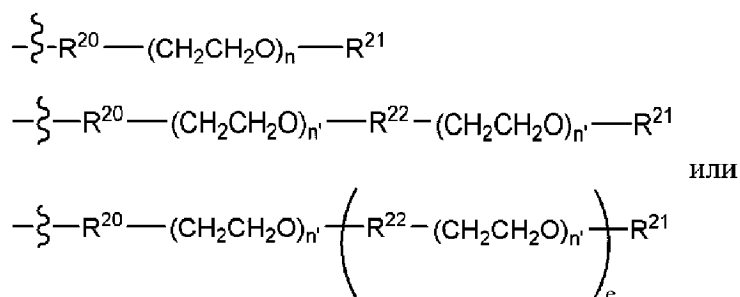
где β -аминокислотный остаток имеет структуру $-NHCH_2CH_2C(=O)-$; и

где $-L^P(\text{ПЭГ})-$ имеет структуру:



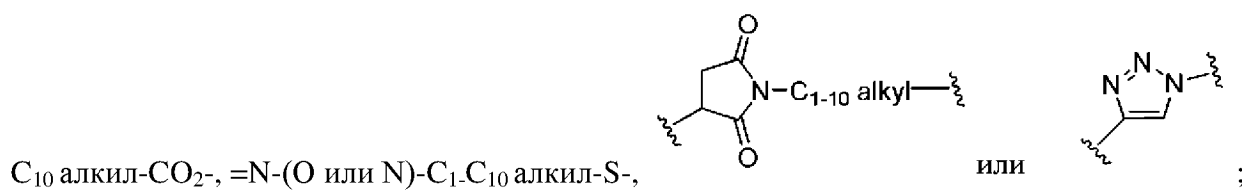
где волнистые линии указывают сайты ковалентного присоединения в фрагменте лекарственное средство-линкер.

Вариант осуществления 25. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 23 или 24, где ПЭГ Компонент имеет структуру:



где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к L^P ;

R^{20} представляет собой ПЭГ-присоединяющий Компонент, где ПЭГ-присоединяющий Компонент представляет собой $-C(O)-$, $-O-$, $-S-$, $-S(O)-$, $-NH-$, $-C(O)O-$, $-C(O)C_1-C_{10}$ алкил, $-C(O)C_1-C_{10}$ алкил- $O-$, $-C(O)C_1-C_{10}$ алкил- CO_2- , $-C(O)C_1-C_{10}$ алкил- $NH-$, $-C(O)C_1-C_{10}$ алкил- $S-$, $-C(O)C_1-C_{10}$ алкил- $C(O)-NH-$, $-C(O)C_1-C_{10}$ алкил- $NH-C(O)-$, $-C_1-C_{10}$ алкил, $-C_1-C_{10}$ алкил- $O-$, $-C_1-C_{10}$ алкил- CO_2- , $-C_1-C_{10}$ алкил- $NH-$, $-C_1-C_{10}$ алкил- $S-$, $-C_1-C_{10}$ алкил- $C(O)-NH-$, $-C_1-C_{10}$ алкил- $NH-C(O)-$, $-CH_2CH_2SO_2-C_1-C_{10}$ алкил-, $-CH_2C(O)-C_{1-10}$ алкил-, $=N-(O \text{ или } N)-C_1-C_{10}$ алкил- $O-$, $=N-(O \text{ или } N)-C_1-C_{10}$ алкил- $NH-$, $=N-(O \text{ или } N)-C_1-$



R^{21} представляет собой ПЭГ-кэпирующий Компонент; где ПЭГ-кэпирующий Компонент представляет собой $-C_1-C_{10}$ алкил, $-C_2-C_{10}$ алкил- CO_2H , $-C_2-C_{10}$ алкил- OH , $-C_2-C_{10}$ алкил- NH_2 , C_2-C_{10} алкил- $NH(C_1-C_3 \text{ алкил})$ или C_2-C_{10} алкил- $N(C_1-C_3 \text{ алкил})_2$;

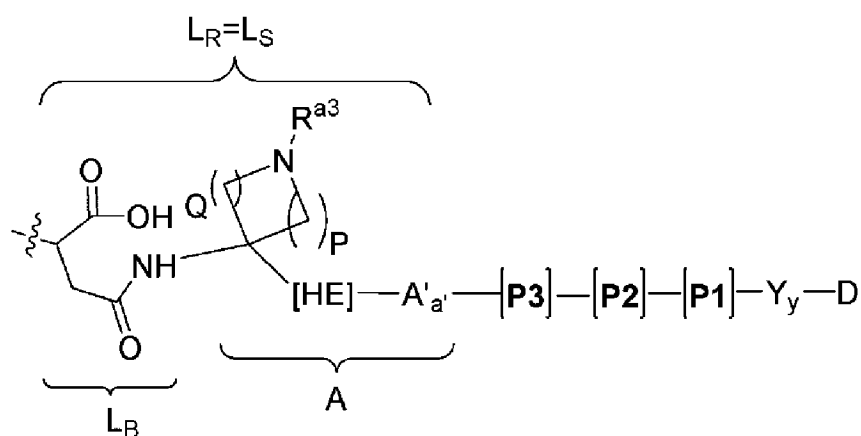
R^{22} представляет собой ПЭГ-связывающий Компонент для связывания множества цепей ПЭГ субъединиц вместе, где ПЭГ-связывающий Компонент представляет собой $-C_{1-10}$ алкил- $C(O)-NH-$, $-C_{1-10}$ алкил- $NH-C(O)-$, $-C_{2-10}$ алкил- $NH-$, $-C_2-C_{10}$ алкил- $O-$, $-C_1-C_{10}$ алкил- $S-$ или $-C_2-C_{10}$ алкил- $NH-$;

нижний индекс n независимо выбран из значений 8-72, из 10-72 или из 12-72;

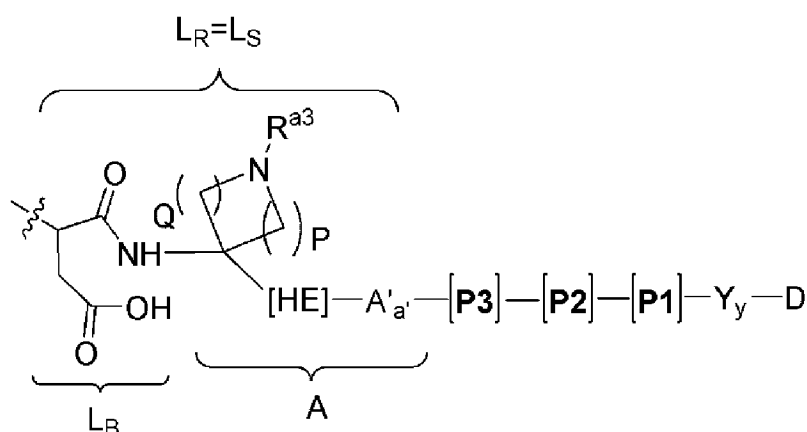
нижний индекс e выбран из значений 2-5; и

каждый n' независимо выбран из значений от по меньшей мере 6 до не более чем 72, предпочтительно от по меньшей мере 8 или по меньшей мере 10 до не более чем 36.

Вариант осуществления 26. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-6, где большая часть соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство содержат фрагменты лекарственное средство-линкер, представленные структурами формулы 1C и формулы 1D:



(Формула 1C)



(Формула 1D)

или соль вышеуказанного соединения, в частности фармацевтически приемлемая соль, где

HE представляет собой Усиливающий Гидролиз Компонент;

A' представляет собой субъединицу, если присутствует, указанного первого Удлиняющего Компонента (A);

нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A' , соответственно;

нижний индекс P равен 1 или 2; и нижний индекс Q находится в пределах от 1 до 6, предпочтительно нижний индекс Q равен 1 или 2, более предпочтительно нижний индекс Q имеет такое же значение, как и нижний индекс P;

R^{a3} представляет собой -H, необязательно замещенный C_1 - C_6 алкил, необязательно замещенный $-C_1$ - C_4 алкилен- $(C_6-C_{10}$ арил) или $-R^{PEG1}-O-(CH_2CH_2O)_{1-36}-R^{PEG2}$, где R^{PEG1} представляет собой C_1 - C_4 алкилен и R^{PEG2} представляет собой -H или C_1 - C_4 алкилен, где основной азот, связанный с R^{a3} , является необязательно протонированным в форме соли, предпочтительно в форме фармацевтически приемлемой соли, или

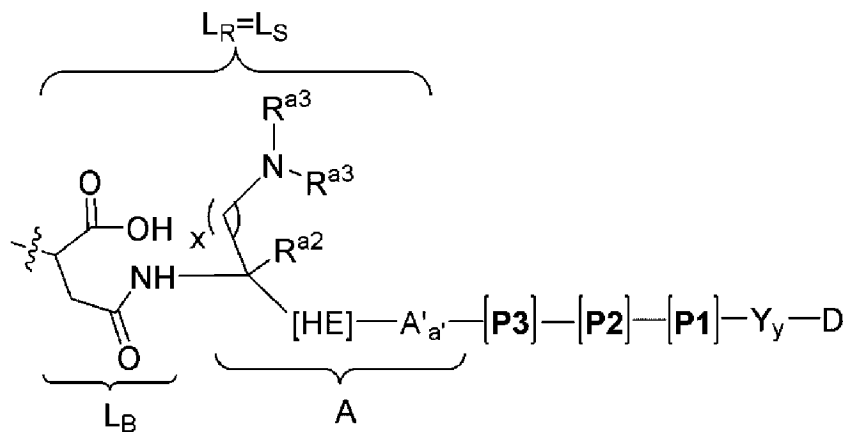
R^{a3} представляет собой азот-защитную группу, такую как подходящая кислотолабильная защитная группа;

каждый P представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности Пептидного Расщепляемого Компонента; и

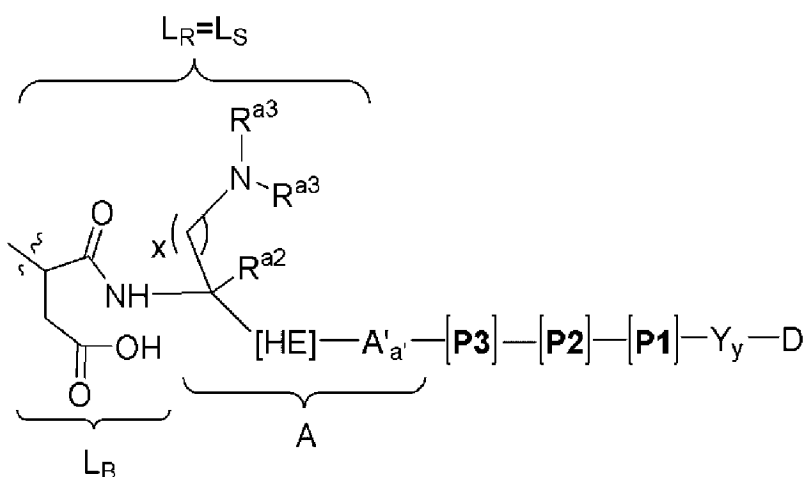
волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы

Лигандного Компонента.

Вариант осуществления 27. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 1, где большая часть соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство содержат фрагменты лекарственное средство-линкер, представленные структурами формулы 1F и формулы 1G:



(Формула 1F)



(Формула 1G)

или соль вышеуказанного соединения, в частности фармацевтически приемлемая соль, где

HE представляет собой Усиливающий Гидролиз Компонент;

A' представляет собой субъединицу, если присутствует, указанного первого Удлиняющего Компонента (A);

нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A', соответственно;

нижний индекс x равен 1 или 2;

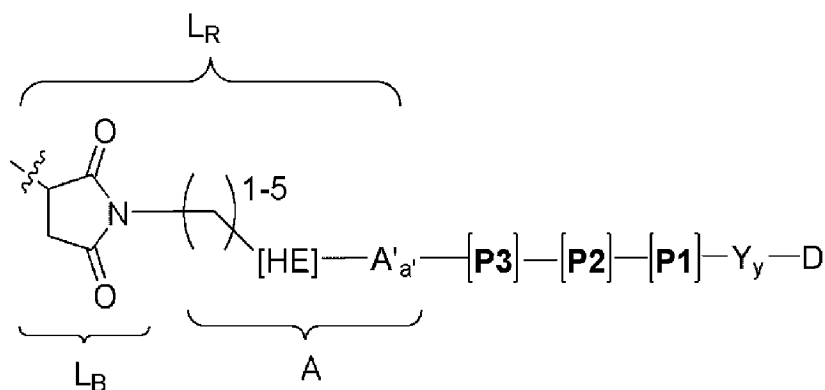
R^{a2} представляет собой -H, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, -CH₃ или -CH₂CH₃;

R^{a3} в каждом случае независимо представляет собой азот-защитную группу, -H или необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, предпочтительно -H, кислотолабильную защитную группу, -CH₃ или -CH₂CH₃,

или оба R^{a3} вместе с азотом, с которым они связаны, определяют азот-защитную группу или гетероцикл азеидинил, пирролидинил или пиперидинил, где основной первичный, вторичный или третичный амин, определенный таким образом, является необязательно протонированным в форме соли, предпочтительно в форме фармацевтически приемлемой соли; и

волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы Лигандного Компонента.

Вариант осуществления 28. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 1, где соединения-конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство преимущественно содержат фрагменты лекарственное средство-линкер формулы 1Н:



(Формула 1Н)

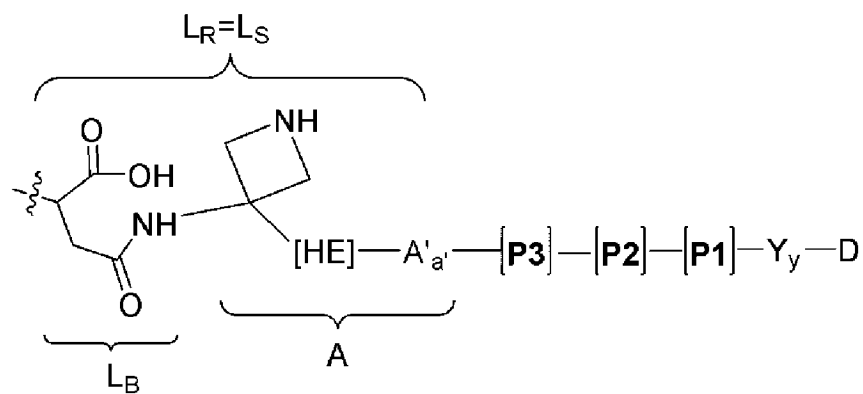
или их соли, в частности фармацевтически приемлемые соли, и при этом необязательно содержится небольшое количество соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, в которых один или несколько из фрагментов лекарственное средство-линкер в каждом из таких соединений имеет сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и где

HE представляет собой Усиливающий Гидролиз Компонент;

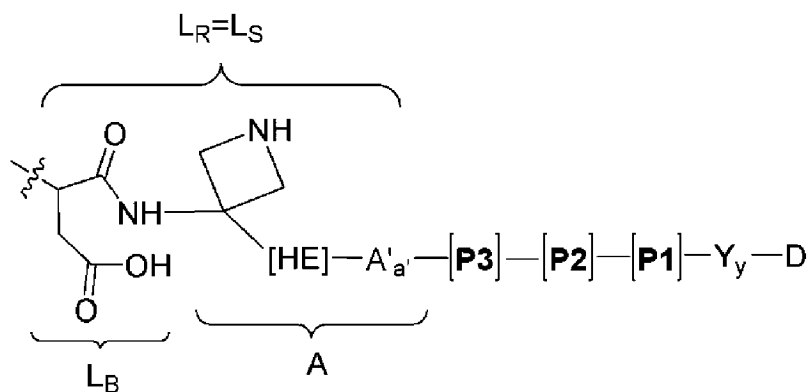
A' представляет собой субъединицу, если присутствует, указанного первого Удлиняющего Компонента (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A'; и

волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы Лигандного Компонента.

Вариант осуществления 29. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 26, где большая часть соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство содержат фрагменты лекарственное средство-линкер, представленные следующими структурами:

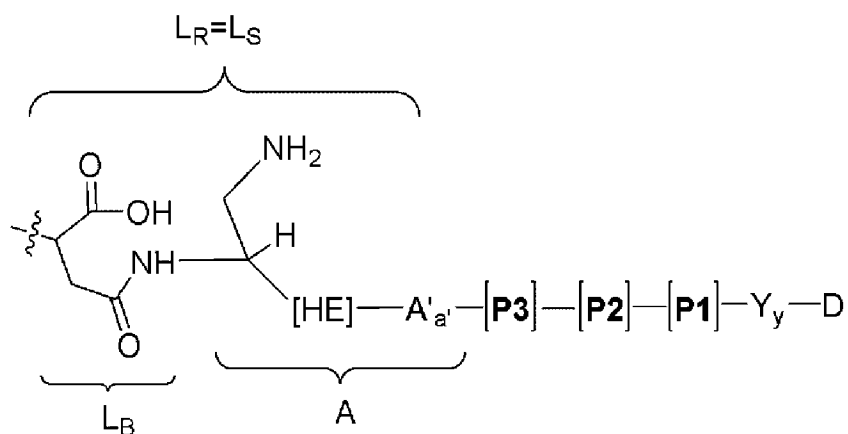


И

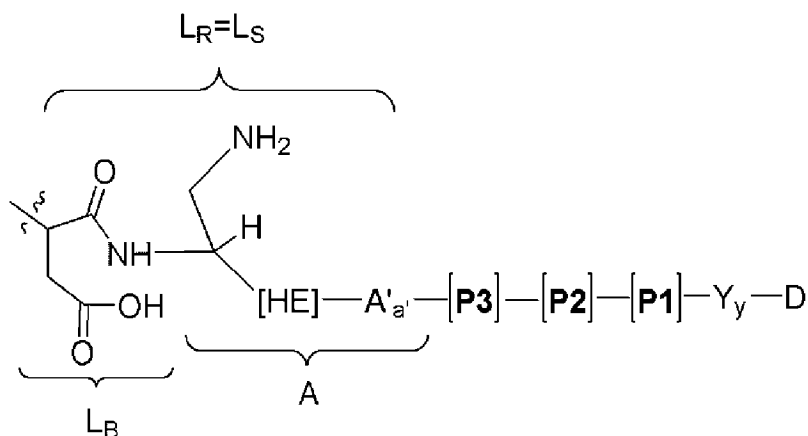


или их соли, в частности фармацевтически приемлемые соли.

Вариант осуществления 30. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 28, где большая часть соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство содержат фрагменты лекарственное средство-линкер, представленные следующими структурами:



И



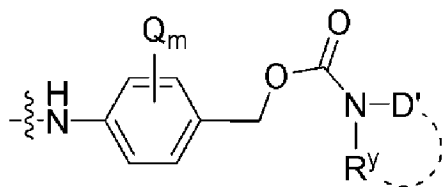
или их соли, в частности фармацевтически приемлемые соли.

Вариант осуществления 31. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 26-30 где HE представляет собой -C(=O).

Вариант осуществления 32. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 26-30, где HE представляет собой -C(=O), нижний индекс a' равен 1 и A' имеет структуру формулы **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** варианта осуществления 17, или A' представляет собой α -аминокислоту или β -аминокислотный остаток.

Вариант осуществления 33. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 26-32, где -[P3]-[P2]-[P1]- представляет собой D-Leu-Leu-Met(O), D-Leu-Ala-Glu, L-Leu-Ala-Glu или D-Leu-Ala-Cit, где Met(O) представляет собой метионин, в котором атом серы окислен до сульфоксида, и Cit представляет собой цитруллин.

Вариант осуществления 34. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-33, где -Y_y-D имеет структуру:



где -N(R^y)D' представляет собой D, где D' представляет собой остальную часть D; волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к P1 или P-1;

пунктирная линия указывает необязательную циклизацию R^y с D;

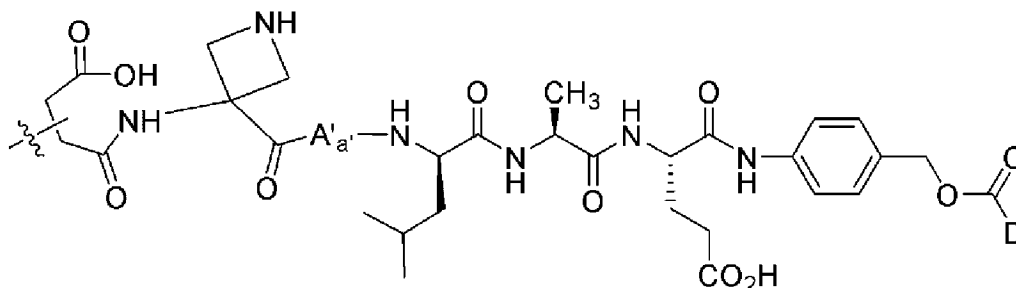
R^y представляет собой optionally замещенный C₁-C₆ алкил в отсутствие циклизации с D' или optionally замещенный C₁-C₆ алкилен при циклизации с D';

каждый Q независимо представляет собой -C₁-C₈ алкил, -O-(C₁-C₈ алкил) или другую электронодонорную группу, -галоген, -нитро или -циано или другую электроноакцепторную группу, в частности каждый Q независимо выбран из группы, состоящей из -C₁-C₈ алкила, -O-(C₁-C₈ алкил), галогена, нитро и циано; и

нижний индекс m равен 0, 1 или 2, в частности нижний индекс m равен 0 или 1, и

Q, если присутствует, представляет собой электронодонорную группу, предпочтительно нижний индекс m равен 0.

Вариант осуществления 35. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 1, где преобладающий фрагмент лекарственное средство-линкер в большинстве соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство этой композиции представлен структурой:

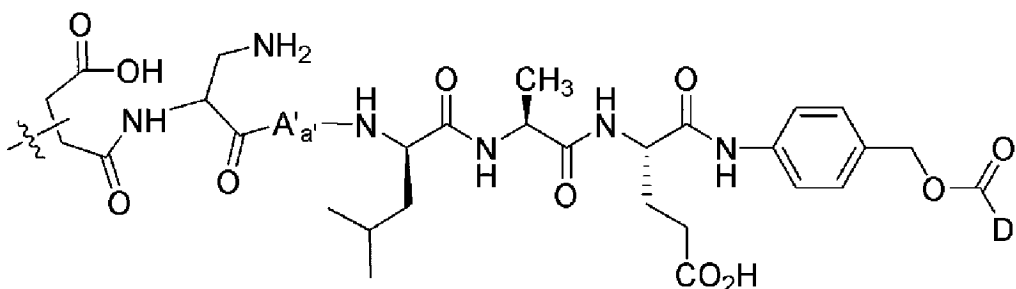


или его соли, в частности фармацевтически приемлемые соли, где волнистая линия указывает ковалентное присоединение к атому серы из Лигандного Компонента;

нижний индекс a' равен 1, указывая на присутствие A' , где A' представляет собой амин-содержащий кислотный остаток формулы **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** варианта осуществления 22, или α -аминокислоту или β -аминокислотный остаток, в частности $-NH-CH_2CH_2-C(=O)-$; и

D представляет собой цитотоксическое лекарственное средство, имеющее вторичную амино группу в качестве сайта присоединения к фрагменту лекарственное средство-линкер.

Вариант осуществления 36. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 1, где преобладающий фрагмент лекарственное средство-линкер в большинстве соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство этой композиции представлен структурой:



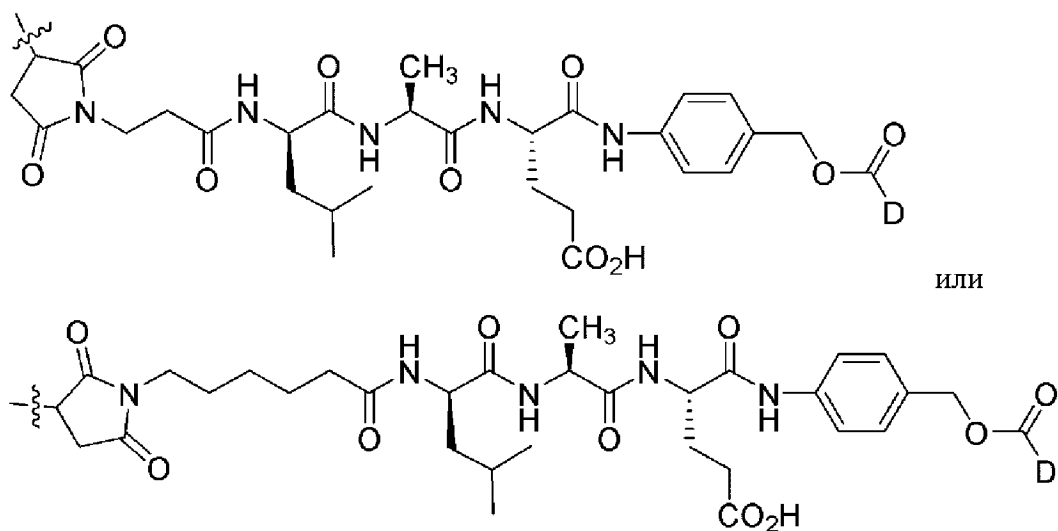
или его соли, в частности фармацевтически приемлемые соли, где волнистая линия указывает ковалентное присоединение к атому серы из Лигандного Компонента;

нижний индекс a' равен 1, указывая на присутствие A соответственно, где A' представляет собой амин-содержащий кислотный остаток формулы **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** варианта осуществления 22, или α -аминокислоту или β -аминокислотный

остаток, в частности $-\text{NH}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-$; и

D представляет собой цитотоксическое лекарственное средство, имеющее вторичную амино группу в качестве сайта присоединения к фрагменту лекарственное средство-линкер.

Вариант осуществления 37. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 1, где преобладающий фрагмент лекарственное средство-линкер в большинстве соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство этой композиции представлен структурой:

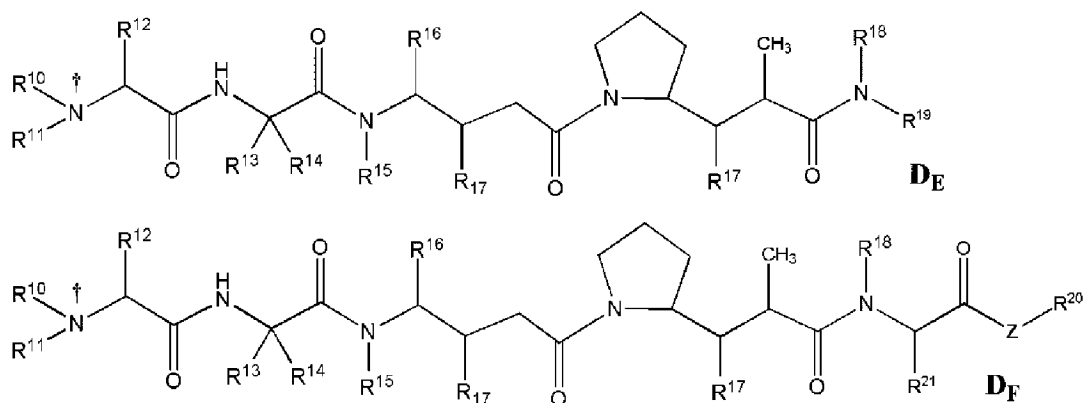


или его соли, в частности фармацевтически приемлемые соли, где волнистая линия указывает ковалентное присоединение к атому серы из Лигандного Компонента; и

D представляет собой цитотоксическое лекарственное средство, имеющее вторичную амино группу в качестве сайта присоединения к фрагменту лекарственное средство-линкер.

Вариант осуществления 38. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-37, где нижний индекс y' равен 2, и Y_y представляет собой $-\text{Y}-\text{Y}'-$, где Y представляет собой первый саморасщепляющийся Спейсерный Компонент, а Y' представляет собой второй саморасщепляющийся Спейсерный Компонент, имеющий структуру $-\text{OC}(=\text{O})-$, и цитотоксическое лекарственное средство представляет собой содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение, где атом азота вторичного амина представляет собой место ковалентного присоединения к карбонильному атому углерода Y' через карбаматную функциональную группу, являющуюся общей для D и Y'.

Вариант осуществления 39. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 38, где содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение имеет структуру формулы **D_E** или **D_F**:



где крестик указывает место ковалентного присоединения атома азота, который образует карбаматную функциональную группу,

один из R¹⁰ и R¹¹ представляет собой водород, а другой представляет собой C₁-C₈ алкил, предпочтительно один из R¹⁰ и R¹¹ представляет собой водород, а другой представляет собой метил;

R¹² представляет собой водород, C₁-C₈ алкил, C₃-C₈ карбоцикл, C₆-C₂₄ арил, -X¹-C₆-C₂₄ арил, -X¹-(C₃-C₈ карбоцикл), C₃-C₈ гетероцикл или -X¹-(C₃-C₈ гетероцикл);

R¹³ представляет собой водород, C₁-C₈ алкил, C₃-C₈ карбоцикл, C₆-C₂₄ арил, -X¹-C₆-C₂₄ арил, -X¹-(C₃-C₈ карбоцикл), C₃-C₈ гетероцикл или -X¹-(C₃-C₈ гетероцикл);

R¹⁴ представляет собой водород или метил, или

R¹³ и R¹⁴ взятые вместе с углеродом, с которым они связаны, включают спиро C₃-C₈ карбоцикло;

R¹⁵ представляет собой водород или C₁-C₈ алкил;

R¹⁶ представляет собой водород, C₁-C₈ алкил, C₃-C₈ карбоцикл, C₆-C₂₄ арил, -C₆-C₂₄-X¹-арил, -X¹-(C₃-C₈ карбоцикл), C₃-C₈ гетероцикл или -X¹-(C₃-C₈ гетероцикл);

каждый R¹⁷ независимо представляют собой водород, -ОН, C₁-C₈ алкил, C₃-C₈ карбоцикл или O-(C₁-C₈ алкил);

R¹⁸ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₈ алкил;

R¹⁹ представляет собой -C(R^{19A})₂-C(R^{19A})₂-C₆-C₂₄ арил, —C(R^{19A})₂—C(R^{19A})₂—(C₃-C₈ гетероцикл) или -C(R^{19A})₂-C(R^{19A})₂—(C₃-C₈ карбоцикл), где C₆-C₂₄ арил и C₃-C₈ гетероцикл необязательно замещены;

R^{19A} независимо представляют собой водород, необязательно замещенный C₁-C₈ алкил, -ОН или необязательно замещенный -O-C₁-C₈ алкил;

R²⁰ представляет собой водород или C₁-C₂₀ алкил, C₆-C₂₄ арил или C₃-C₈ гетероцикл, необязательно замещенный, или -(R⁴⁷O)_m-R⁴⁸, или -(R⁴⁷O)_m-CH(R⁴⁹)₂;

R²¹ представляет собой -C₁-C₈ алкилен-(C₆-C₂₄ арил) или -C₁-C₈ алкилен-(C₅-C₂₄ гетероарил), необязательно замещенный, или C₁-C₈ гидроксилалкил, или необязательно замещенный C₃-C₈ гетероцикл;

Z представляет собой O, S, NH, или NR⁴⁶;

R⁴⁶ представляет собой необязательно замещенный C₁-C₈ алкил; нижний индекс m

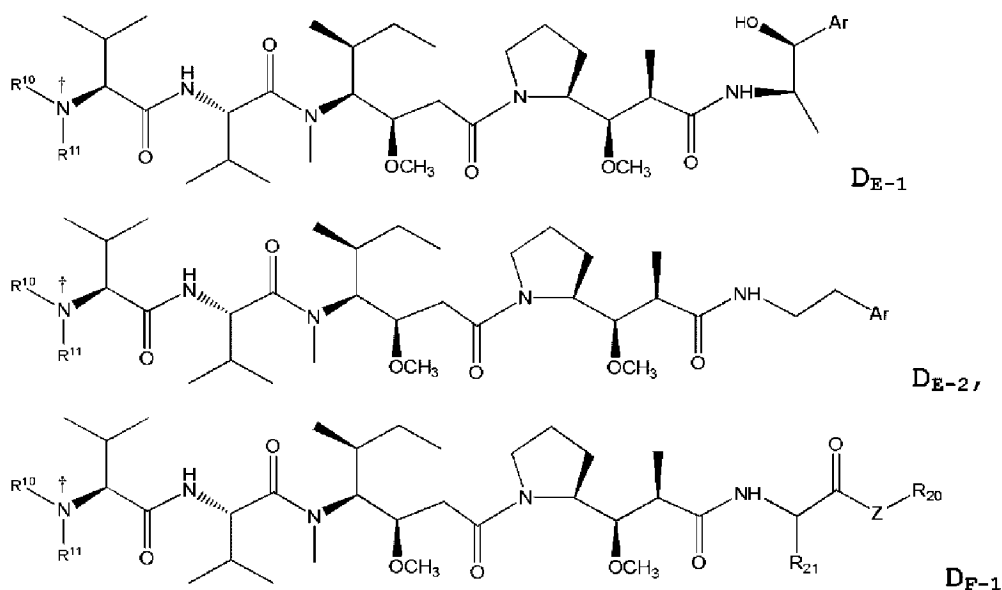
представляет собой целое число в пределах 1-1000;

R^{47} представляет собой C_2-C_8 алкилен; R^{48} представляет собой водород или C_1-C_8 алкил;

R^{49} независимо представляют собой $-COOH$, $-(CH_2)_n-N(R^{50})_2$, $-(CH_2)_n-SO_3H$ или $-(CH_2)_n-SO_3-C_1-C_8$ алкил; и

каждый R^{50} независимо представляют собой C_1-C_8 алкил или $-(CH_2)_n-COOH$; нижний индекс n представляет собой целое число в пределах от 0 до 6; и X^1 представляет собой C_1-C_{10} алкилен.

Вариант осуществления 40. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 39, где содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение имеет структуру формулы D_{E-1} , формулы D_{E-2} или формулы D_{F-1} :



где Ar представляет собой C_6-C_{10} арил или C_5-C_{10} гетероарил, предпочтительно Ar представляет собой фенил или 2-пиридил;

Z представляет собой $-O-$ или $-NH-$; R^{20} представляет собой водород, C_1-C_6 алкил, C_6-C_{10} арил или C_5-C_{10} гетероарил, где C_1-C_6 алкил, C_6-C_{10} арил и C_5-C_{10} гетероарил необязательно замещены; и R^{21} представляет собой C_1-C_6 алкил, $-C_1-C_6$ алкилен- $(C_6-C_{10}$ арил) или $-C_1-C_6$ алкилен- $(C_5-C_{10}$ гетероарил), каждый из которых необязательно замещен.

Вариант осуществления 41. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 40, где содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение имеет структуру формулы D_{F-1}

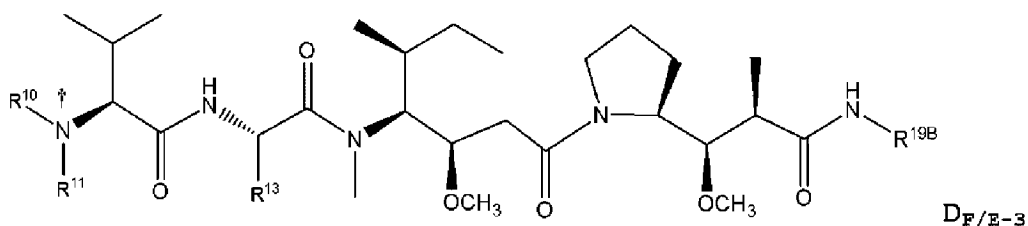
где R^{21} представляет собой X^1-S-R^{21a} или X^1-Ar , где X^1 представляет собой C_1-C_6 алкилен, R^{21a} представляет собой C_1-C_4 алкил и Ar представляет собой фенил или C_5-C_6 гетероарил; и

$-Z-$ представляет собой $-O-$ и R^{20} представляет собой C_1-C_4 алкил, или

$-Z-$ представляет собой $-NH-$ и R^{20} представляет собой фенил или C_5-C_6 гетероарил.

Вариант осуществления 42. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 40, где содержащее вторичный амин ауристатиновое

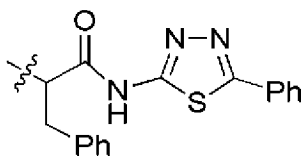
соединение имеет структуру формулы. В предпочтительных вариантах осуществления ауристатиновое лекарственное соединение имеет структуру формулы **D_{F/E-3}**:



где один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил;

R^{13} представляет собой изопропил или $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$; и

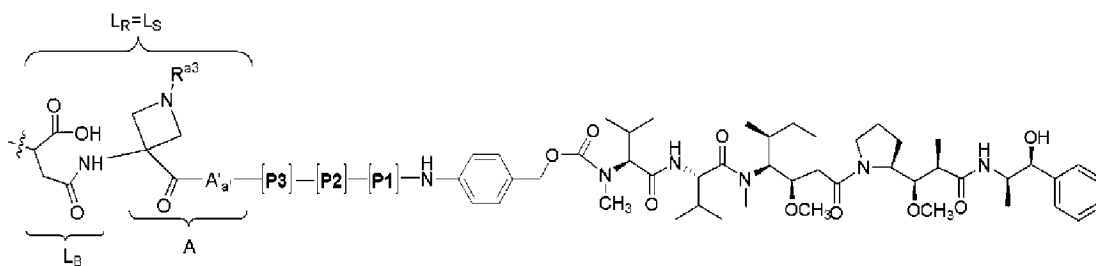
R^{19B} представляет собой $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{OH})-\text{Ph}$, $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})$ -2-тиазолил, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})$ -2-пиридил, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{-p-Cl-Ph})$, $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{Me})-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{Me})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3)\text{C}(=\text{O})\text{NH}$ -хинол-3-ил, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})\text{C}(=\text{O})\text{NH}$ -p-Cl-Ph, или



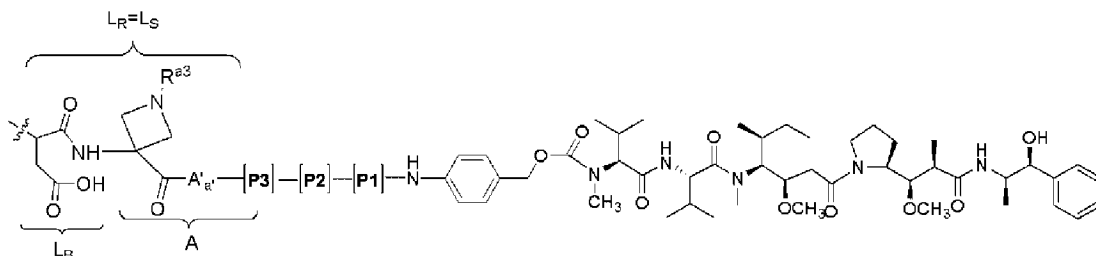
R^{19B} имеет структуру , где волнистая линия указывает ковалентное присоединение к остальной части ауристатинового соединения.

Вариант осуществления 43. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 40, где содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение представляет собой монометилауристатин E (MMAE) или монометилауристатин F (MMAF).

Вариант осуществления 44. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 1, где нижний индекс q равен 1, и большая часть соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство содержат фрагменты лекарственное средство-линкер, представленные структурами формулы 1C-MMAE и формулы 1D-MMAE:



(Формула 1C-MMAE)



(Формула 1D-MMAE)

или их соли, в частности фармацевтически приемлемые соли, где

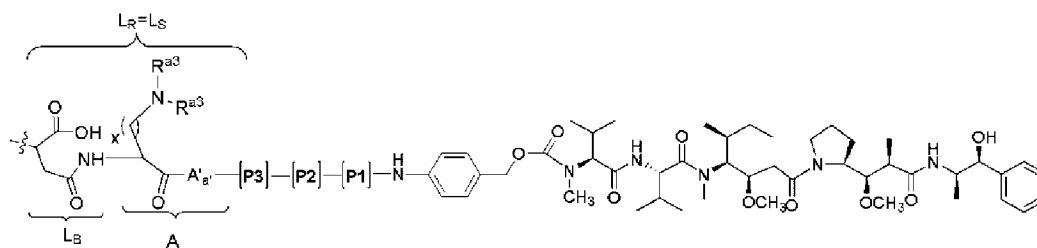
A' представляет собой субъединицу, если присутствует, указанного первого Удлиняющего Компонента (A), имеющую структуру формулы **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** варианта осуществления 22, или α-аминокислоту или β-аминокислотный остаток, в частности -NH-CH₂CH₂-C(=O)-;

R^{a3} представляет собой -H, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, необязательно замещенный -C₁-C₄ алкилен-(C₆-C₁₀ арил) или -R^{PEG1}-O-(CH₂CH₂O)₁₋₃₆-R^{PEG2}, где R^{PEG1} представляет собой C₁-C₄ алкилен, R^{PEG2} представляет собой -H или C₁-C₄ алкилен, и где основной азот, связанный с R^{a3}, является необязательно протонированным в форме соли, предпочтительно в форме фармацевтически приемлемой соли, или

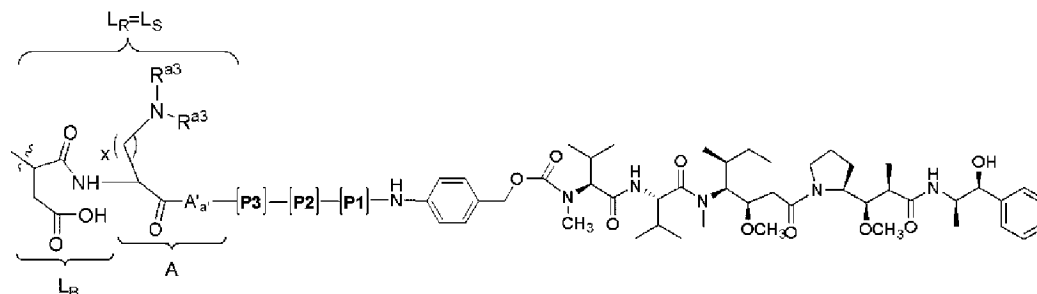
R^{a3} представляет собой азот-защитную группу, такую как подходящая кислотолабильная защитная группа; и

волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы Лигандного Компонента.

Вариант осуществления 45. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 1, где нижний индекс q равен 1, и большая часть соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство содержат фрагменты лекарственное средство-линкер, представленные структурами формулы 1F-MMAE и формулы 1G-MMAE:



(Формула 1 F-MMAE)



(Формула 1G-MMAE)

или их соли, в частности фармацевтически приемлемые соли, где

A' представляет собой субъединицу, если присутствует, указанного первого Удлиняющего Компонента (A), имеющую структуру формулы **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** варианта осуществления 22, или α-аминокислоту или β-аминокислотный остаток, в частности -NH-CH₂CH₂-C(=O)-;

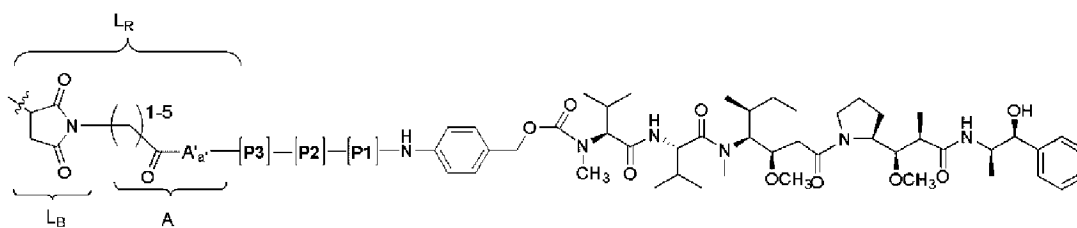
нижний индекс x равен 1 или 2;

R^{a3} в каждом случае независимо представляет собой азот-защитную группу, -Н или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, предпочтительно -Н, кислотолабильную защитную группу, $-CH_3$ или $-CH_2CH_3$,

или оба R^{а3} вместе с азотом, с которым они связаны, определяют азот-защитную группу или гетероцикл из азетидинил, пирролидинил или пиперидинил, в которых основной первичный, вторичный или третичный амин, определенный таким образом, является необязательно протонированным в форме соли, предпочтительно в форме фармацевтически приемлемой соли; и

волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы Лигандного Компонента.

Вариант осуществления 46. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 1, где нижний индекс q равен 1, и соединения-конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство преимущественно содержат фрагменты лекарственное средство-линкер формулы 1H-MMAE:



(Формула 1H-MMAE)

или соль вышеуказанного соединения, в частности фармацевтически приемлемую соль, и при этом необязательно содержится небольшое количество соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, в которых один или несколько из фрагментов лекарственное средство-линкер в каждом из таких соединений имеет сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и где

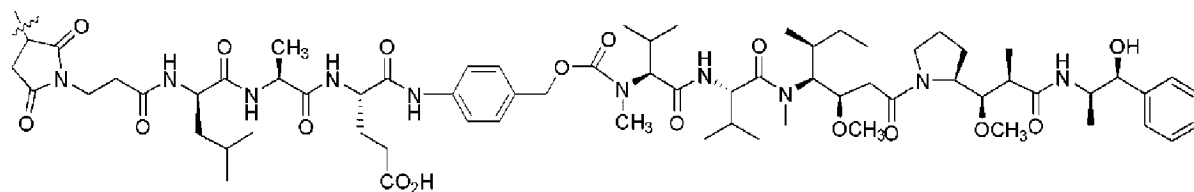
A' представляет собой субъединицу, если присутствует, указанного первого Удлиняющего Компонента (A), имеющую структуру формулы **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** варианта осуществления 22, или α -аминокислоту или β -аминокислотный остаток, в частности $-\text{NH}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-$;

нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A'; и

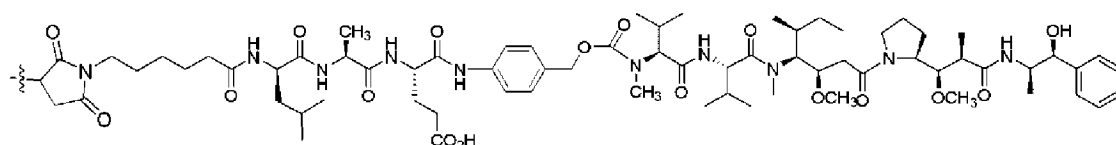
волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы Лигандного Компонента.

Вариант осуществления 47. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 44, 45 или 46, где P1 представляет собой L-Glu или L-Asp, P2 представляет собой L-Val или L-Ala и P3 представляет собой L-Leu или D-Leu.

Вариант осуществления 48. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 1, где нижний индекс q равен 1, и где преобладающий фрагмент лекарственное средство-линкер в большинстве соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство композиции представлен структурой:



или



или соль вышеуказанного соединения, в частности фармацевтически приемлемая соль, и при этом необязательно содержится небольшое количество соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, в которых один или несколько из фрагментов лекарственное средство-линкер в каждом из таких соединений имеет

сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме

Вариант осуществления 49. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-48, где L представляет собой Лигандный Компонент, включающий антитело, представляющее собой интактное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

Вариант осуществления 50. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 49, где интактное антитело или его фрагмент способны селективно связываться с антигеном раковой клетки.

Вариант осуществления 51. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство варианта осуществления 49, где интактное антитело представляет собой химерное, гуманизированное или человеческое антитело, где антитело способно селективно связываться с антигеном раковой клетки, или антитело представляет собой не связывающееся контрольное антитело, определяющее, таким образом, композицию не связывающегося контрольного конъюгата.

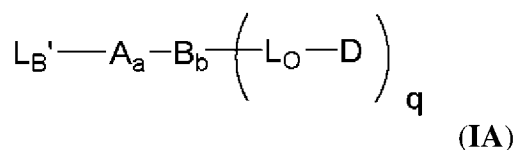
Вариант осуществления 52. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство любого из вариантов осуществления 1-51, где нижний индекс p имеет значение от около 2 до около 12, или от около 2 до около 10, или от около 2 до около 8, в частности нижний индекс p имеет значение около 2, около 4 или около 8.

Вариант осуществления 53. Фармацевтически приемлемая композиция, где композиция включает эффективное количество композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство или эквивалентное количество не связывающегося контрольного конъюгата любого из вариантов осуществления 1-36 и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент.

Вариант осуществления 54. Фармацевтически приемлемая композиция варианта осуществления 53, где по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент представляет собой жидкий носитель, который обеспечивает жидкую композицию, где жидкая композиция является подходящей для лиофилизации или введения субъекту, нуждающемуся в этом.

Вариант осуществления 55. Фармацевтически приемлемая композиция варианта осуществления 53, где композиция представляет собой твердое вещество после лиофилизации или жидкую композицию варианта осуществления 54, где по меньшей мере один эксципиент твердой композиции представляет собой лиопротектор.

Вариант осуществления 56. Соединение Лекарственное средство-Линкер формулы IA:



или его соль, где

D представляет собой Лекарственный Компонент;

L_B представляет собой предшественник ковалентно связывающегося с лигандом фрагмента;

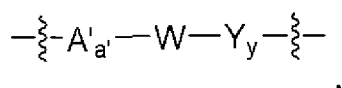
A представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент;

нижний индекс a равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A, соответственно;

B представляет собой необязательный Разветвляющийся Компонент;

нижний индекс b равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие B, соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, где вторичный линкер имеет формулу;



где волнистая линия смежная с Y указывает место ковалентного присоединения L_O к Лекарственному Компоненту, а волнистая линия смежная с A' указывает место ковалентного присоединения к остальной части соединения Лекарственное средство-Линкер;

A' представляет собой второй необязательный Удлиняющий Компонент, который в отсутствие B становится субъективной A;

нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A', соответственно;

W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент, где Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой непрерывную последовательность до 12 аминокислот, где последовательность включает придающий селективность трипептид, N-конец которого обеспечивает амидную связь, которая селективно расщепляется гомогенатом опухолевой ткани для высвобождения свободного лекарственного средства по сравнению с гомогенатом нормальной ткани и/или обеспечивает улучшенную биодоступность в опухолевой ткани соединения-конъюгата Лиганд-Лекарственное средство формулы 1 варианта осуществления 1, в котором соединение Лекарственное средство-Линкер становится фрагментом лекарственное средство-линкер Конъюгата, в ущерб биодоступности в нормальной ткани по сравнению с сравнительным Конъюгатом Лиганд-Лекарственное средство, в котором пептидная последовательность его Пептидного Расщепляемого Компонента представляет собой дипептид -валин-цитруллин-;

где опухолевая и нормальная ткани происходят от одного вида, и где нежелательное явление, связанное с высвобождением свободного лекарственного средства из сравнительного Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство при введении в эффективном количестве субъекту, нуждающемуся в этом, является результатом его токсичности в отношении клеток нормальной ткани.

Y представляет собой саморасщепляющийся Спейсерный Компонент;

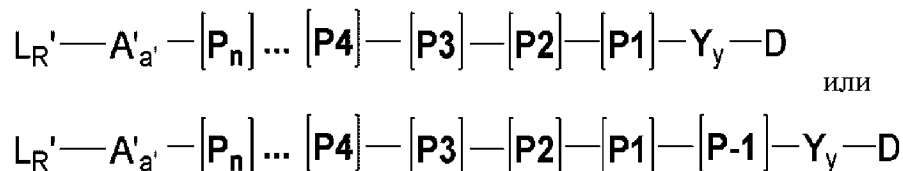
нижний индекс y равен 0, 1 или 2, указывая на отсутствие или присутствие 1 или 2

Y, соответственно; и

нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 4,

при условии, что нижний индекс q равен 1, когда нижний индекс b равен 0, и нижний индекс q имеет значение 2, 3 или 4, когда нижний индекс b равен 1.

Вариант осуществления 57. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 56, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет формулу:



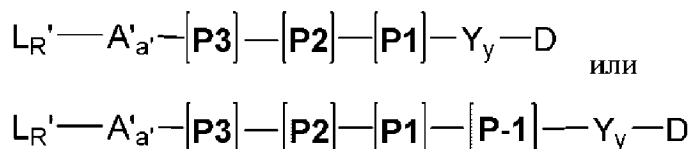
или его соль, где

L_R' представляет собой первичный линкер формулы $L_B' - A_a - B_b -$, при условии, что A' представляет собой субъединицу A, таким образом, A' является компонентом L_R' , когда нижний индекс a и a' каждый равен 1 и нижний индекс b равен 0; и

каждый P представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности Пептидного Расщепляемого Компонента, и при этом нижний индекс n представляет собой целое число, предусматривающее до 12 этих остатков,

где $-[P_3] - [P_2] - [P_1] -$ последовательности представляет собой придающий селективность трипептид.

Вариант осуществления 58. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 57, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет формулу:



или его соль,

где L_R' представляет собой первичный линкер формулы $L_B' - A_a - B_b -$, при условии, что A' представляет собой субъединицу A, таким образом, A' является компонентом L_R' , когда нижний индекс a и a' каждый равен 1 и нижний индекс b равен 0; и

где каждый P представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности Пептидного Расщепляемого Компонента, где $-[P_3] - [P_2] - [P_1] -$ последовательности представляет собой придающий селективность трипептид.

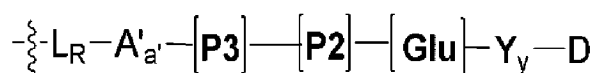
Вариант осуществления 59. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 58, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет формулу:



или его соль, где P1 представляет собой L-аминокислотный остаток, имеющий при физиологическом pH отрицательно заряженную боковую цепь или не имеющую положительный заряд полярную боковую цепь.

Вариант осуществления 60. Соединение Лекарственное средство-Линкер любого из вариантов осуществления 56-59, где P1 представляет собой L-аминокислотный остаток, выбранный из группы, состоящей из глутаминовой кислоты, метионин-сульфоксида, аспарагиновой кислоты, (S)-3-аминопропан-1,1,3-трикарбоновой кислоты и фосфотреонина.

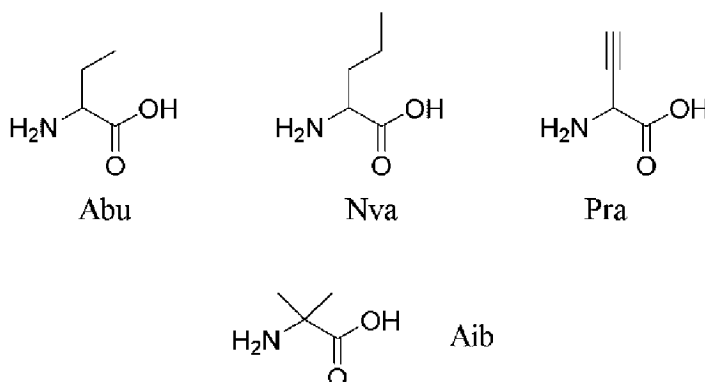
Вариант осуществления 61. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 56, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет формулу:



или его соль, в частности фармацевтически приемлемая соль, где каждый P представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности Пептидного Расщепляемого Компонента.

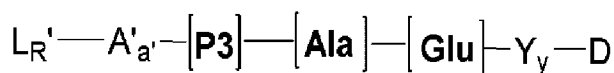
Вариант осуществления 62. Соединение Лекарственное средство-Линкер любого из вариантов осуществления 56-61, где P2 представляет собой остаток глицин или L-аминокислоту, боковая цепь которого содержит не более трех смежных атомов углерода.

Вариант осуществления 63. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 62, где P2 аминокислота представляет собой L-аланин, L-валин или глицин или неприродную аминокислоту, где неприродная аминокислота представляет собой Abu, Aib, Ala, Gly, Leu, Nva или Pra, которые имеют структуры:



где боковые цепи Abu, Nva и Pra находятся в одинаковой стереохимической конфигурации L-аминокислоты.

Вариант осуществления 64. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 63, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет формулу:



или его соль, где P3 представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности Пептидного Расщепляемого Компонента.

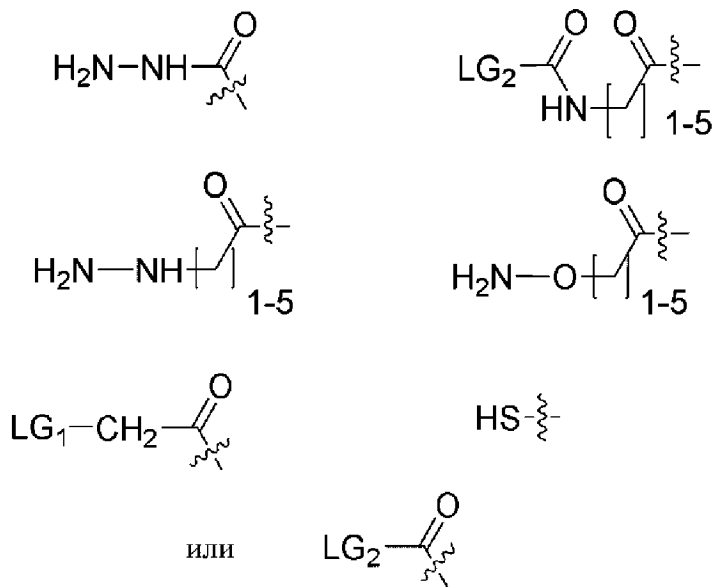
Вариант осуществления 65. Соединение Лекарственное средство-Линкер любого из вариантов осуществления 56-64, где P3 представляет собой D-аминокислоту, боковая цепь которой является незаряженной при физиологическом pH.

Вариант осуществления 66. Соединение Лекарственное средство-Линкер любого из вариантов осуществления 56-64, где P3 представляет собой D-Leu, L-Leu, L-Cit или L-Pro, предпочтительно D-Leu.

Вариант осуществления 67. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 66, где $-[P3]-[P2]-[P1]-$ представляет собой $-D-Leu-Ala-Glu-$ или его соль, в частности фармацевтически приемлемую соль.

Вариант осуществления 68. Соединение Лекарственное средство-Линкер любого из вариантов осуществления 56-67, где L_B' представляет собой малеимидную группу, способную к взаимодействию с тиоловой функциональной группой нацеливающего фрагмента с образованием тиио-замещенного сукцинимидного фрагмента.

Вариант осуществления 69. Соединение Лекарственное средство-Линкер любого из вариантов осуществления 56-67, где $L_B'-A-$ имеет или включает одну из следующих структур:



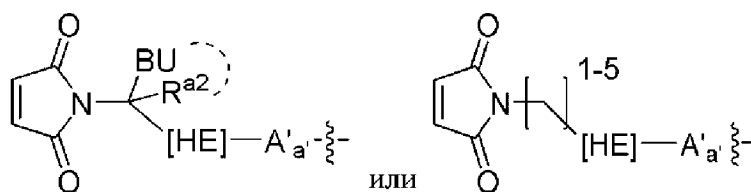
или соль вышеуказанного соединения, где

LG_1 представляет собой удаляемую группу, подходящую для нуклеофильного вытеснения нуклеофилом нацеливающего агента;

LG_2 представляет собой удаляемую группу, подходящую для образования амидной связи с нацеливающим агентом, или $-OH$ с получением активируемой карбоновой кислоты, подходящей для образования амидной связи с нацеливающим агентом; и

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к остальной части структуры соединения Лекарственное средство-Линкер.

Вариант осуществления 70. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 69, где нижний индекс q равен 1 и $L_B'-A-$ имеет структуру:



или соль вышеуказанного соединения, где

волнистая линия смежная с A'_a указывает место ковалентного присоединения к Пептидному Расщепляемому Компоненту;

[HE] представляет собой необязательный Усиливающий Гидролиз Компонент, который представляет собой компонент, обеспечиваемый A или его первой субъединицей;

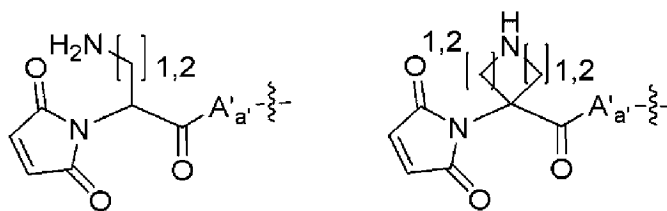
BU представляет собой Основной Компонент;

R^{a2} представляет собой необязательно замещенную C_1-C_{12} алкильную группу; и

изогнутая пунктирная линия указывает необязательную циклизацию, таким образом, в отсутствие указанной циклизации BU представляет собой ациклический Основной Компонент, содержащий первичную, вторичную или третичную аминую функциональную группу в качестве основной функциональной группы ациклического Основного Компонента, или в присутствии указанной циклизации BU представляет собой циклизованный Основной Компонент, в котором R^{a2} и BU вместе с атомом углерода, с которым оба связаны, определяют необязательно замещенный спиро C_3-C_{20} гетероцикло, содержащий скелетный основной атом азота вторичной или третичной аминовой функциональной группы в качестве основной функциональной группы циклического Основного Компонента,

где основной атом азота ациклического Основного Компонента или циклического Основного Компонента необязательно подходяще защищен азот-защитной группой, в зависимости от степени замещения основного атома азота, или является необязательно протонированным в виде кислотно-аддитивной соли.

Вариант осуществления 71. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 70, где $L_B'-A-$ имеет структуру:



или соль вышеуказанного соединения, в частности в виде кислотно-аддитивной соли, или где $L_B'-A-$ имеет структуру:

[illegible]

или R^{43}, R^{44} вместе с L' , с которым оба связаны, когда L' представляет собой атом

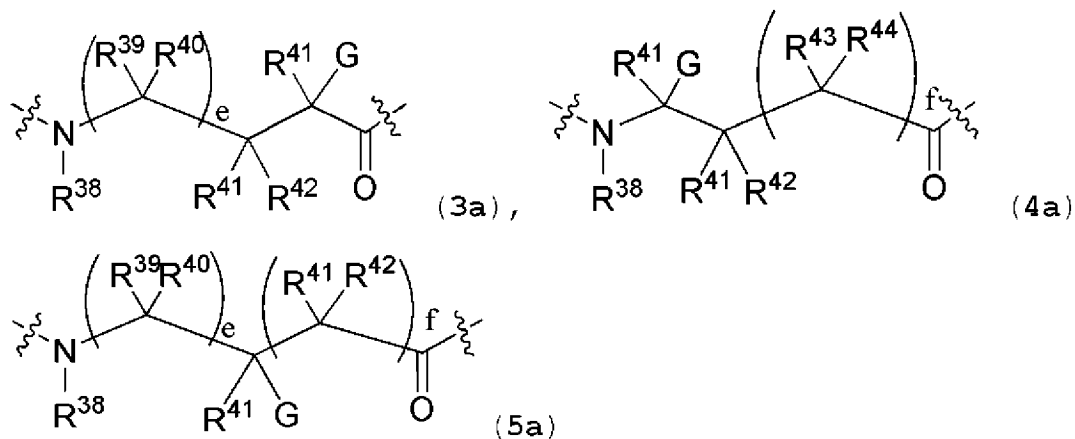
углерода, определяют C₃-C₆ карбоцикло, и R³⁹-R⁴² имеют значение, определенное в настоящей заявке,

или R⁴⁰ и R⁴¹, или R⁴⁰ и R⁴³, или R⁴¹ и R⁴³ вместе с атомом углерода или гетероатомом, с которым оба связаны, и атомами, находящимися между этими атомами углерода и/или гетероатомами, определяют C₅-C₆ карбоцикло или C₅-C₆ гетероцикло, и R³⁹, R⁴⁴ и остальные из R⁴⁰-R⁴³ имеют значение, определенное в настоящей заявке,

при условии, что когда К представляет собой О или S, R⁴¹ и R⁴² отсутствуют, и когда К представляет собой N, один из R⁴¹, R⁴² отсутствует, и когда L' представляет собой О или S, R⁴³ и R⁴⁴ отсутствуют, и когда L' представляет собой N, один из R⁴³, R⁴⁴ отсутствует, или

А' включает альфа-амино, бета-амино или другой амин-содержащий кислотный остаток, где его атом азота амина ковалентно связан с карбонильным атомом углерода НЕ, и его карбонильный атом углерода карбоновой кислоты ковалентно связан с остальной частью А' или с N-концевой аминокислотой Пептидного Расщепляемого Компонента, где оба ковалентные присоединения происходят через амидные функциональные группы.

Вариант осуществления 73. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 72, где А' представляет собой амин-содержащий кислотный остаток, имеющий структуру формулы 3а, формулы 4а или формулы 5а:



или его соль, где

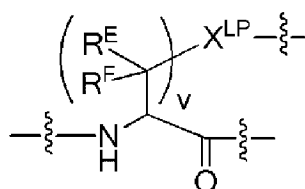
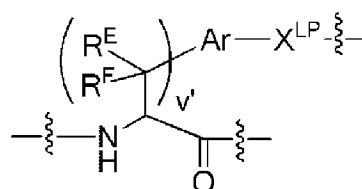
нижние индексы е и f независимо имеют значение 0 или 1; и

R³⁸-R⁴⁴ каждый представляет собой водород;

или А' представляет собой α-амино или β-аминокислотный остаток.

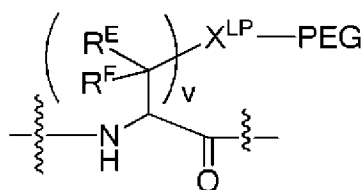
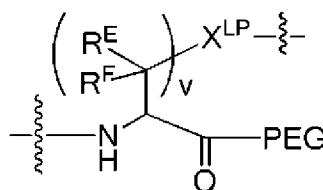
Вариант осуществления 74. Соединение Лекарственное средство-Линкер любого из вариантов осуществления 56-71, где нижний индекс q равен 1 и А' включает β-аминокислотный остаток или -L^P(ПЭГ)-,

где L^P представляет собой Параллельный Соединительный Компонент, имеющий структуру формулы L^P-1 или L^P-2:

(Формула L^P-1)(Формула L^P-2)

или

где $-L^P$ (ПЭГ)- или его ПЭГ-содержащая субъединица имеет структуру формулы L^P-3 или формулы L^P-4 :

(Формула L^P-3)(Формула L^P-4)

где нижний индекс v представляет собой целое число от 1 до 4;

нижний индекс v' представляет собой целое число в пределах от 0 до 4;

X^{LP} обеспечивается боковой цепью природной или не природной аминокислоты или выбран из группы, состоящей из $-O-$, $-NR^{LP}-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-C(=O)-$, $-C(=O)N(R^{LP})-$, $-N(R^{LP})C(=O)N(R^{LP})-$ и $-N(R^{LP})C(=NR^{LP})N(R^{LP})-$ или C_3-C_8 гетероцикло;

где каждый R^{LP} независимо выбран из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного C_1-C_6 алкила, или два из R^{LP} вместе вместе с атомами углерода, с которым они связаны, и их промежуточными атомами определяют C_5-C_6 гетероцикло, и любые остальные R^{LP} имеют значение, определенное выше;

Ar представляет собой C_6-C_{10} арилен или C_5-C_{10} гетероарилен, необязательно замещенный;

каждый R^E и R^F независимо выбран из группы, состоящей из $-H$, необязательно замещенного C_1-C_6 алкила, необязательно замещенного C_2-C_6 алкилена, необязательно замещенного C_6-C_{10} арилена или необязательно замещенного C_5-C_{10} гетероарилена,

или R^E и R^F вместе с атомом углерода, с которым оба связаны, определяет необязательно замещенный спиро C_3-C_6 карбоцикло, или R^E и R^F от смежных атомов углерода вместе с этими атомами и любыми промежуточными атомами углерода определяют необязательно замещенный C_5-C_6 карбоцикло, при этом любые остальные R^E и R^F имеют значение, определенное ранее;

где одна из волнистых линий указывают точку ковалентного присоединения ПЭГ Компонента, а две другие волнистые линии указывают ковалентное присоединение формулы L^P-1 или формулы L^P-2 в структуре, представляющей соединение Лекарственное средство-Линкер, или

L^P представляет собой Параллельный Соединительный Компонент, имеющий

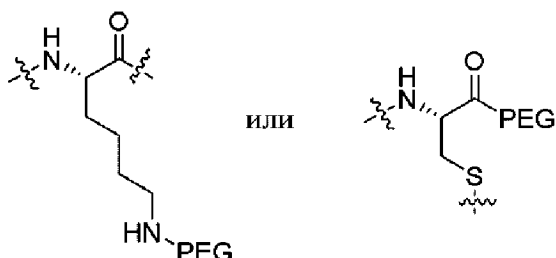
структуру три-функционального амин-содержащего кислотного остатка; и

ПЭГ представляет собой ПЭГ Компонент.

Вариант осуществления 75. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 74, где А' включает β-аминокислотный остаток или -L^P(ПЭГ)-,

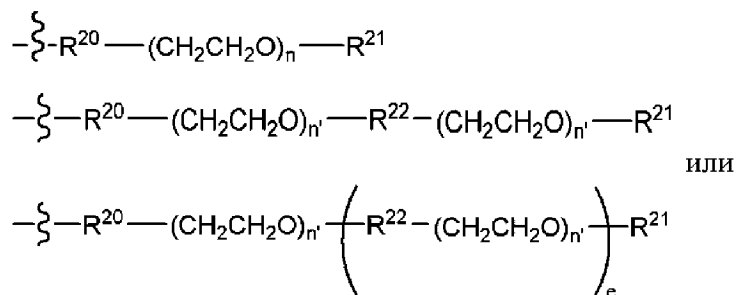
где β-аминокислотный остаток имеет структуру -NHCH₂CH₂C(=O)-; и

где -L^P(ПЭГ)- имеет структуру:



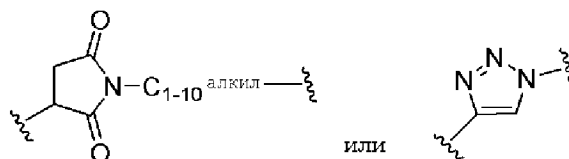
где волнистые линии указывают сайты ковалентного присоединения в фрагменте лекарственное средство-линкер.

Вариант осуществления 76. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 74 или 75, где ПЭГ Компонент имеет структуру:



где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к L^P;

R²⁰ представляет собой ПЭГ-присоединяющий Компонент, где ПЭГ-присоединяющий Компонент представляет собой -C(O)-, -O-, -S-, -S(O)-, -NH-, -C(O)O-, -C(O)C₁-C₁₀ алкил, -C(O)C₁-C₁₀ алкил-O-, -C(O)C₁-C₁₀ алкил-CO₂-, -C(O)C₁-C₁₀алкил-NH-, -C(O)C₁-C₁₀ алкил-S-, -C(O)C₁-C₁₀алкил-C(O)-NH-, -C(O)C₁-C₁₀алкил-NH-C(O)-, -C₁-C₁₀ алкил, -C₁-C₁₀алкил-O-, -C₁-C₁₀алкил-CO₂-, -C₁-C₁₀алкил-NH-, -C₁-C₁₀ алкил-S-, -C₁-C₁₀ алкил-C(O)-NH-, -C₁-C₁₀ алкил-NH-C(O)-, -CH₂CH₂SO₂-C₁-C₁₀ алкил-, -CH₂C(O)-C₁-C₁₀ алкил-, =N-(O или N)-C₁-C₁₀ алкил-O-, =N-(O или N)-C₁-C₁₀ алкил-NH-, =N-(O или N)-C₁-



C₁₀ алкил-CO₂-, =N-(O или N)-C₁-C₁₀ алкил-S-,

R²¹ представляет собой ПЭГ-кэпирующий Компонент; где ПЭГ-кэпирующий Компонент представляет собой -C₁-C₁₀ алкил, -C₂-C₁₀ алкил-CO₂H, -C₂-C₁₀ алкил-OH, -C₂-

C_{10} алкил- NH_2 , C_2 - C_{10} алкил- $NH(C_1$ - C_3 алкил), или C_2 - C_{10} алкил- $N(C_1$ - C_3 алкил) $_2$;

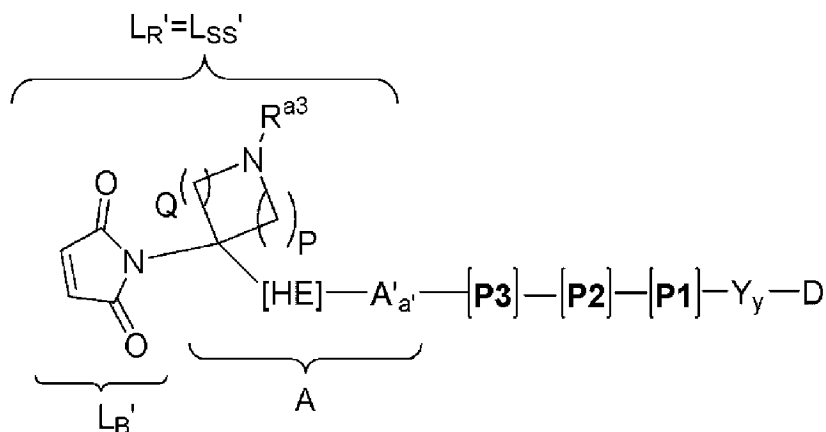
R^{22} представляет собой ПЭГ-связывающий Компонент для связывания множества цепей субъединиц ПЭГ вместе, где ПЭГ-связывающий Компонент представляет собой $-C_{1-10}$ алкил- $C(O)$ - NH -, $-C_{1-10}$ алкил- NH - $C(O)$ -, $-C_{2-10}$ алкил- NH -, $-C_{2-10}$ алкил- O -, $-C_{1-10}$ алкил- S - или $-C_{2-10}$ алкил- NH -;

нижний индекс n независимо выбран из значений от 8 до 72, от 10 до 72 или от 12 до 72;

нижний индекс e выбран из значений от 2 до 5; и

каждый n' независимо выбран из значений от по меньшей мере 6 до не более чем 72, предпочтительно от по меньшей мере 8 или по меньшей мере 10 до не более чем 36.

Вариант осуществления 77. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 56, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру формулы IC:



(Формула IC)

или его соль, где

HE представляет собой Усиливающий Гидролиз Компонент;

A' представляет собой субъединицу, если присутствует, указанного первого Удлиняющего Компонента (A);

нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A' , соответственно;

нижний индекс P равен 1 или 2; и нижний индекс Q находится в пределах от 1 до 6, предпочтительно нижний индекс Q равен 1 или 2, более предпочтительно нижний индекс Q имеет такое же значение, как и нижний индекс P ;

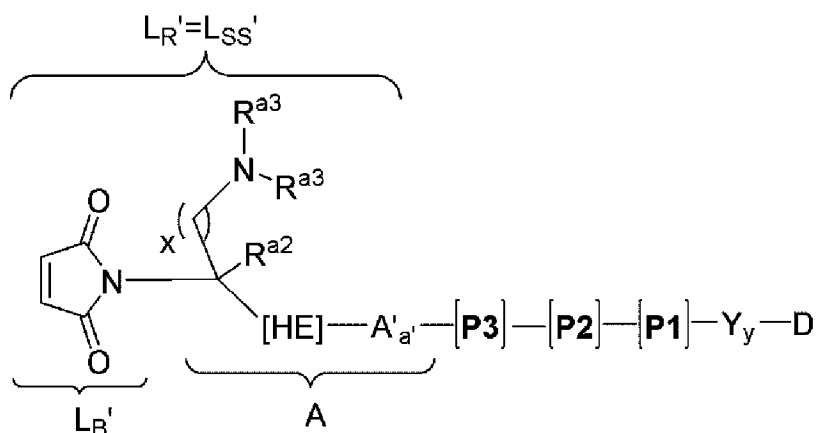
R^{a3} представляет собой $-H$, необязательно замещенный C_1 - C_6 алкил, необязательно замещенный $-C_1$ - C_4 алкилен- $(C_6$ - C_{10} арил) или $-R^{PEG1}-O-(CH_2CH_2O)_{1-36}-R^{PEG2}$, где R^{PEG1} представляет собой C_1 - C_4 алкилен и R^{PEG2} представляет собой $-H$ или C_1 - C_4 алкилен, где основной азот, связанный с R^{a3} , является протонированным в форме соли, или

R^{a3} представляет собой подходящую азот-защитную группу, предпочтительно подходящую кислотолабильную защитную группу; и

каждый P представляет собой аминокислотный остаток непрерывной

аминокислотной последовательности Пептидного Расщепляемого Компонента.

Вариант осуществления 78. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 56, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру формулы IF:



(Формула IF)

или его соль, где

HE представляет собой Усиливающий Гидролиз Компонент;

A' представляет собой субъединицу, если присутствует, указанного первого Удлиняющего Компонента (A);

нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A', соответственно;

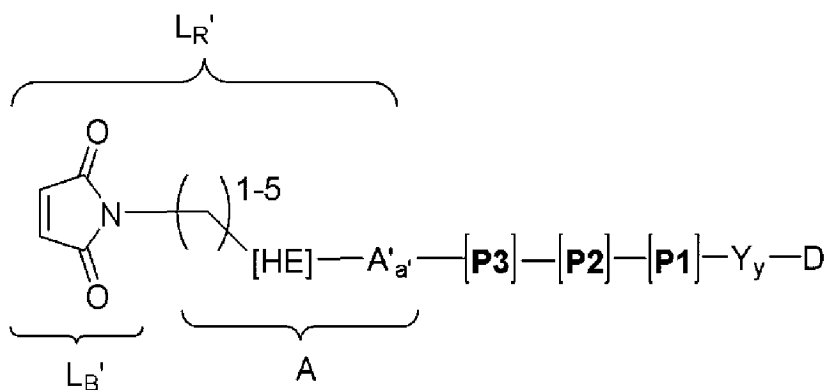
нижний индекс x равен 1 или 2;

R^{a2} представляет собой -H, необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, -CH₃ или -CH₂CH₃;

R^{a3} в каждом случае независимо представляет собой подходящую азот-защитную группу, -H или необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, предпочтительно -H, подходящую кислотолабильную защитную группу, -CH₃ или -CH₂CH₃, при условии, что атом азота, с которым оба R^{a3} связаны, является протонированным в форме соли, когда ни один из R^{a3} не является азот-защитной группой,

или оба R^{a3} вместе с азотом, с которым они связаны, определяют азот-защитную группу или гетероцикл азетидинил, пирролидинил или пиперидинил, в котором основной первичный, вторичный или третичный амин, определенный таким образом, является протонированным в форме соли.

Вариант осуществления 79. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 78, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру формулы IИ:



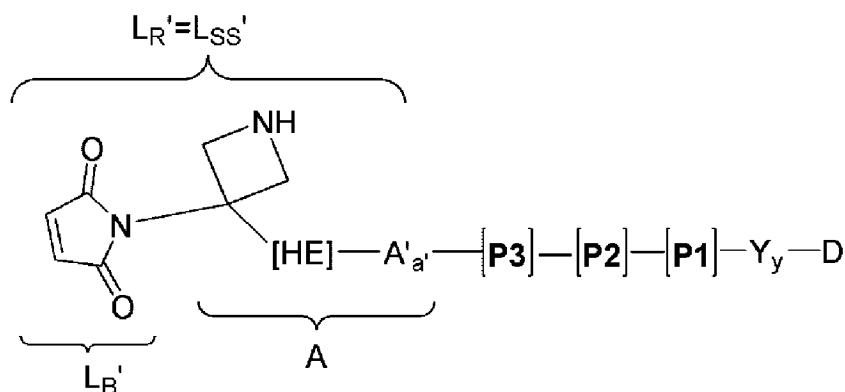
(Формула II)

или его соль,

HE представляет собой Усиливающий Гидролиз Компонент; и

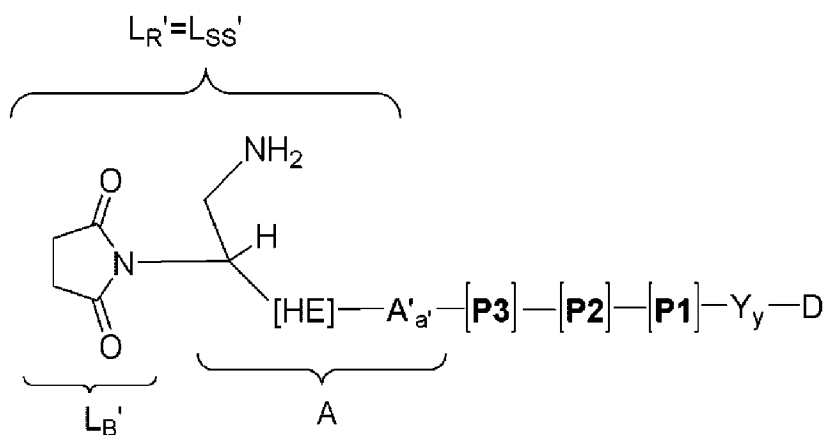
A' представляет собой субъединицу, если присутствует, указанного первого Удлиняющего Компонента (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A'.

Вариант осуществления 80. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 77, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру:



или его соль, где атом азота 4-членного гетероцикло LSS' является протонированным в форме соли.

Вариант осуществления 81. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 56, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру:



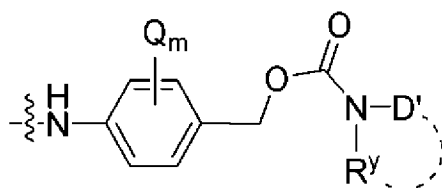
или его соль, где первичный амин L_{SS}' является протонированным в форме соли.

Вариант осуществления 82. Соединение Лекарственное средство-Линкер любого из вариантов осуществления 77-81, где HE представляет собой $-C(=O)$.

Вариант осуществления 83. Соединение Лекарственное средство-Линкер любого из вариантов осуществления 77-81, где HE представляет собой $-C(=O)$, нижний индекс a' равен 1 и A' имеет структуру формулы **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** варианта осуществления 73, или A' представляет собой α -аминокислотный или β -аминокислотный остаток.

Вариант осуществления 84. Соединение Лекарственное средство-Линкер любого из вариантов осуществления 77-83, где $-[P3]-[P2]-[P1]-$ представляет собой D-Leu-Leu-Cit, D-Leu-Leu-Lys, D-Leu-Leu-Met(O), Cit-Ala(Nap)-Thr, D-Leu-Ala-Glu или Pro-Ala(Nap)-Lys, где Met(O) представляет собой метионин, в котором его атом серы окислен до сульфоксида, и Ala(Nap) представляет собой аланин, в котором его метильная боковая цепь замещена нафт-1-илом.

Вариант осуществления 85. Соединение Лекарственное средство-Линкер любого из вариантов осуществления 56-84, где $-Y_y-D$ имеет структуру:



где $-N(R^y)D'$ представляет собой D, где D' представляет собой остальную часть D;

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к P1 или P-1;

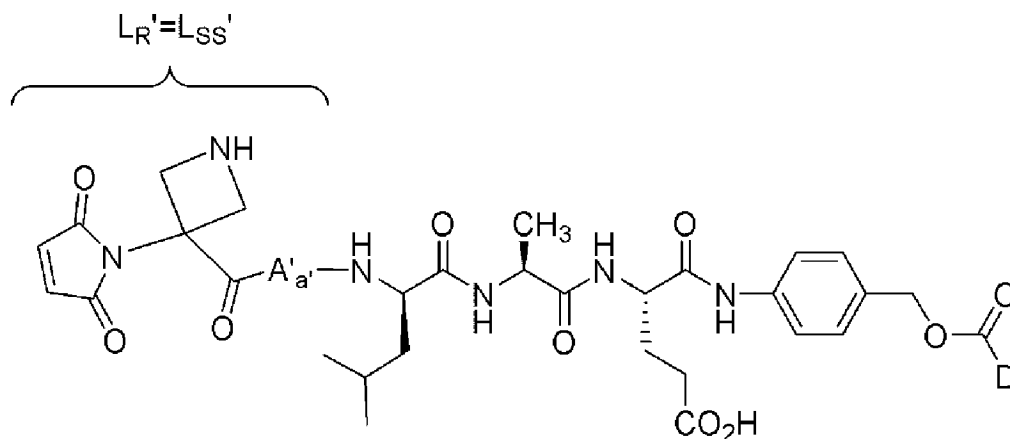
пунктирная линия указывает необязательную циклизацию R^y с D' ;

R^y представляет собой optionally замещенный C_1-C_6 алкил в отсутствие циклизации с D' или optionally замещенный C_1-C_6 алкилен при циклизации с D' ;

каждый Q независимо представляет собой $-C_1-C_8$ алкил, $-O-(C_1-C_8$ алкил) или другую электронодонорную группу, -галоген, -нитро или -циано или другую электроноакцепторную группу, в частности каждый Q независимо выбран из группы, состоящей из $-C_1-C_8$ алкила, $-O-(C_1-C_8$ алкил), галогена, нитро и циано; и

нижний индекс m равен 0, 1 или 2, в частности нижний индекс m равен 0 или 1, и Q , если присутствует, представляет собой электронодонорную группу, предпочтительно нижний индекс m равен 0.

Вариант осуществления 86. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 56, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру:



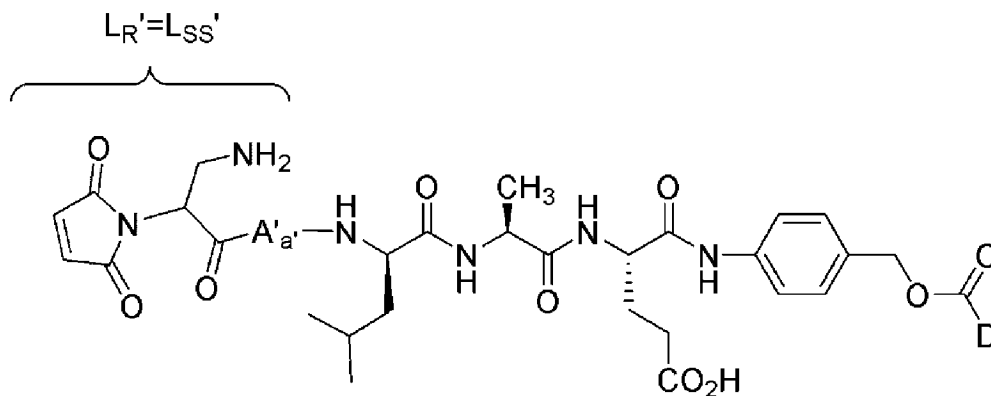
или его соль, где

нижний индекс a' равен 1, указывая на присутствие A' , где A' представляет собой амин-содержащий кислотный остаток формулы **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** варианта осуществления 73, или α -аминокислотный или β -аминокислотный остаток, в частности - $NH-CH_2CH_2-C(=O)-$; и

D представляет собой цитотоксическое лекарственное средство, имеющее вторичную амино группу в качестве сайта присоединения к Линкерному Компоненту соединения Лекарственное средство-Линкер,

где атом азота гетероцикло $L_{SS'}$ является протонированным в форме соли.

Вариант осуществления 87. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 56, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру:



или его соль, где

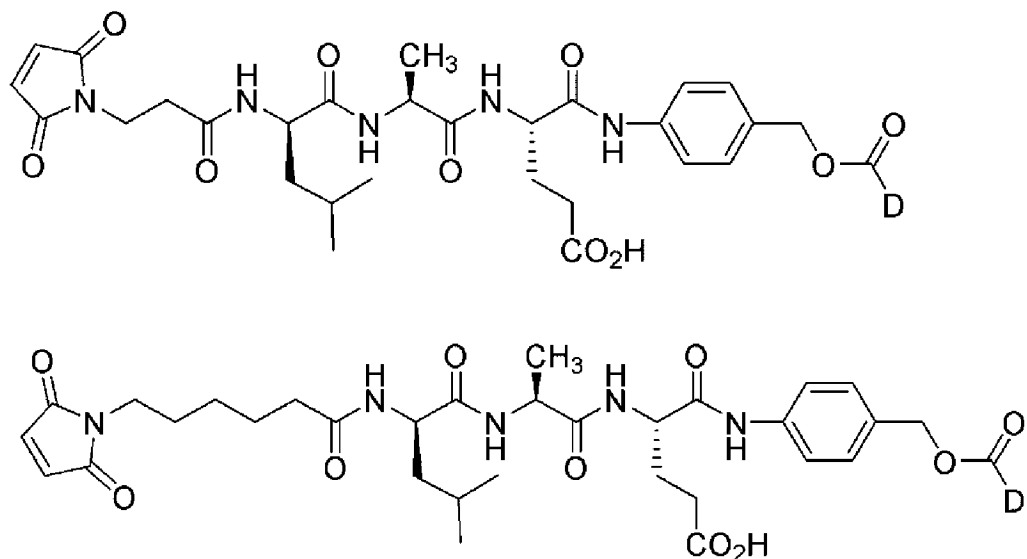
нижний индекс a' равен 1, указывая на присутствие A' , где A' представляет собой амин-содержащий кислотный остаток формулы **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** варианта

осуществления 73, или α -аминокислотный или β -аминокислотный остаток, в частности - $\text{NH-CH}_2\text{CH}_2\text{-C(=O)-}$; и

D представляет собой цитотоксическое лекарственное средство, имеющее вторичную амино группу в качестве сайта присоединения к Линкерному Компоненту соединения Лекарственное средство-Линкер,

где первичный амин L_{SS}' является протонированным в форме соли.

Вариант осуществления 88. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 56, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру:

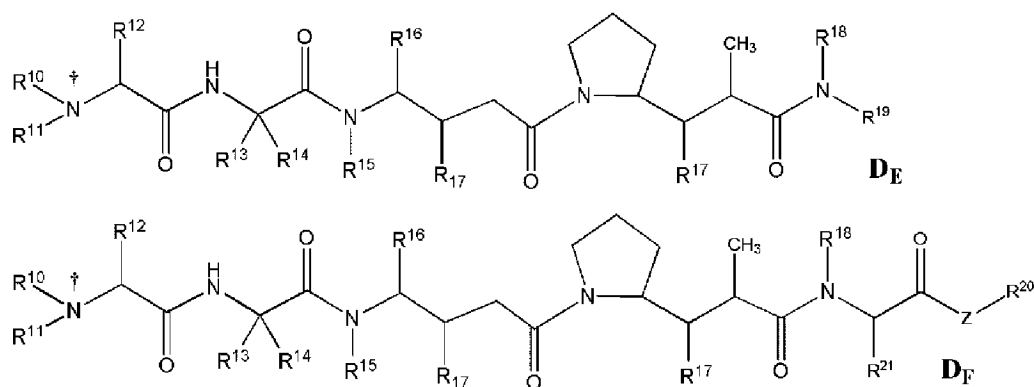


или его соль, где

D представляет собой цитотоксическое лекарственное средство, имеющее вторичную амино группу в качестве сайта присоединения к Линкерному Компоненту соединения Лекарственное средство-Линкер.

Вариант осуществления 89. Соединение Лекарственное средство-Линкер любого из вариантов осуществления 56-88, где нижний индекс y' равен 2, где Y в -Y-Y'-представляет собой первый саморасщепляющийся Спейсерный Компонент, а Y' представляет собой второй саморасщепляющийся Спейсерный Компонент, имеющий структуру -OC(=O)- , и цитотоксическое лекарственное средство представляет собой содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение, где атом азота вторичного амина представляет собой место ковалентного присоединения к карбонильному атому углерода Y' через карбаматную функциональную группу, являющуюся общей для D и Y'.

Вариант осуществления 90. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 89, где содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение имеет структуру формулы D_E или D_F :



где крестик указывает место ковалентного присоединения атома азота, который образует карбаматную функциональную группу,

один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой C_1 - C_8 алкил, предпочтительно один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил;

R^{12} представляет собой водород, C_1 - C_8 алкил, C_3 - C_8 карбоцикл, C_6 - C_{24} арил, $-X^1$ - C_6 - C_{24} арил, $-X^1$ -(C_3 - C_8 карбоцикл), C_3 - C_8 гетероцикл или $-X^1$ -(C_3 - C_8 гетероцикл);

R^{13} представляет собой водород, C_1 - C_8 алкил, C_3 - C_8 карбоцикл, C_6 - C_{24} арил, $-X^1$ - C_6 - C_{24} арил, $-X^1$ -(C_3 - C_8 карбоцикл), C_3 - C_8 гетероцикл и $-X^1$ -(C_3 - C_8 гетероцикл);

R^{14} представляет собой водород или метил, или

R^{13} и R^{14} взятые вместе с углеродом, с которым они связаны, включают спиро C_3 - C_8 карбоцикло;

R^{15} представляет собой водород или C_1 - C_8 алкил;

R^{16} представляет собой водород, C_1 - C_8 алкил, C_3 - C_8 карбоцикл, C_6 - C_{24} арил, $-C_6$ - C_{24} - X^1 -арил, $-X^1$ -(C_3 - C_8 карбоцикл), C_3 - C_8 гетероцикл и $-X^1$ -(C_3 - C_8 гетероцикл);

R^{17} независимо представляют собой водород, -ОН, C_1 - C_8 алкил, C_3 - C_8 карбоцикл и О-(C_1 - C_8 алкил);

R^{18} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 - C_8 алкил;

R^{19} представляет собой $-C(R^{19A})_2-C(R^{19A})_2$ - C_6 - C_{24} арил, $-C(R^{19A})_2-C(R^{19A})_2$ -(C_3 - C_8 гетероцикл) или $-C(R^{19A})_2-C(R^{19A})_2$ -(C_3 - C_8 карбоцикл), где C_6 - C_{24} арил и C_3 - C_8 гетероцикл необязательно замещены;

R^{19A} независимо представляют собой водород, необязательно замещенный C_1 - C_8 алкил, -ОН или необязательно замещенный О- C_1 - C_8 алкил;

R^{20} представляет собой водород или C_1 - C_{20} алкил, C_6 - C_{24} арил или C_3 - C_8 гетероцикл, необязательно замещенный, или $-(R^{47}O)_m-R^{48}$, или $-(R^{47}O)_m-CH(R^{49})_2$;

R^{21} представляет собой $-C_1$ - C_8 алкилен-(C_6 - C_{24} арил) или $-C_1$ - C_8 алкилен-(C_5 - C_{24} гетероарил), необязательно замещенный, или C_1 - C_8 гидроксилалкил, или необязательно замещенный C_3 - C_8 гетероцикл;

Z представляет собой О, S, NH или NR^{46} ;

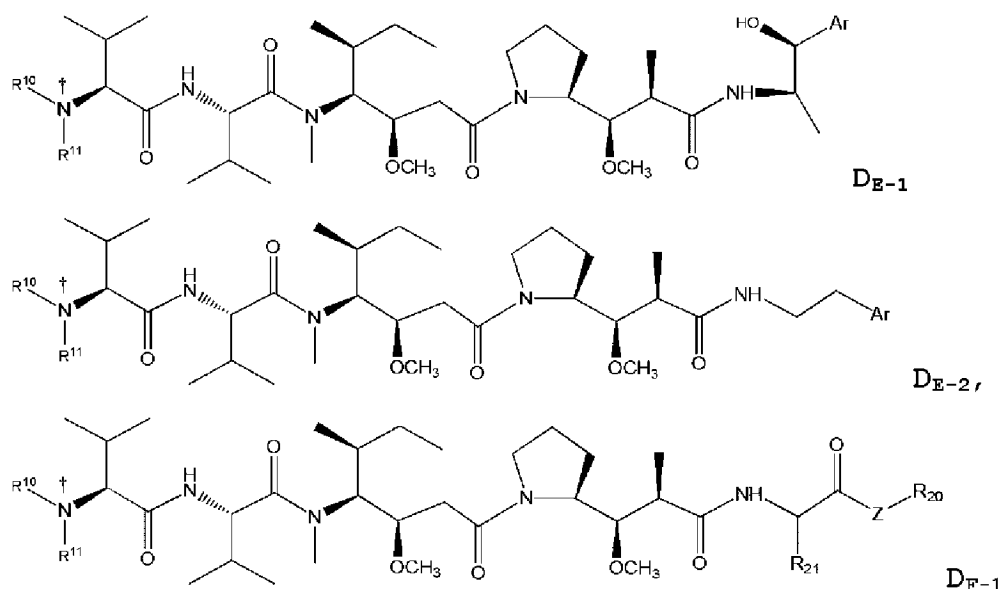
R^{46} представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_8 алкил; нижний индекс m представляет собой целое число в пределах 1-1000;

R^{47} представляет собой C_2 - C_8 алкил; R^{48} представляет собой водород или C_1 - C_8 алкил;

R^{50} независимо представляют собой $-\text{COOH}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-N}(\text{R}^{50})_2$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-SO}_3\text{H}$, или $-(\text{CH}_2)_n\text{-SO}_3\text{-C}_1\text{-C}_8$ алкил; и

R^{50} независимо представляют собой C_1 - C_8 алкил или $-(\text{CH}_2)_n\text{-COOH}$; нижний индекс n представляет собой целое число в пределах от 0 до 6; и X^1 представляет собой C_1 - C_{10} алкилен.

Вариант осуществления 91. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 90, где содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение имеет структуру формулы **D_{E-1}**, формулы **D_{E-2}** или формулы **D_{F-1}**:



где Ar представляет собой C_6 - C_{10} арил или C_5 - C_{10} гетероарил, предпочтительно Ar представляет собой фенил или 2-пиридил;

Z представляет собой $-\text{O}-$ или $-\text{NH}-$; R^{20} представляет собой водород или C_1 - C_6 алкил, C_6 - C_{10} арил или C_5 - C_{10} гетероарил, необязательно замещенный; и R^{21} представляет собой C_1 - C_6 алкил, $-\text{C}_1\text{-C}_6$ алкилен-(C_6 - C_{10} арил) или $-\text{C}_1\text{-C}_6$ алкилен-(C_5 - C_{10} гетероарил), необязательно замещенный.

Вариант осуществления 92. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 91, где содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение имеет структуру формулы **D_{F-1}**,

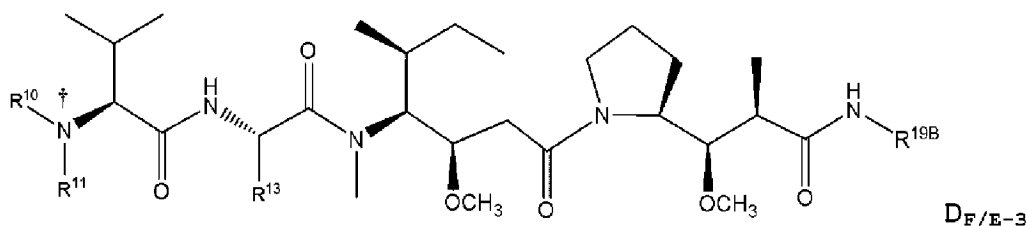
где R^{21} представляет собой $X^1\text{-S-R}^{21a}$ или $X^1\text{-Ar}$, где X^1 представляет собой C_1 - C_6 алкилен, R^{21a} представляет собой C_1 - C_4 алкил и Ar представляет собой фенил или C_5 - C_6 гетероарил; и

$-\text{Z}-$ представляет собой $-\text{O}-$ и R^{20} представляет собой C_1 - C_4 алкил, или

$-\text{Z}-$ представляет собой $-\text{NH}-$ и R^{20} представляет собой фенил или C_5 - C_6 гетероарил.

Вариант осуществления 93. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 91, где содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение

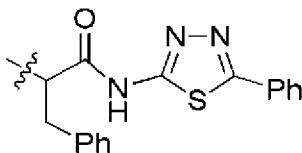
имеет структуру формулы. В предпочтительных вариантах осуществления ауристатиновое лекарственное соединение имеет структуру формулы **D_{F/E-3}**:



где один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил;

R^{13} представляет собой изопропил или $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$; и

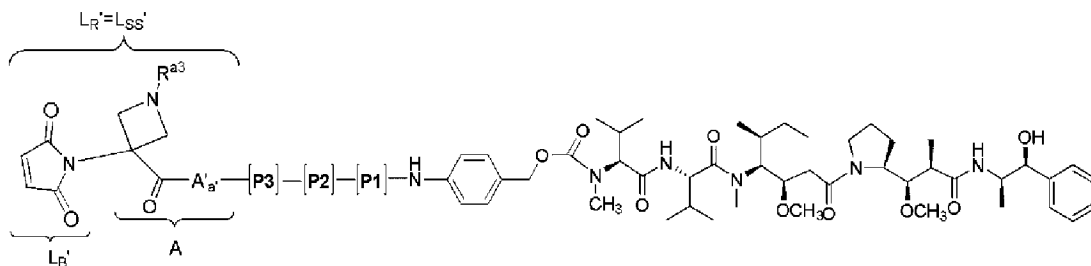
R^{19B} представляет собой $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{OH})-\text{Ph}$, $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})-2$ -тиазолил, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})-2$ -пиридил, $-\text{CH}(\text{CH}_2-p\text{-Cl-Ph})$, $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{Me})-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{Me})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3)\text{C}(=\text{O})\text{NH}$ -хинол-3-ил, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})\text{C}(=\text{O})\text{NH}-p\text{-Cl-Ph}$, или



R^{19B} имеет структуру , где волнистая линия указывает ковалентное присоединение к остальной части ауристатинового соединения.

Вариант осуществления 94. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 91, где содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение представляет собой монометилауристатин E (MMAE) или монометилауристатин F (MMAF).

Вариант осуществления 95. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 56, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру формулы IC-MMAE:



(Формула IC-MMAE)

или его соли, в частности фармацевтически приемлемые соли, где

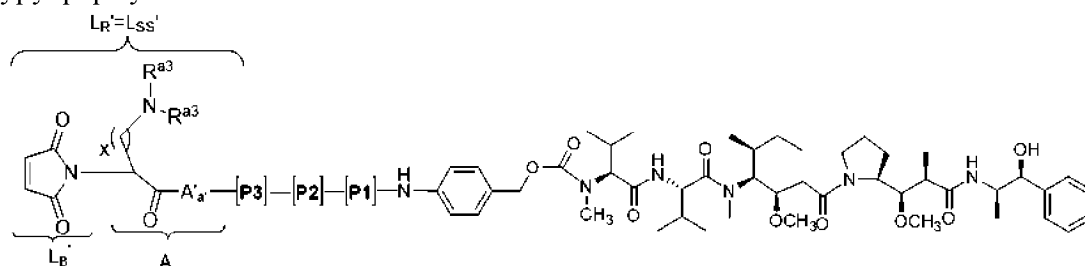
A' представляет собой субъединицу, если присутствует, указанного первого Удлиняющего Компонента (A), имеющую структуру формулы **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** варианта осуществления 73, или α -аминокислотный или β -аминокислотный остаток, в частности $-\text{NH}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-$;

R^{a3} представляет собой -H, необязательно замещенный $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил, необязательно

замещенный $-C_1-C_4$ алкилен- $(C_6-C_{10}$ арил) или $-R^{PEG1}-O-(CH_2CH_2O)_{1-36}-R^{PEG2}$, где R^{PEG1} представляет собой C_1-C_4 алкилен, R^{PEG2} представляет собой $-H$ или C_1-C_4 алкилен, и где основной азот, связанный с R^{a3} , является протонированным в форме соли, или

R^{a3} представляет собой подходящую азот-защитную группу, предпочтительно подходящую кислотолабильную защитную группу.

Вариант осуществления 96. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 56, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру формулы IF-MMAE:



(Формула IF-MMAE)

или его соль, где

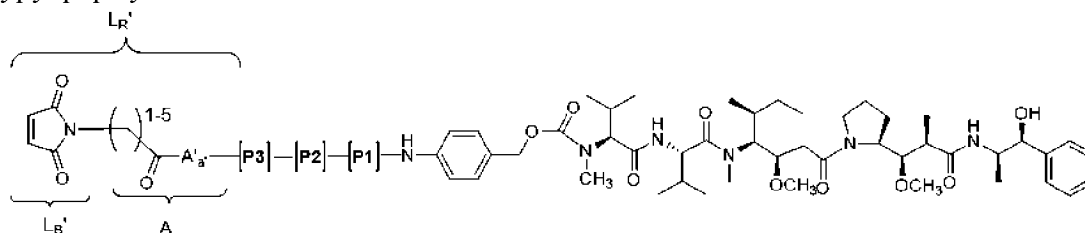
A' представляет собой субъединицу, если присутствует, указанного первого Удлиняющего Компонента (A), имеющую структуру формулы **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** варианта осуществления 73, или α -аминокислотный или β -аминокислотный остаток, в частности $-NH-CH_2CH_2-C(=O)-$;

нижний индекс x равен 1 или 2;

R^{a3} в каждом случае независимо представляет собой подходящую азот-защитную группу, $-H$ или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, предпочтительно $-H$, подходящую кислотолабильную защитную группу, $-CH_3$ или $-CH_2CH_3$, при условии, что атом азота, с которым оба R^{a3} связаны, является протонированным в форме соли, когда ни один из R^{a3} не является азот-защитной группой,

или оба R^{a3} вместе с азотом, с которым они связаны, определяют азот-защитную группу или гетероцикл азетидинил, пирролидинил или пиперидинил, в котором основной первичный, вторичный или третичный амин, определенный таким образом, является протонированным в форме соли.

Вариант осуществления 97. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 56, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру формулы IH-MMAE:



(Формула IH-MMAE)

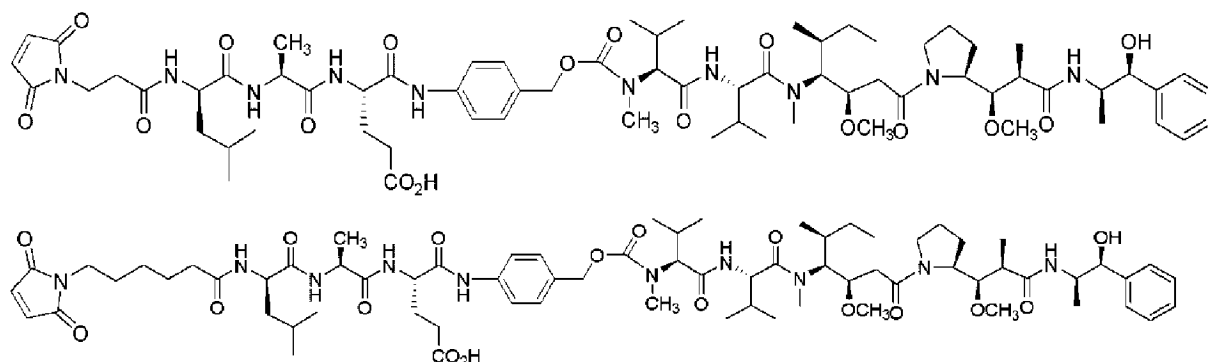
или его соль, где

A' представляет собой субъединицу, если присутствует, указанного первого Удлиняющего Компонента (A), имеющую структуру формулы **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** варианта осуществления 73, или α -аминокислотный или β -аминокислотный остаток, в частности $-\text{NH}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-$;

нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A'.

Вариант осуществления 98. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 95, 96 или 97, где P1 представляет собой L-Glu или L-Asp, P2 представляет собой L-Val или L-Ala, и P3 представляет собой L-Leu или D-Leu.

Вариант осуществления 99. Соединение Лекарственное средство-Линкер варианта осуществления 56, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру:



или его соль.

ПРИМЕРЫ

[0601] **Общая информация.** Все коммерчески доступные безводные растворители использовали без дополнительной очистки. Система СВЭЖХ-МС, используемая для характеристики соединений Лекарственное средство-Линкер на основе трипептида, состояла из масс-детектора Waters SQ, соединенного с системой сверхэффективной ЖХ Acquity, снабженной колонкой с обращенной фазой Acquity UPLC BEH C18, 130 Å, 1,7 мкм, 2,1×50 мм или Waters Cortecs UPLC C18, 90 Å, 1,6 мкм, 2,1×50 мм. Кислотная подвижная фаза (0,1% муравьиной кислоты) состояла из градиента от 3% ацетонитрила/97% воды до 100% ацетонитрила (скорость потока=0,5 мл/мин). Система СВЭЖХ-МС 2 состояла из масс-спектрометра Waters Xevo G2 ToF, соединенного с системой сверхэффективной ЖХ Waters Acquity H-Class, снабженной колонкой с обращенной фазой Acquity UPLC BEH C18 2,1×50 мм, 1,7 мкм. Препаративную ВЭЖХ осуществляли на бинарном градиентном модуле Waters 2545 с детектором с фотодиодной матрицей Waters 2998 или Teledyne ISCO ACCQPrep HP150. Соединения Лекарственное средство-Линкер на основе трипептида очищали на колонке ЖХ C12 Phenomenex Synergi™ 4 мкм Max-RP 80 Å, 250 мм подходящего диаметра, элюируя 0,1% трифторуксусной кислотой в воде (растворитель А) и 0,1% трифторуксусной кислотой в ацетонитриле (растворитель В). Методы очистки, как правило, состояли из линейных градиентов растворителя А - растворителя В, линейно меняющихся от 90% водного растворителя А до 10% растворителя А. Скорость потока устанавливали в соответствии с

требованиями для колонки с мониторингом при 220 нм. Спектральные данные ЯМР собирали на спектрометре Varian Mercury 400 МГц. Химические сдвиги (δ) указаны в млн.д. относительно TMS. Константы взаимодействия (J) указаны в герцах.

[0602] **Цитотоксичность in vitro.** Цитотоксичность Конъюгата Антитело-Лекарственное на основе трипептида измеряли с использованием анализа клеточной пролиферации, используя протокол, описанный в Promega Corp. Technical Bulletin TB288; и Mendoza et al., 2002, Cancer Res. 62:5485-5488), способы которых специально включены посредством ссылки в настоящую заявку. Вкратце, аликвоту 40 мкл клеточной культуры, содержащую около 400 клеток в среде, помещают в каждую лунку 384-луночного планшета с непрозрачными стенками. Аликвоту 10 мкл свободного лекарственного средства или Конъюгата Лиганд-Лекарственное средство добавляют в экспериментальные лунки и инкубируют в течение 96 часов, а затем уравнивают при комнатной температуре в течение примерно 30 минут, после чего добавляют объем реагента CellTiter-Glo™, равный объему среды для культивирования клеток, присутствующей в каждой лунке. Содержимое перемешивают в течение 2 минут на орбитальном шейкере, чтобы вызвать лизис клеток, и планшет инкубируют при комнатной температуре в течение 10 минут, чтобы стабилизировать сигнал люминесценции для регистрации.

[0603] **Флуоресцентный анализ.** В 384-луночный планшет добавляли смесь гомогената опухолевой или нормальной ткани и цитратного буфера (100 mM, pH 4,5; 9 мкл), а затем флуоресцентно меченное соединение библиотеки (1 мкл, растворенное в 50% MeCN). Реакцию инкубировали при 37°C и флуоресценцию (возбуждение 330 нм, испускание 450 нм) регистрировали несколько раз в течение 6 часов. Кратность изменения флуоресценции определяли путем деления значения флуоресценции в каждый момент времени на фоновую флуоресценцию без добавления гомогената.

[0604] **Конъюгация.** Антитело частично восстанавливали с использованием подходящих эквивалентов TCER в соответствии с процедурой US 2005/0238649, которая специально включена посредством ссылки в настоящую заявку. Вкратце, антитело в фосфатно-солевом буфере с 2 mM EDTA, pH 7,4, обрабатывали 2,1 экв. TCER и затем инкубировали при 37°C в течение примерно 45 минут. Значение тиол/Ab проверяли путем взаимодействия восстановленного антитела с соединением 1 и использования хроматографии гидрофобного взаимодействия для определения нагрузки.

[0605] Соединения на основе трипептида ауристатиновое Лекарственное средство-Линкер конъюгировали с частично восстановленным антителом с использованием способа US 2005/0238649, который специально включен посредством ссылки в настоящую заявку. Вкратце, соединение Лекарственное средство-Линкер (50% избыток) в DMSO добавляли к восстановленному антителу в PBS с EDTA вместе с дополнительным количеством DMSO до общего количества используемого в реакции соразтворителя 10-20%. Через 30 минут при температуре окружающей среды к смеси добавляли избыток QuadraSil MP™ для гашения всех непрореагировавших малеимидных групп. Затем полученный Конъюгат Антитело-Лекарственное средство очищали, и заменяли буфер

путем обессоливания с использованием смолы Sephadex G25 на буфер PBS и хранили при -80°C до дальнейшего использования. Концентрацию белка в полученной композиции ADC определяли при 280 нм. Соотношение лекарственное средство-антитело (DAR) в конъюгате определяли при помощи хроматографии гидрофобного взаимодействия (HIC).

[0606] **Цитотоксичность in vivo.** Раковые клетки имплантировали мышам. После того, как опухоль достигла объема 100 мм^3 , ADC, полученный из восстановленного антитела и соединения Лекарственное средство-Линкер на основе трипептида вводили посредством интраперитонеальной инъекции. Затем размер опухоли измеряли два раза в неделю до конца исследования.

[0607] **Гомогенизация тканей.** Нормальную ткань или ткань опухоли из ксенотрансплантатов мыши суспендировали в буфере (50 mM Tris, 150 mM KCl, pH 7,0) и добавляли в пробирку, содержащую лизирующие шарики (mpbio) Matrix D. Ткань гомогенизировали помощи гомогенизатора PrecellysTM 24. Гомогенизированный образец центрифугировали при $1000 \times g$ в течение 10 мин, и полученный супернатант собирали и замораживали при -80°C до дальнейшего использования.

[0608] **Определение токсичности.** Каждое соединение Лекарственное средство-Линкер на основе трипептида подвергали взаимодействию с восстановленным несвязывающим антителом с получением несвязывающего контрольного ADC и вводили внутривенно самкам крыс Sprague Dawley в различных концентрациях. Животных подвергали эвтаназии на 4-й или 28-й день после введения дозы.

[0609] **Пример 1:** Получение пара-азидо-бензилового спирта (Az-PABA)

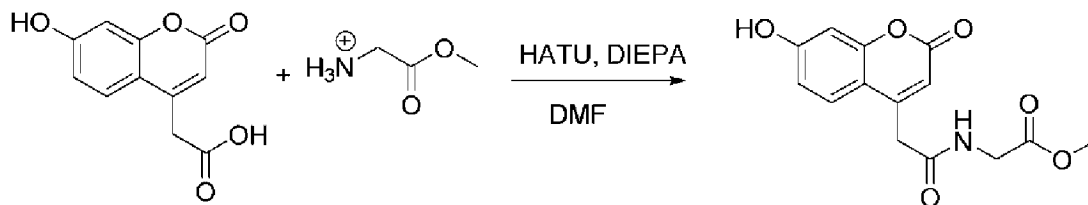
[0610] В круглодонную колбу добавляли пара-амино-бензиловый спирт (100 моль%), суспендированный в 5 M HCl (5 мл на г PABA). Колбу охлаждали до 4°C с последующим добавлением по каплям водного раствора NaNO_2 (150 моль%; 20 мл на грамм PABA). Затем добавляли NaN_3 и реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и инкубировали в течение 16 часов. Реакционную смесь разбавляли насыщенным раствором NaHCO_3 и экстрагировали при помощи EtOAc. Экстракт сушили над MgSO_4 и концентрировали. Продукт очищали с использованием градиента EtOAc/гексан (6%-42% EtOAc) на колонке SNAP-KP-Sil Biotage с получением указанного в заголовке соединения оранжевого вещества (выход 90%). ^1H -ЯМР (d_6 -DMSO) δ 7,38-7,35 (C=CH, д, 2H), 7,11-7,07 (C=CH, д, 2H), 5,25-5,22 (OH, м, 1H), 4,50-4,46 (CH₂, д, 2H)

[0611] **Пример 2:** Получение пара-азидо-бензилбромида.

[0612] В круглодонную колбу добавляли Az-PABA (100 моль%) растворенную в хлороформе в атмосфере азота. К раствору по каплям добавляли добавляли PBr_3 (120 моль%). Реакционную смесь инкубировали в течение 2 ч, после чего ее разбавляли CHCl_3 и промывали 1 M раствором HCl, затем насыщенным солевым раствором. Экстракт сушили над MgSO_4 и концентрировали. Продукт очищали с использованием градиента EtOAc/гексан (6%-42% EtOAc) на колонке SNAP-KP-Sil Biotage с получением указанного в заголовке соединения с выходом 75%.

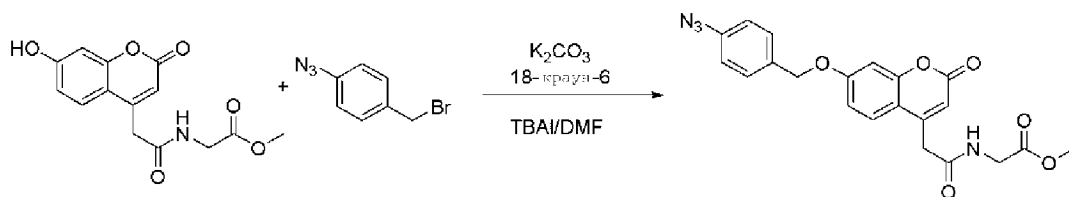
[0613] **Пример 3:** Получение метил (2-(7-гидрокси-2-оксо-2H-хромен-4-

ил)ацетил)глицината (HO-Coum-Gly-OMe).



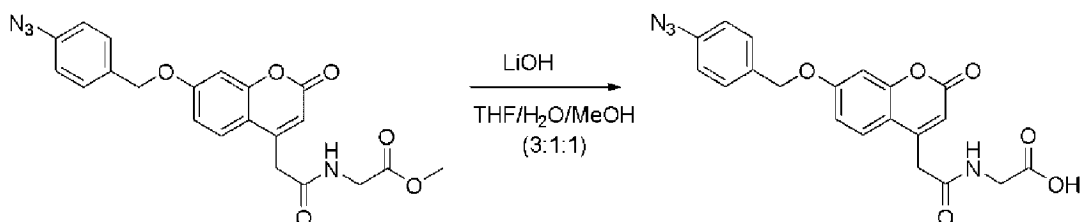
[0614] В сцинтилляционный флакон добавляли H-Gly-OMe (300 моль%), растворенный в DMF и DIPEA (350 моль%). В этот флакон добавляли 2-(6-гидрокси-2-оксо-2H-хромен-4-ил)уксусную кислоту (100 моль%). Затем добавляли DMF до полного растворения обоих реагентов. Затем добавляли HATU (110 моль%) с последующим добавлением DIPEA (110 моль%) и реакционную смесь перемешивали в течение 45 мин. В это время реакционную смесь разводили в EtOAc и промывали 200 mM HCl. Водный слой повторно экстрагировали 3 раза EtOAc. Объединенные органические слои промывали насыщенным солевым раствором, сушили над MgSO₄ и концентрировали с получением указанного в заголовке соединения, которое очищали из кипящего изопропилового спирта с выходом 80%.

[0615] **Пример 4:** Получение метил (2-(7-((4-азидобензил)окси)-2-оксо-2H-хромен-4-ил)ацетил)глицината (Az-PABE-Coum-Gly-OMe)



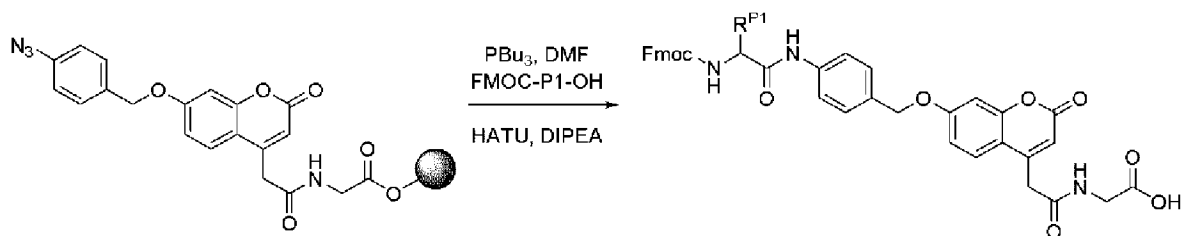
[0616] В круглодонную колбу добавляли HO-Coum-Gly-OMe (300 моль%), K₂CO₃ (150 моль%) и 18-краун-6 эфир (200 моль%), суспендированный в DMF. После 15 минут интенсивного перемешивания медленно добавляли Az-PAB-Br (100 моль%), полученный в соответствии с примером 2, в виде 4 отдельных аликвот. К полученному раствору добавляли йодид тетрабутиламмония (15 моль%), который затем перемешивали в течение 16 часов. В этот момент реакционную смесь разбавляли в EtOAc и промывали 200 mM HCl и насыщенным солевым раствором. Отделенный органический слой сушили над MgSO₄ и концентрировали с получением указанного в заголовке соединения в виде неочищенного вещества, которое использовали без дополнительной очистки.

[0617] **Пример 5:** Получение (2-(7-((4-азидобензил)окси)-2-оксо-2H-хромен-4-ил)ацетил)глицина (Az-PABE-Coum-Gly-OH)



[0618] В круглодонную колбу добавляли неочищенный Az-PABE-Coum-Gly-OMe (100 моль%) в THF (20 мл на 500 мг). В флакон добавляли MeOH (6 мл на 500 мг) и H₂O (6 мл на 500 мг). В это время добавляли LiOH (200 моль%) и реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа, после чего реакционную смесь разбавляли EtOAc и дважды промывали 200 мМ HCl. Отделенный органический слой сушили над MgSO₄ и концентрировали с получением указанного в заголовке соединения с выходом 88%. ¹H-ЯМР (d₇-DMF) δ 8,80 (NH, т, 1H), 8,03-8,01 (C=CH, д, 1H), 7,80-7,77 (C=CH, д, 2H), 7,38-7,36 (C=CH, д, 2H), 7,25 (C=CH, с, 1H), 7,24-7,20 (C=CH, д, 1H), 6,58 (C=CH, с, 1H), 5,47 (CH₂, с, 2H), 4,14 (CH₂, д, 2H), 4,08 (CH₂, с, 2H).

[0619] **Пример 6:** Получение P1-PABE-Coum-Gly-OH, где P1=Fmoc-Leu-OH, Fmoc-D-Leu-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cit-OH, Fmoc-Nal-OH, Fmoc-Tyr(All)-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Lys(Mtt)-OH, Fmoc-Thr(Trt)-OH, Fmoc-Glu(O-2-PhiPr)-OH, где Cit представляет собой цитруллин, и Nal представляет собой аланин, в котором его метильная боковая цепь замещена нафт-1-илом.

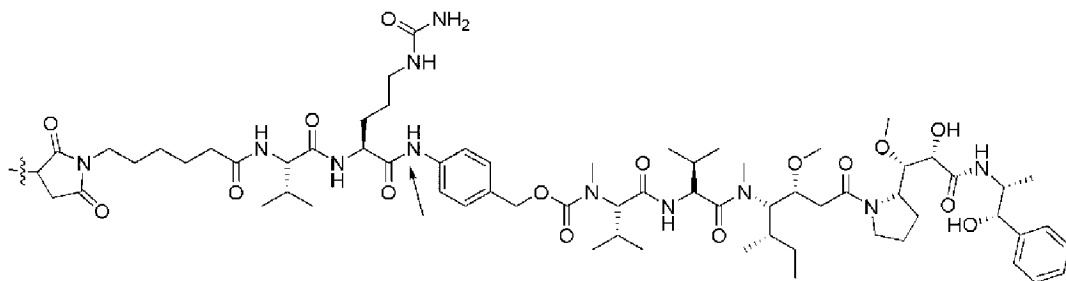


[0620] К смоле (2-хлортритилхлоридной или кислотной смоле Ринка; 100 моль%), набухшей в безводном DCM, добавляли Az-PABE-Coum-Gly-OH (300 моль%) и DIPEA (310 моль%), растворенный в безводном DCM. После перемешивания в течение 2 часов раствор удаляли, а смолу промывали DCM. В открытую круглодонную колбу добавляли Az-PABE-Coum-Gly-O-связанную смолу, набухшую в DMF, с последующим добавлением PBu₃ (250 моль%) и DIPEA (250 моль%). После перемешивания в течение 2 часов раствор удаляли и смолу промывали DMF, DCM и Et₂O и сушили в течение ночи в вакууме. В флакон добавляли Fmoc-P1-OH (600 моль%) и HATU (600 моль%), растворенный в DMF, затем DIPEA (800 моль%). Смесь встряхивали в течение 1 мин, а затем добавляли к предварительно синтезированной PBu₃- активированной Az-PABE-Coum-Gly-O-связанной смоле (кислотная смола Ринка для Fmoc-Lys(Trt)-OH, Fmoc-Thr(Trt)-OH и Fmoc-Glu(O-2-PhiPr), 2-хлортритиловая смола для всех других аминокислот), набухшей в DMF. После перемешивания в течение 2 часов раствор удаляли и смолу промывали DMF и DCM. Fmoc-P1-PABE-Coum-Gly-OH отщепляли от смолы с использованием 0,2% TFA в DCM (для кислотной смолы Ринка) или 5% TFA в DCM (для 2-хлортритиловой смолы) и очищали методом ОФ-ВЭЖХ.

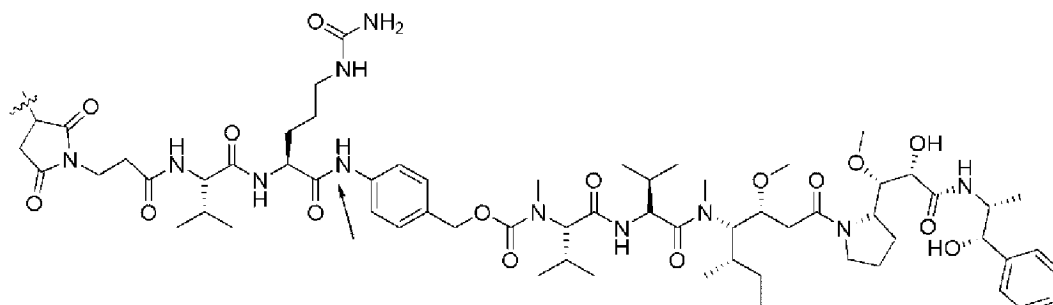
[0621] **Пример 7:** Получение и скрининг библиотеки трипептидов.

[0622] Конъюгаты на основе дипептида, которые были разработаны ранее, были сконструированы для расщепления Катепсином В, который представляет собой

лизосомальную протеазу, которая повышена в раковых клетках по сравнению с нормальными клетками тех же видов. Иллюстративные сравнительные Конъюгаты на основе дипептида содержат фрагменты лекарственного средство-линкер, в которых Лекарственный Компонент представляет собой остаток MMAE одной из следующих структур.

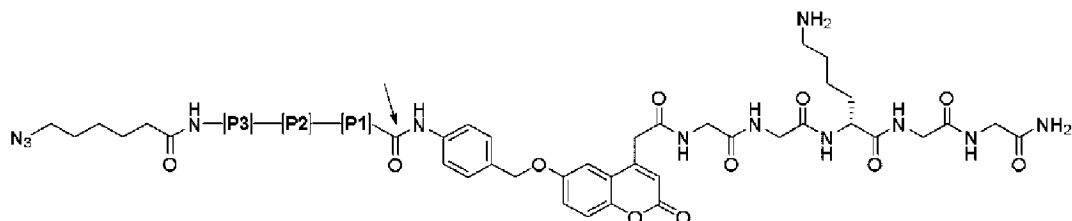


mc-val-cit-PABC-MMAE



mp-val-cit-PABC-MMAE

[0623] где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к атому серы из Лигандного Компонента, а стрелка указывает на предполагаемое место протеолитического расщепления. Хотя это более специфично для катепсина В, другие лизосомальные протеазы сохраняют способность расщеплять эту связь. Для выявления пептидных последовательностей, более специфических для протеаз, активированных в раковой ткани по сравнению с протеазами нормальной ткани, в которых нежелательная цитотоксичность по отношению к нормальным клеткам в этой ткани связана с побочным эффектом, когда эффективное количество сравнительного Конъюгата имеет показанные фрагменты лекарственного средство-линкер на основе дипептида, синтезировали библиотеку трипептид-содержащих соединений с гашением флуоресценции. Члены этой библиотеки являются моделями для фрагментов лекарственного средство-линкер Конъюгата, в которых флуоресцентная метка заменяет Лекарственный Компонент, и в совокупности представлены следующей структурой:



[0624] В указанной выше структуре конъюгированный кумариновый фрагмент не является флуоресцентным. При протеолитическом расщеплении указанной амидной связи высвобождается свободное кумарин-содержащее соединение, которое теперь является флуоресцентным. Gly-Gly-D-Lys-Gly фрагмент свободного кумарин-содержащего соединения является артефактом способа, с использованием которого была сконструирована библиотека, которая далее описана в настоящей заявке. Азид обеспечивает “рукоятку” для присоединения к Лигандному Компоненту путем диполярного циклоприсоединения азидов с подходящим алкиновым фрагментом, введенным в Лигандный Компонент.

[0625] Библиотека была сконструирована с использованием неароматических гидрофобных аминокислот Ala, Leu, Pro и D-Leu, заряженных аминокислот Glu и Lys, незаряженных гидрофильных аминокислот Thr, Met и цитруллина, и гидрофобных ароматических аминокислот Phe, Tyr (первоначально в виде alloc-защищенной аминокислоты) и Nal (нафтил-1-илаланин). Таким образом, библиотека содержит 1,728 отдельных элементов. Когда Met находится в положении P1, метилсульфидная группа его боковой цепи подвергается спонтанному окислению до сульфоксида, так что положение P1 занимает Met(O). Когда Met находится в положении P2 или P3, получают смесь трипептидов, содержащих Met и Met(O).

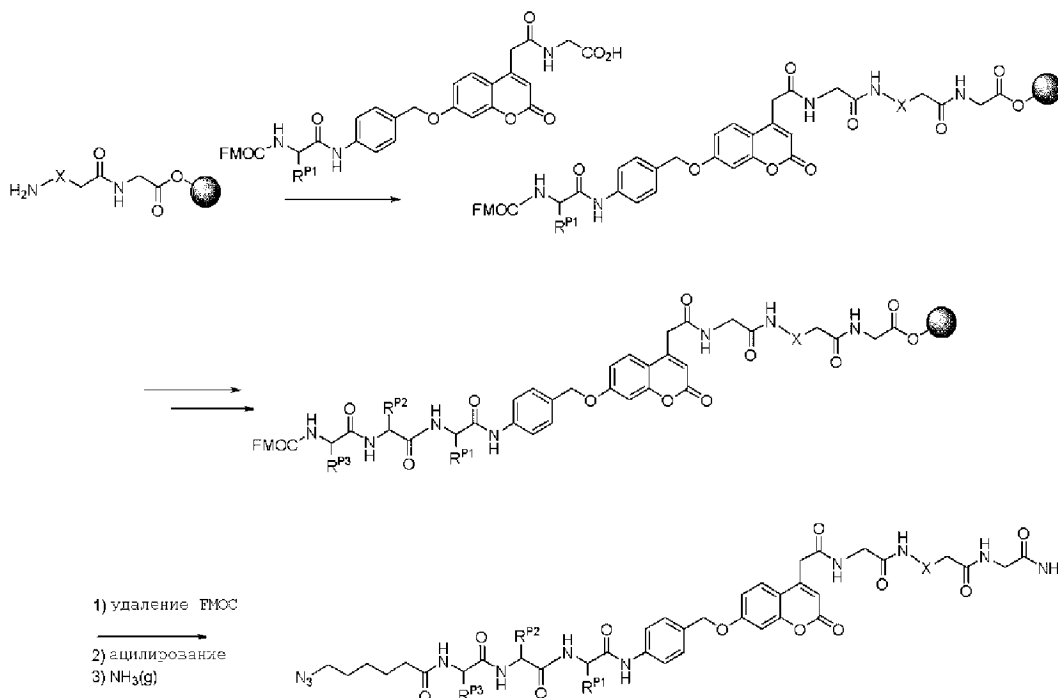
[0626] Элементы библиотеки синтезировали на целлюлозном носителе в соответствии со способом, описанным Hilpert, K. et al. в “Peptide arrays on cellulose support: SPOT synthesis, a time and cost efficient method for synthesis of large numbers of peptides in a parallel and addressable fashion”, *Nature Protocols* (2007) 2(6): 1333-1349, который специально включен посредством ссылки в настоящую заявку, с одной важной модификацией. В этой модификации используется целлюлозная бумага с лазерной перфорацией, так что синтез каждого элемента библиотеки происходит с четко определенным круглым диском. После SPOT-синтеза каждую круглую область, которая отдельно содержит дискретный элемент библиотеки, выдавливают многоканальной пипеткой в отдельные лунки микротитровального планшета. Микротитровальный планшет затем помещают в аммиачную камеру для отщепления трипептид-содержащих модельных соединений от целлюлозных дисков. Затем расщепленные соединения переносят в свежий микротитровальный планшет после растворения каждого в 50%-ном водном растворе ацетонитрила. Содержимое лунок затем оценивали на восприимчивость к протеолиту гомогенатом опухолевой ткани по сравнению со сравнительным соединением лекарственное средство-линкер на пептидной основе, имеющим дипептид val-cit, который замещен -[P1]-[P2]-[P3]-трипептидами в библиотеке соединений лекарственное средство-линкер, путем измерения флуоресценции, обнаруживаемой в каждой из лунок библиотеки после контактирования с гомогенатом опухолевой или нормальной ткани, и деления ее на флуоресценцию, обнаруженную при расщеплении гомогенатом опухолевой или нормальной ткани сравнительного дипептид-содержащего соединения лекарственное средство-линкер.

[0627] Рабочее предположение заключается в том, что отношение протеолиза в опухолевой ткани к протеолизу в нормальной ткани больше, чем полученное для сравнительного соединения лекарственное средство-линкер, что указывает на более быстрое расщепление в опухолевой ткани или более медленное расщепление в нормальной ткани соединения лекарственное средство-линкер библиотеки по сравнению с дипептид-содержащим соединением лекарственное средство-линкер, будет означать более высокую селективность к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани того же вида, при этом цитотоксичность для нормальных клеток ткани, вызываемая сравнительным Конъюгатом, содержащим это соединение в качестве фрагмента лекарственное средство-линкер на основе дипептида, ответственна за нежелательное явление, связанное с введением эффективного количества сравнительного Конъюгата субъекту, нуждающемуся в этом. Специалисту в данной области техники будет понятно, что такая корреляция может не сохраняться для каждого члена библиотеки и что увеличение протеолиза, наблюдаемое для трипептид-содержащего соединения лекарственное средство-линкер, происходит не просто из-за того, что трипептид является превосходным сайтом распознавания для Катепсина В, а обусловлено, по меньшей мере частью, повышенной реактивностью в отношении других протеаз, которые также активированы в опухолевой ткани.

[0628] FMOC химию использовали для получения фрагмента Gly-D-Lys-Gly-Gly, ковалентно связанного с твердой подложкой из целлюлозы, где гидроксильные группы целлюлозы перфорированной лазером целлюлозной бумаги сначала были модифицированы в виде эфиров глицина. Затем FMOC группу удаляли с получением свободного амина, что подтверждали pH-чувствительным индикатором. Добавляли следующую аминокислоту, и процесс повторяли. Для совместимости с 96-луночным микротитровальным планшетом перфорированные лазером диски имели диаметр 6 мм, к которым добавляли 1-мкл аликвоты растворов FMOC-защищенных аминокислот.

[0629] FMOC-P1-PABE-Coum-Gly-OH, полученный в соответствии с Примером 6, затем присоединяли к свободной аминогруппе $\text{NH}_2\text{-Gly-Lys-Gly-Gly-}$ остатка. Ключевой стадией в последовательности реакций в Примере 6 является восстановление связанного со смолой азидного промежуточного соединения, которое обеспечивает иминофосфорановое промежуточное соединение, достаточно стабильное к саморасщеплению для того, чтобы произошла реакция сочетания с первой поступающей FMOC-аминокислотой. Затем добавляли аминокислоты P2 и P3 с использованием стандартной FMOC химии с последующим ацилированием свободной аминогруппы остатка P3 со снятой защитой с получением связанного со смолой соединения библиотеки, которое отщепляли от смолы с использованием камеры с газообразным аммиаком. На Схеме 1 R^{P1} , R^{P2} и R^{P3} представляют собой аминокислотные боковые цепи аминокислотных остатков P1, P2 и P3 соответственно, а X представляет собой другие аминокислоты в $\text{NH}_2\text{-Gly-Gly-D-Lys-Gly-Gly-}$ пентапептиде, который связывает флуоресцентно меченный трипептид с твердой подложкой из целлюлозы.

[0630] Схема 1. Получение флуоресцентно меченных соединений библиотеки



[0631] Результаты в таблице 1А относятся к 20 лучшим трипептидным последовательностям, в которых нормализованное отношение флуоресценции от протеолиза опухоли по сравнению с гомогенатом нормальной ткани превышает 2,5.

[0632] Нормализованное значение флуоресценции для протеолиза гомогенатом опухоли представляет собой усредненное значение для гомогенатов опухолевой ткани, полученных из четырех моделей ксенотрансплантата мышцы. Расчет этих нормализованных значений описан после Таблицы 1А.

[0633] Нормализованные значения флуоресценции нормальной ткани получены в результате протеолиза нормальным костным мозгом человека. Костный мозг человека был выбран в качестве нормальной ткани, так как он является местом нежелательного явления (нейтропении), которое было связано с введением человеку, нуждающемуся в этом, эффективного количества Конъюгата Антитело-Лекарственное средство, имеющего фрагменты лекарственное средство-линкер, полученные из соединения Лекарственное средство-Линкер mc-val-cit-PABC-MMAE.

[0634]

Таблица 1А

Рейтинг трипептидных членов библиотеки в соответствии с отношением флуоресценции

Трипептид*	Нормализованное значение, нормальная ткань	Нормализованное значение, опухолевая ткань	Опухолевая/нормальная ткань
Pro-Ala-Glu	0,78	2,48	3,16

DLeu-Leu-Glu	1,12	3,45	3,09
Pro-Ala-Cit	1,07	3,03	2,84
Pro-Glu-Cit	0,85	2,35	2,77
DLeu-Leu-Cit	1,37	3,70	2,70
Pro-Cit-Glu	0,85	2,27	2,68
Pro-Cit-Cit	0,95	2,54	2,67
Cit-Glu-Cit	1,21	3,16	2,61
Pro-Lys-Glu	0,72	1,88	2,59
DLeu-Leu-Met(O)	0,66	1,70	2,58
Pro-Glu-Glu	0,73	1,87	2,58
Pro-Glu-Lys	0,72	1,85	2,57
Glu-Glu-Cit	1,22	3,14	2,57
DLeu-Phe-Glu	0,89	2,27	2,55
DLeu-Leu-Lys	0,87	2,20	2,54
Glu-Ala-Glu	1,05	2,66	2,53
Ala-Cit-Cit	1,02	2,58	2,53
Thr-Cit-Cit	0,89	2,26	2,53
Cit-Glu-Glu	0,97	2,44	2,53
Cit-Cit-Cit	1,12	2,82	2,52

[0635] *Аббревиатуры: Cit=цитруллин, Met(O)=метионин сульфоксид

[0636] Нормализованное значение флуоресценции рассчитывается путем деления значения флуоресценции в конечный момент времени (275-315 мин) после добавления гомогената ткани на значение флуоресценции, когда гомогенат ткани не добавлялся. Это значение затем нормализовали для каждого пептида в каждом гомогенате путем деления его на среднее значение для этого гомогената. Например, если один трипептид имел 2-кратное увеличение по сравнению с этим пептидом без гомогената, и среднее кратное увеличение с этим гомогенатом также было 2-кратным, то нормализованное значение для этого трипептида в этом гомогенате равнялось 1. Нормализованные значения для опухолевой ткани, представленные в Таблице 1, затем определяли путем усреднения нормализованного значения флуоресценции для каждого пептида по всем 4 протестированным гомогенатам рака. Эти гомогенаты опухолей были получены из моделей ксенотрансплантатов для HPAF-II (голые мыши), Ramos (мыши SCID), SK-Mel-5 (голые мыши) и SU-DHL-4 (мыши SCID). Нормализованные значения для нормальной ткани, представленные в Таблице 1, рассчитывали аналогичным образом с

использованием гомогенизированного костного мозга. Отношения опухолевая/нормальная ткань в Таблице 1А определяли путем деления нормализованных значений для опухолевой ткани на нормализованные значения для нормальной ткани.

[0637] Учитывая, что большинство трипептидов из Таблицы 1А содержали неприродную аминокислоту или пролин в положении Р3, а положение Р2 было более переменным, были выбраны три последовательности трипептидов, которые различались только в положении Р1, с целью определения, как положение, являющееся ближайшим к саморасщепляющемуся РАВС Спейсерному Компоненту может изменять *in vivo* селективность для Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, полученных из соединений Лекарственное средство-Линкер, содержащих эти трипептидные последовательности. Эти трипептиды представляют собой D-Leu-Leu-Cit, D-Leu-Leu-Met(O) и D-Leu-Leu-Lys.

[0638] Был получен новый тип на основе трипептидов из Таблицы 1А, который демонстрировал нормализованную флуоресценцию для гомогената нормальной ткани менее или равную 0,7 при отношении флуоресценции по меньшей мере 1,5. Десять лучших трипептидов этого типа показаны в Таблице 1В. Три лучшие трипептидные последовательности из Таблицы 1В, а именно D-Leu-Leu-Met(O), Pro-Nal-Lys и D-Leu-Ala-Glu, были затем отобраны для определения селективности *in vivo* для Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, полученных из соединений Лекарственное средство-Линкер, содержащих эти трипептидные последовательности.

Таблица 1В

Рейтинг трипептидных членов библиотеки на основании подверженности протеолизу в нормальной ткани

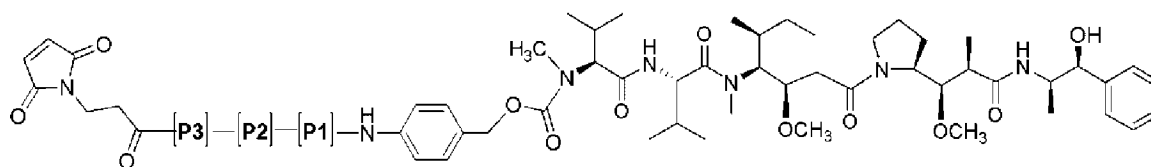
Трипептид*	Нормализованное значение, нормальная ткань	Нормализованное значение, опухолевая ткань	Опухолевая/нормальная ткань
D-Leu-Leu-Met(O)	0,66	1,70	2,58
Pro-Nal-Lys	0,65	1,33	2,05
D-Leu-Ala-Glu	0,69	1,30	1,87
Pro-Glu-Ala	0,70	1,28	1,84
Lys-Glu-Met(O)	0,70	1,16	1,66
DLeu-Ala-Lys	0,68	1,16	1,70
Leu-Nal-Lys	0,62	1,13	1,84
DLeu-Cit-Glu	0,64	1,07	1,67
DLeu-Glu-Lys	0,62	1,06	1,71
Glu-Ala-Met(O)	0,65	1,06	1,63

[0640] *Аббревиатуры: Cit=цитруллин, Met(O)=метионин сульфоксид, Nal=нафта-1-ил аланин.

[0641] 5 отдельных трипептидных последовательностей, выбранных из Таблиц 1А и 1В, включали в Конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство, в которых Лигандный Компонент получен из антитела, которое селективно связывается с интернализуемым антигеном, предпочтительно представляемым клетками из человеческой клеточной линии аденокарциномы поджелудочной железы, и которые соответствуют по структуре сравнительному Конъюгату, имеющему не связывающееся контрольное антитело в качестве “Лигандного Компонента” и дипептидный Расщепляемый Компонент, в котором фрагменты лекарственное средство-линкер представляют собой mc-val-cit-РАВС-ММАЕ. Эти Конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство имеют среднюю лекарственную нагрузку=4.

[0642] **Часть В.** Получение соединений Лекарственное средство-Линкер.

[0643] Соединения Лекарственное средство-Линкер, в которых ММАЕ представляет собой Лекарственный Компонент и которые использовали для получения выбранной подгруппы Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, обсуждаемой в Части А, представлены следующей структурой.

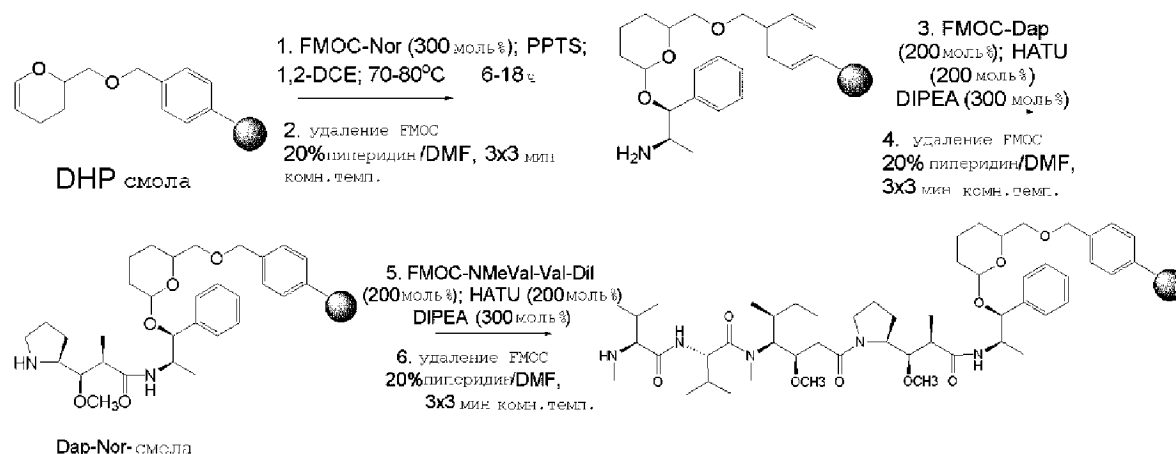


mp-[P3]-[P2]-[P1]-PABC-MMAE

[0644] **Пример 8:** Получение связанного со смолой MMAE:

[0645] Связанный со смолой MMAE получали с использованием DHP НМ функционализированной смолы в соответствии с процедурой Схемы 2А.

[0646] Схема 2А. Получение связанного со смолой MMAE

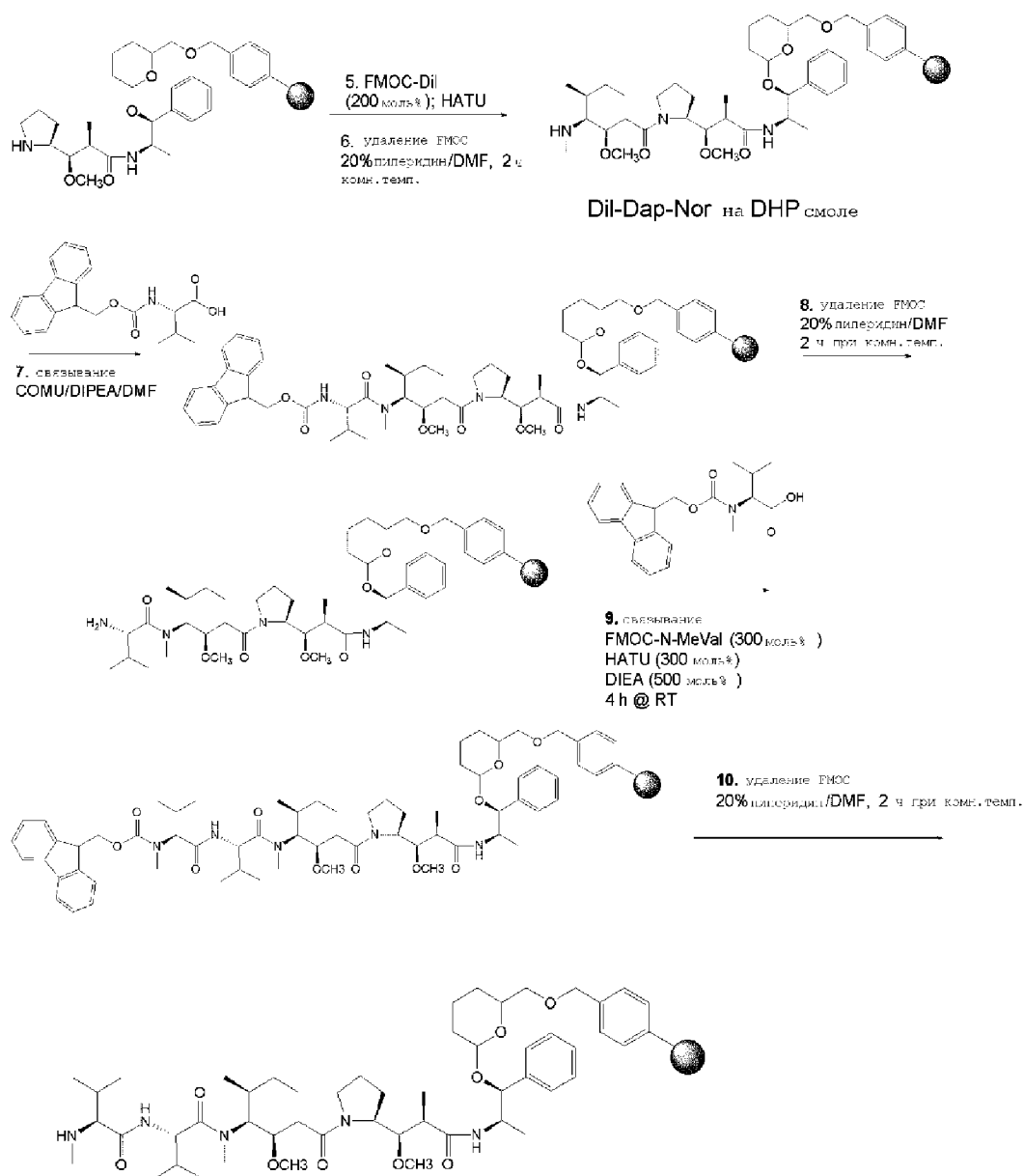


[0647] Вкратце, для синтеза MMAE на смоле Fmoc-Норэфедрин и п-толуолсульфонат пиридиния (PPTS) растворяли в дихлорэтано, добавляли к DHP НМ функционализированной смоле и инкубировали при 70°C в течение 8 ч. После снятия защиты Fmoc-Dap затем активировали при помощи HATU и DIPEA и затем добавляли к норэпинефрину-смоле. Последовательность реакций повторяли с Fmoc-N-MeVal-Val-Dil и после снятия защиты получали связанный со смолой MMAE.

[0648] **Пример 9:** Альтернативное получение связанного со смолой MMAE

[0649] Альтернативное получение связанного со смолой MMAE показано на Схеме 2В, исходя из связанного со смолой Dap-Nor Схемы 2А.

[0650] Схема 2В. Постадийная переработка связанного со смолой Dap-Nor в MMAE

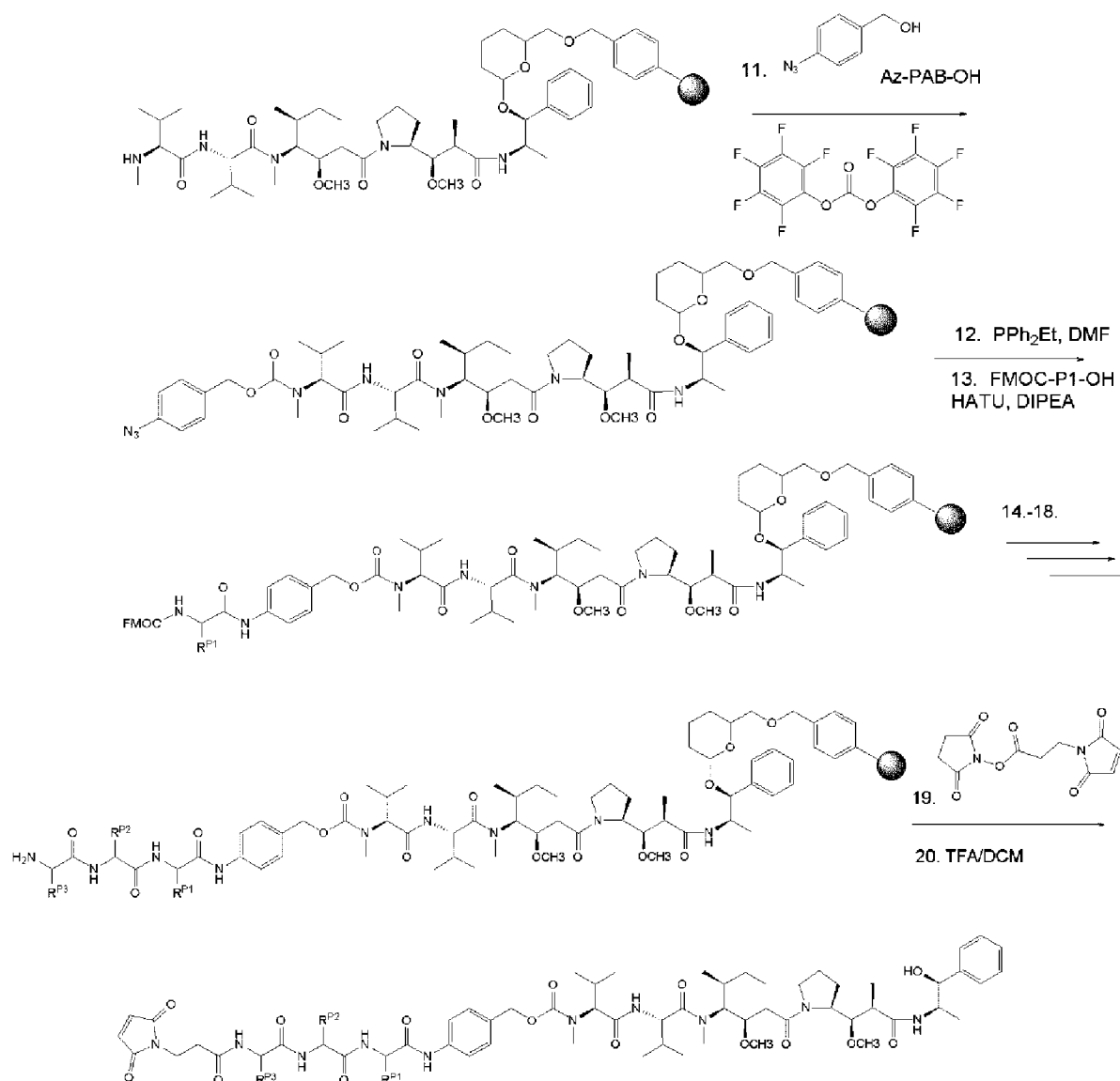


[0651] Последовательность реакций Схемы 2В также полезна для получения радиоактивно-меченного MMAE с использованием Fmoc-замещенного [^{14}C]-валина на стадии 7. Окончательное формирование соединения Лекарственное средство-Линкер из связанного со смолой MMAE показано на Схеме 3.

[0652] **Пример 10:** Получение соединений MMAE Лекарственное средство-Линкер на основе трипептида.

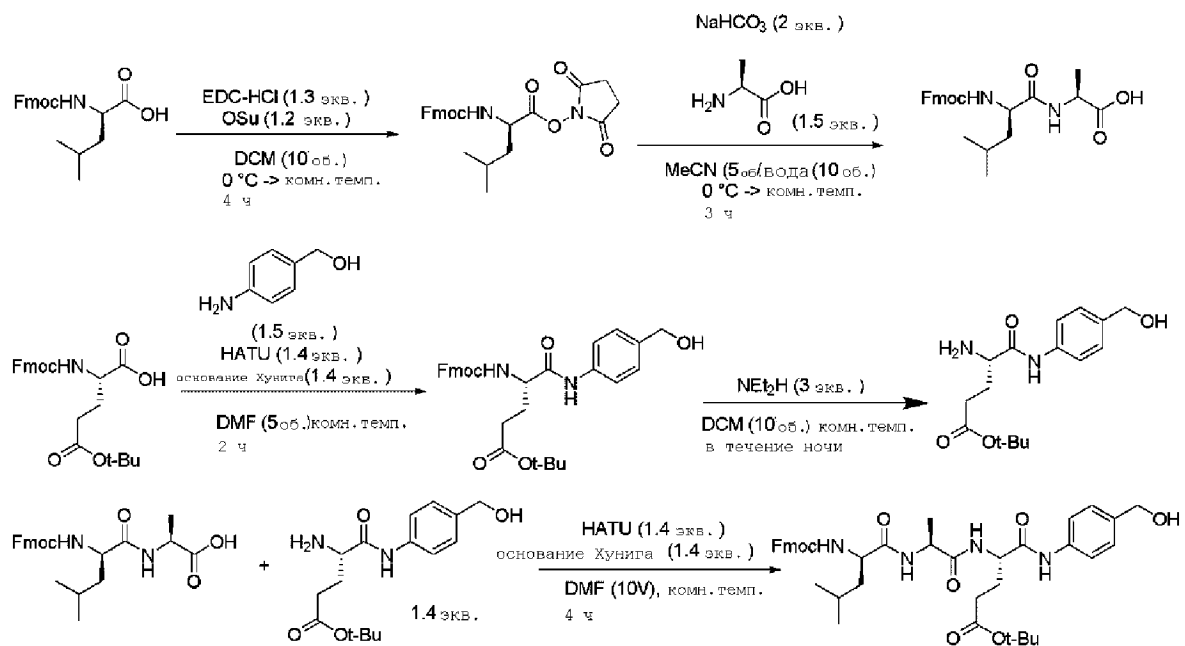
[0653] Соединения Лекарственное средство-Линкер на основе трипептида, в которых Лекарственный Компонент получен из MMAE и которые имеют трипептидные последовательности, выбранные из Таблиц 1А и 1В, получали из связанного со смолой MMAE в соответствии с процедурами Схемы 3 или из MMAE в фазе раствора в соответствии с процедурами Схемы 3А.

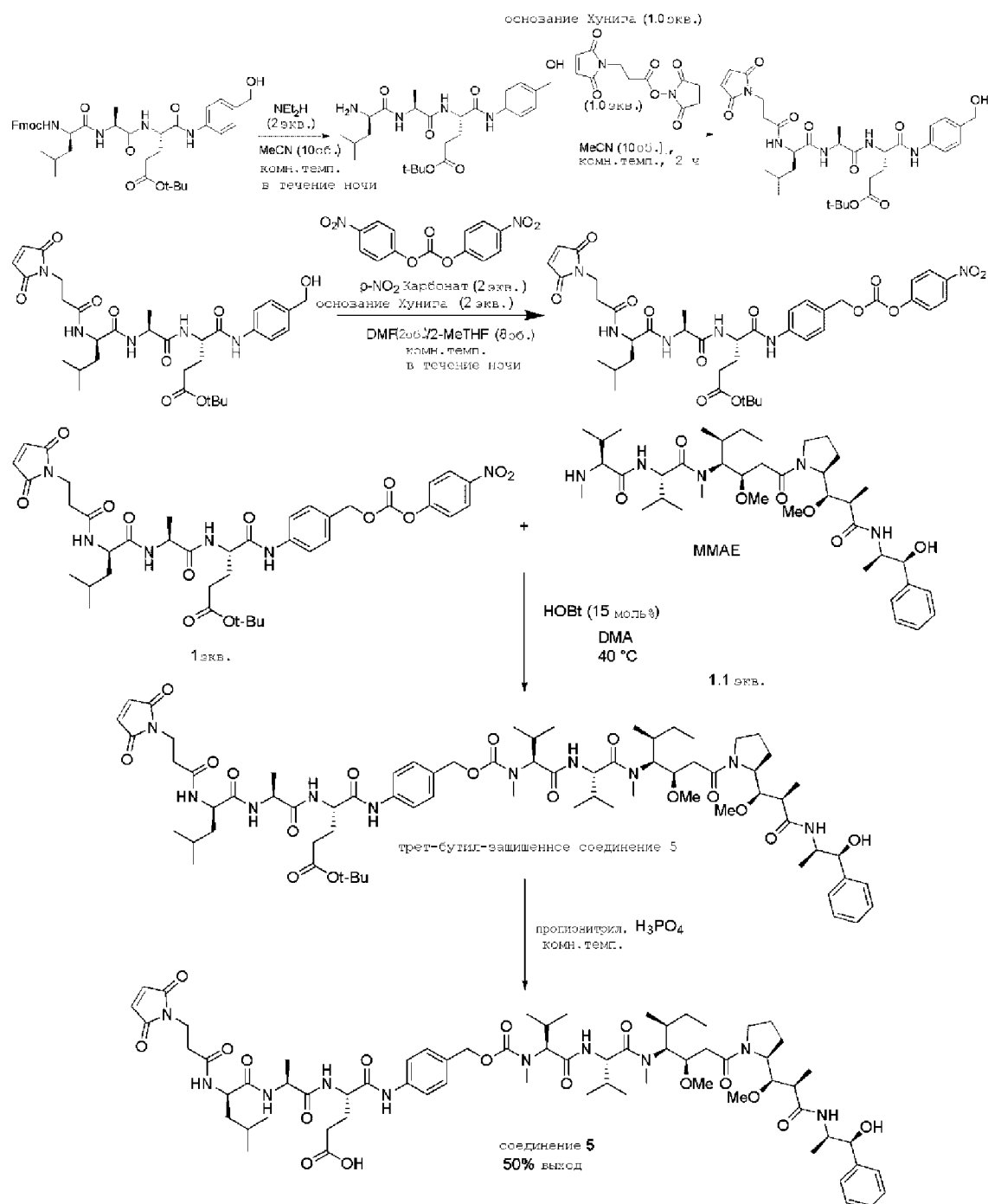
[0654] Схема 3. Получение соединений Лекарственное средство-Линкер на основе трипептида из связанного со смолой MMAE



[0655] Вкратце, Az-PAB-OH, полученный путем взаимодействия NaN_3 с диазониевой солью из п-аминобензилового спирта и NaNO_2 в 5М HCl, подвергали взаимодействию с бис(пентафторфенил)карбонатом и добавляли к MMAE на смоле. Азидо группу Az-PAB-C-MMAE затем восстанавливали до иминофосфорана с использованием PPh_2Et , с последующим добавлением Fmoc-P1. После снятия защиты затем добавляли аминокислоты P2 и P3 с использованием традиционной Fmoc пептидной химии с последующим взаимодействием активированного эфира, N-гидроксисукцинимидного эфира 3-(maleimido)пропионовой кислоты, с незащищенным амином концевой P3 аминокислоты. После отщепления от смолы с использованием TFA в DCM полученное соединение Лекарственное средство-Линкер очищали обращеннофазовой ВЭЖХ.

[0656] Схема 3А. Получение соединений Лекарственное средство-Линкер на основе трипептида в фазе раствора





[0657] Вкратце, (((9Н-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)-D-лейцин (1,00 экв., 50,00 г, 141 ммоль) загружали в 2-л круглодонную колбу (RBF), снабженную магнитной мешалкой. В сосуд добавляли дихлорметан (DCM) (500 мл) и охлаждали до 0°C при перемешивании с последующим добавлением гидрохлорида этилкарбодиимид (EDC-HCl) (1,30 экв., 35,26 г, 184 ммоль) и к реакционной смеси добавляли N-гидроксисукцинимид (1,20 экв., 19,54 г, 170 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 30 минут, затем давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали 4 часа. После завершения реакции к реакционной смеси добавляли воду (500 мл), органический слой отделяли, промывали насыщенным солевым раствором (500 мл) и разделяли. DCM раствор упаривали при пониженном давлении с получением 2,5-

диоксопирролидин-1-ил (((9Н-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)-D-лейцината в виде белого пенистого вещества (65,00 г, 144 ммоль, 102% выход). Это вещество использовали без дополнительной очистки.

[0658] На следующей стадии 2,5-диоксопирролидин-1-ил (((9Н-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)-D-лейцинат (1,00 экв., 30,0 г, 66,6 ммоль) и аланин (1,5 экв., 8,90 г, 99,9 ммоль) загружали в 1000-мл RBF с магнитной мешалкой. В сосуд добавляли ацетонитрил (150 мл) и воду (300 мл) и охлаждали до 0°C. К реакционной смеси добавляли основание Хунига одной порцией (2,0 экв., 17,2 г, 133,2 мл). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч, затем давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. После завершения растворитель обменивали путем выпаривания на роторном испарителе на этилацетат (EtOAc). pH доводили до pH=2 добавлением 1М HCl. Органический слой отделяли и промывали насыщенным соевым раствором. Реакционную смесь концентрировали на роторном испарителе с получением белого твердого вещества (31,29 г). Твердое вещество растворяли в EtOAc (120 мл) в 1000-мл RBF, снабженной магнитной мешалкой. Твердое вещество осаждали добавлением по каплям гептана (600 мл) в течение 1 часа. Суспензию перемешивали в течение ночи. Твердое вещество фильтровали и промывали гептаном (300 мл) с получением тонкодисперсного белого твердого вещества. Твердое вещество сушили в вакуумной печи в течение ночи при 45°C с получением (((9Н-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)-D-лейцил-L-аланина в виде белого твердого вещества (24,01 г, 85% выход)

[0659] (S)-2-((((9Н-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-5-(трет-бутоксигрупп)-5-оксопентановую кислоту (50,0 г, 1,00 экв., 117,5 ммоль), (4-аминофенил)метанол (21,7г, 1,5 экв., 176,3 ммоль) и НАТУ (62,9 г, 1,4 экв., 164,5 ммоль) загружали в 2000-мл RBF, снабженную магнитной мешалкой. В сосуд добавляли диметилформамид (DMF) (250 мл) и перемешивали до растворения твердых веществ. К реакционной смеси добавляли основание Хунига (21,26 г, 1,4 экв., 164,5 ммоль) одной порцией. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение двух часов. После завершения добавляли воду (750 мл) по каплям в течение 30 минут. Суспензию перемешивали еще в течение 1 ч при комнатной температуре. Суспензию фильтровали и промывали водой (500 мл) с получением оранжевого твердого вещества. Твердое вещество снова растворяли в DCM (500 мл) и промывали водой (500 мл). К этому раствору в 2000-мл RBF добавляли магнитную мешалку. К реакционной смеси добавляли диэтиламин (25,64 г, 3,0 экв., 350,54 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение ночи (реакционную смесь осаждали в течение ночи). После завершения к реакционной смеси добавляли гептан (620 мл) в течение 1 ч. Суспензию перемешивали в течение 1 ч. Суспензию фильтровали и промывали гептаном (620 мл) с получением ярко-розового твердого вещества. Твердое вещество сушили в вакуумной печи при 45°C в течение ночи с получением трет-бутил (S)-4-амино-5-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-5-оксопентаноата в виде коричневого твердого вещества (35,2 г, 98% выход).

[0660] ((9Н-Флуорен-9-ил)метокси)карбонил)-D-лейцил-L-аланин (8,1 г, 1,00 экв., 19,08 ммоль), трет-бутил (S)-4-амино-5-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-5-оксопентаноат (8,82 г, 1,5 экв., 28,62 ммоль) и HATU (10,21 г, 1,4 экв., 26,71 ммоль) загружали в 500-мл RBF. В сосуд добавляли DMF (80 мл) и основание Хунига и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. После завершения реакцию смесь осаждали, добавляя по каплям воду (160 мл), в течение 1 часа с получением твердого вещества, которое прилипало к мешалке. Жидкость сливали и твердое вещество промывали водой (80 мл). Твердое вещество ресуспендировали в DCM (80 мл) с циклическим нагревом с получением красного раствора. Из раствора осаждался осадок при добавлении по каплям гептана (80 мл) в течение 30 минут. Твердое вещество фильтровали с получением желтого твердого вещества, которое промывали гептаном (80 мл). Твердое вещество сушили в вакуумной печи при 45°C в течение ночи с получением Fmoc-защищенного трипептида D-Leu-Ala-Glu, связанного с 4-аминобензиловым спиртом, в виде желтого твердого вещества (12 г, 88% выход).

[0661] Для снятия Fmoc-защиты этот трипептид (1,00 экв., 26,8 г, 37,49 ммоль) загружали в 400-мл реактор EasyMax. В сосуд добавляли MeCN (10 об., 270 мл) и перемешивали при 25°C при 200 об/мин (красный раствор). К реакционной смеси добавляли диэтиламин одной порцией (2,0 экв., 5,48 г, 74,98 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи и после завершения растворитель обменивали на 10 об. EtOAc путем выпаривания на роторном испарителе. Суспензию нагревали до температуры кипения с обратным холодильником с получением красного раствора. Суспензию охлаждали до 15°C и перемешивали в течение ночи. Суспензию фильтровали и промывали при помощи MTBE (3×10 об., 3×270 мл) с получением светло-коричневого твердого вещества. Твердое вещество сушили в вакуумной печи при 40°C с получением трет-бутил (S)-4-((S)-2-((R)-2-амино-4-метилпентанамидо)пропанамидо)-5-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-5-оксопентаноата в виде ярко-розового твердого вещества (14,47 г, 78% выход).

[0662] Трет-Бутил (S)-4-((S)-2-((R)-2-амино-4-метилпентанамидо)пропанамидо)-5-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-5-оксопентаноат (1,00 экв., 9,51 г, 19,31 ммоль) и 2,5-диоксопирролидин-1-ил 3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропаноат (1,0 экв., 5,14 г, 19,31 ммоль) загружали в 200-мл реактор EasyMax. В реактор добавляли MeCN (10 об., 100 мл) и перемешивали при 25°C при 200 об/мин. К реакционной смеси добавляли основание Хунига (1,0 экв., 2,50 г, 19,31 ммоль) одной порцией. Реакционную смесь перемешивали при 25°C при 200 об/мин в течение часа (красный раствор). После завершения растворитель обменивали на 10 об. EtOAc путем выпаривания на роторном испарителе. Продукт осаждали добавлением гептана (10 об., 100 мл) в течение 30 минут. Суспензию фильтровали и промывали при помощи MTBE (2×10 об., 2×100 мл). Твердое вещество сушили в вакуумной печи в течение ночи при 40°C с получением трет-бутил (S)-4-((S)-2-((R)-2-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)-4-метилпентанамидо)пропанамидо)-5-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-5-оксопентаноата в

виде светло-коричневого твердого вещества (12,38 г, 99% выход)

[0663] Трет-бутил (S)-4-((S)-2-((R)-2-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-4-метилпентанамидо)пропанамидо)-5-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-5-оксопентаноат (2,7 г, 1,00 экв., 4,19 ммоль) и 4-нитрофенилкарбонат (2,55 г, 2,0 экв., 8,39 ммоль) загружали в 100-мл RBF, снабженную магнитной мешалкой. К реакционной смеси добавляли DMF (2 об., 5 мл) и 2-МеTHF (8 об., 20 мл) при перемешивании при комнатной температуре. В сосуд добавляли основание Хунига и перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. После завершения реакцию смесь разбавляли 10 об. 2-МеTHF. Органический слой последовательно промывали 20 об. 5% LiCl, 20 об. воды и затем 10% NaCl. Органический раствор добавляли по каплям к 10 об. MTBE/10 об. гептана в течение 15 минут. Суспензию выдерживали в течение 1 часа при перемешивании при комнатной температуре. Суспензию фильтровали и промывали три раза 5V MTBE/5 об. гептана. Твердое вещество сушили в вакуумной печи при 35°C в течение ночи с получением бледно-желтого твердого вещества (2,06 г, 61% выход).

[0664] Активированный п-нитрокарбонатом трипептид (1 экв., 10 мг, 0,01 ммоль), MMAE (1,1 экв., 9,7 мг, 0,01 ммоль) и HOBt (0,15 экв., 29 мкл 10 мг/мл раствора в DMA) загружали в 3,7-мл сосуд, снабженный магнитной мешалкой. Добавляли DMA (10 об., 200 мкл) и реакционную смесь перемешивали при 40°C. После завершения реакцию смесь охлаждали до комнатной температуры. Добавляли по каплям воду до образования аморфного твердого вещества. Растворитель сливали и твердое вещество снова растворяли в 10 об. DCM. Органический раствор промывали два раза 20 об. HCl (0,5 M) и концентрировали в вакууме с получением трет-бутил-защищенного соединения 5.

[0665] Трет-бутил-защищенное соединение 5 (1,0 г, 1,00 экв., 0,72 ммоль) растворяли в 10 мл пропионитрила. К реакционной смеси медленно добавляли 10 мл H₃PO₄ при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч. После завершения добавляли 15 мл воды и 10 мл пропионитрила. Органический слой отделяли и водный слой экстрагировали 10 мл пропионитрила. Объединенный органический слой промывали еще один раз 30 мл воды. Реакционную смесь концентрировали и очищали обращеннофазовой препаративной ВЭЖХ с получением Соединения 5.

[0666] СВЭЖХ-МС данные для соединений MMAE и MMAF Лекарственное средство-Линкер, полученных в соответствии с последовательностями реакций Схемы 2А, Схемы 3 и Схемы 3А, где некоторые соединения содержат трипептидные последовательности, выбранные из Таблиц 1А и 1В, показаны в Таблицах 2 и 2А.

[0667] СВЭЖХ-МС осуществляли на однокрадуольном детекторном масс-спектрометре Waters, соединенном с СВЭЖХ системой Acquity™ Waters с использованием метода СВЭЖХ (Методы А-Д), показанного ниже, где Растворитель А представляет собой 0,1% водный раствор муравьиной кислоты, а Растворитель В - ацетонитрил с 0,1% муравьиной кислоты.

[0668] Метод А: Колонка - Waters Acquity UPLC BEH C18, 130 Å, 1,7мкм, 2,1×50 мм, колонка с обращенной фазой

Время (мин)	Поток (мл/мин)	А%	В%
Начало	0,5	97	3
1,0	0,5	40	60
1,5	0,5	5	95

[0669] Метод В: Колонка - Waters CORTECS UPLC C18, 90 Å, 1,6 мкм, 2,1×50 мм, колонка с обращенной фазой

Время (мин)	Поток (мл/мин)	А%	В%
Начало	0,5	97	3
1,7	0,5	40	60
2,0	0,5	5	95
3,5	0,5	5	95
3,8	0,5	97	3
4,0	0,5	97	3

[0670] Метод С: Колонка - Waters CORTECS UPLC C18, 90 Å, 1,6 мкм, 2,1×50 мм, колонка с обращенной фазой

Время (мин)	Поток (мл/мин)	А%	В%
Начало	0,5	97	3
1,5	0,5	5	95

[0671] Метод D: Колонка - Waters Acquity UPLC BEH C18, 130 Å, 1,7мкм, 2,1×50 мм, колонка с обращенной фазой

Время (мин)	Поток (мл/мин)	А%	В%
Начало	0,5	97	3
1,7	0,5	40	60
2,0	0,5	5	95
3,5	0,5	5	95
3,8	0,5	97	3
4,0	0,5	97	3

[0672]

Таблица 2

СВЭЖХ-МС данные для выбранных соединений ММАЕ Лекарственное средство-Линкер

Сое	Последовательнос	Молекулярная	МС	МС	Время	Мето

дине ние #	ть трипептида*	формула	рассчита но (M+H) ⁺	найдено	удержива ния (мин)	д
2	Pro-Nal-Lys	C ₇₈ H ₁₀₉ N ₁₁ O ₁₅	1440,8	1441	1,31	A
3	D-Leu-Leu-Lys	C ₇₂ H ₁₁₃ N ₁₁ O ₁₅	1372,8	1373	1,22	A
4	D-Leu-Leu-Met(O)	C ₇₁ H ₁₁₀ N ₁₀ O ₁₆ S	1391,8	1392	1,5	A
5	D-Leu-Ala-Glu	C ₆₈ H ₁₀₂ N ₁₀ O ₁₇	1331,7	1332	1,43	A
6	D-Leu-Leu-Cit	C ₇₂ H ₁₁₂ N ₁₂ O ₁₆	1401,8	1402	1,48	A
7	Leu-Ala-Glu	C ₆₈ H ₁₀₂ N ₁₀ O ₁₇	1330,7	1332,2	1,92	B
8	D-Leu-Ala-Cit	C ₆₉ H ₁₀₆ N ₁₂ O ₁₆	1358,8	1359,3	1,39	A
9	Pro-Leu-Glu	C ₇₀ H ₁₀₄ N ₁₀ O ₁₇	1356,8	1357,4	1,49	A
10	Thr-Glu-Leu	C ₆₉ H ₁₀₄ N ₁₀ O ₁₈	1360,8	1361,4	1,44	A
11	D-Leu-Glu-Cit	C ₇₁ H ₁₀₈ N ₁₂ O ₁₈	1416,8	1417,4	1,35	A
12	Glu-Pro-Cit	C ₇₀ H ₁₀₄ N ₁₂ O ₁₈	1400,8	1402,2	1,29	A
13	Tyr(All)-Pro-Cit	C ₇₇ H ₁₁₀ N ₁₂ O ₁₇	1474,8	1475,9	1,46	A
14	Lys-Leu-Cit	C ₇₂ H ₁₁₃ N ₁₃ O ₁₆	1415,8	1417,6	1,21	A
15	Tyr(All)-dLeu-Glu	C ₇₇ H ₁₁₀ N ₁₀ O ₁₈	1462,8	1463,8	1,41	C
16	D-Leu-Ala-Gln	C ₆₈ H ₁₀₃ N ₁₁ O ₁₆	1331,6	1331,4	2,01	D
17	D-Leu-Ala-(Se- Met)	C ₆₈ H ₁₀₄ N ₁₀ O ₁₅ S e	1381,6	1381,4	2,22	D
18	D-Leu-Glu-Ala	C ₆₈ H ₁₀₂ N ₁₀ O ₁₇	1332,6	1332,2	2,08	D
19	D-Leu-Ala-Ala	C ₆₆ H ₁₀₀ N ₁₀ O ₁₅	1274,6	1275	2,13	B
20	D-Leu-Ala-Met(O)	C ₆₈ H ₁₀₄ N ₁₀ O ₁₆ S	1350,7	1350,1	2,07	B
21	D-Leu-Leu-Glu	C ₇₁ H ₁₀₈ N ₁₀ O ₁₇	1374,7	1373,9	2,26	B
22	D-Ala-Ala-Glu	C ₆₅ H ₉₆ N ₁₀ O ₁₇	1290,5	1290,3	1,89	D
23	Ala-Ser-Glu	C ₆₅ H ₉₆ N ₁₀ O ₁₈	1306,5	1306,4	1,88	B
24	D-Leu-Ala-Asp	C ₆₇ H ₁₀₀ N ₁₀ O ₁₇	1318,6	1318,5	2,09	B
25	D-Leu-Val-Gln	C ₇₀ H ₁₀₇ N ₁₁ O ₁₆	1359,7	1359,9	2,1	D
26	D-Leu-Ala-Gla	C ₆₉ H ₁₀₂ N ₁₀ O ₁₉	1376,6	1376,5	2,02	B
27	D-Leu-Ala-Lys	C ₆₉ H ₁₀₇ N ₁₁ O ₁₅	1332,7	1331,5	1,74	B
28	Ala-Ser-Asp	C ₆₄ H ₉₄ N ₁₀ O ₁₈	1292,5	1292,3	1,83	B
29	D-Leu-Ala-Leu	C ₆₉ H ₁₀₆ N ₁₀ O ₁₅	1316,7	1316,5	2,28	B
30	Phe-Ser-Glu	C ₇₁ H ₁₀₀ N ₁₀ O ₁₈	1382,6	1382,2	2,02	D
31	Glu-Val-Cit	C ₇₀ H ₁₀₆ N ₁₂ O ₁₈	1404,7	1418,5	1,96	B

32	D-Leu-Ser-Glu	C ₆₈ H ₁₀₂ N ₁₀ O ₁₈	1348,6	1349,2	2,07	B
33	D-Ala-Ala-Cit	C ₆₆ H ₁₀₀ N ₁₂ O ₁₆	1318,6	1318,5	1,86	B
34	Glu-Leu-Cit	C ₇₁ H ₁₀₈ N ₁₂ O ₁₈	1418,7	1418,5	1,96	B
35	D-Leu-Gly-Glu	C ₆₇ H ₁₀₀ N ₁₀ O ₁₇	1318,6	1318,5	2,02	B
36	Glu-Ala-Leu	C ₆₈ H ₁₀₂ N ₁₀ O ₁₇	1332,6	1332,5	2,03	B
38	D-Leu-Aib-Glu	C ₆₉ H ₁₀₄ N ₁₀ O ₁₇	1346,7	1346,4	2,13	D
39	D-Leu-Aib-Cit	C ₇₀ H ₁₀₈ N ₁₂ O ₁₆	1374,7	1375,1	2,11	B
40	Val-Gln-Glu	C ₆₉ H ₁₀₃ N ₁₁ O ₁₈	1375,6	1375,5	1,84	B

[0673] *Аббревиатуры: Aib=α-аминоизомасляная кислота, Cit=цитруллин, Met(O)=метионин сульфоксид, Nal=нафтал-1-ил аланин, (Se-Met)=Селенометионин, Gla=гамма-карбоксиглутамат, Tyr(All)=О-аллил тирозин

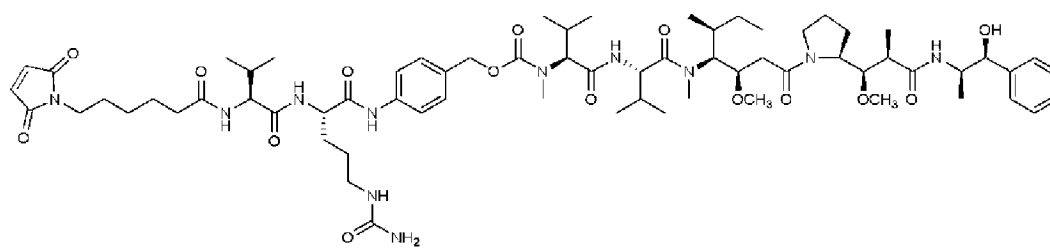
[0674]

Таблица 2А

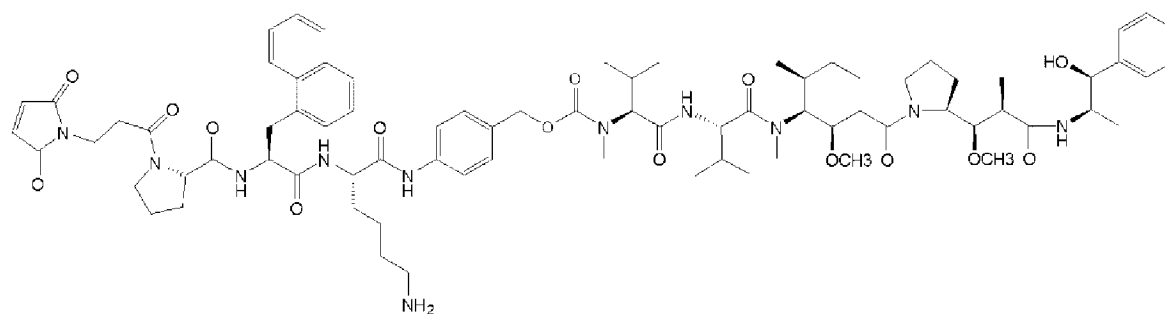
СВЭЖХ-МС данные для выбранного соединения MMAF Лекарственное средство-Линкер

Соединение #	Последовательность трипептида	Молекулярная формула	МС рассчитано (M+H) ⁺	МС найдено	Время удерживания (мин)	Метод
42	D-Leu-Ala-Glu	C ₇₁ H ₁₀₆ N ₁₀ O ₁₈	1389,7	1388,6	2,16	B

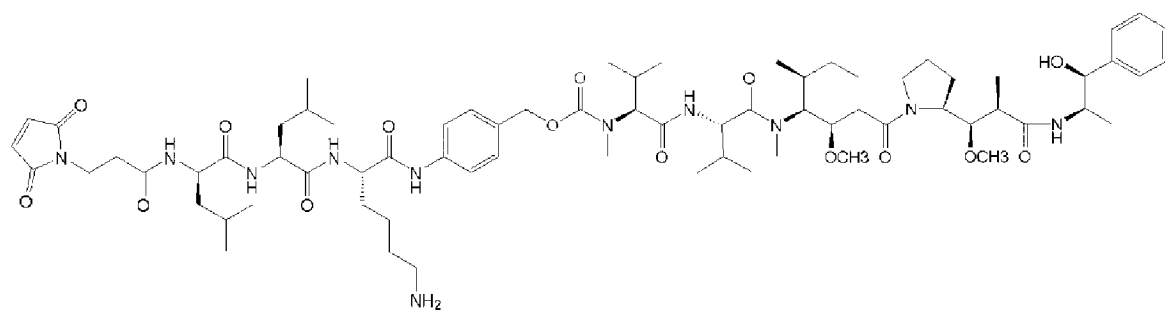
[0675] Структуры соединений Лекарственное средство-Линкер на основе трипептида **2-36** и **38-40** Таблицы 2 и соединения **42** Таблицы 2А, а также сравнительного соединения Лекарственное средство-Линкер на основе дипептида соединения **1**, соединения **7** и соединения **41** представлены ниже:



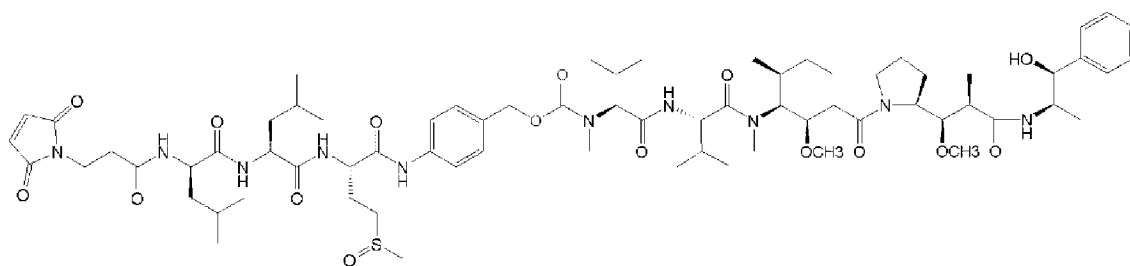
(1)



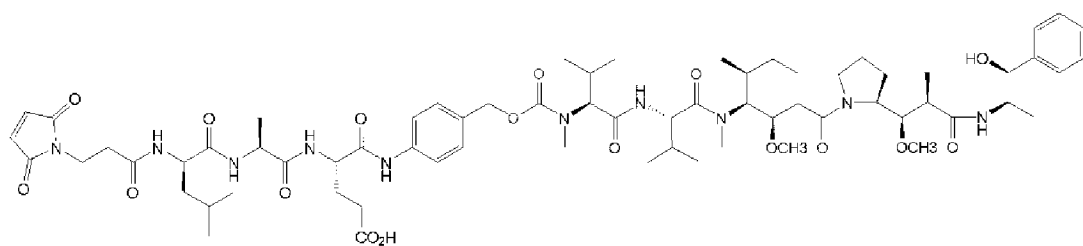
(2)



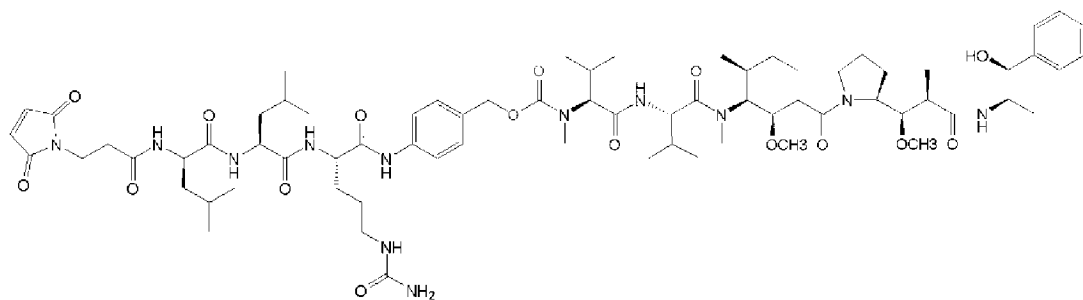
(3)



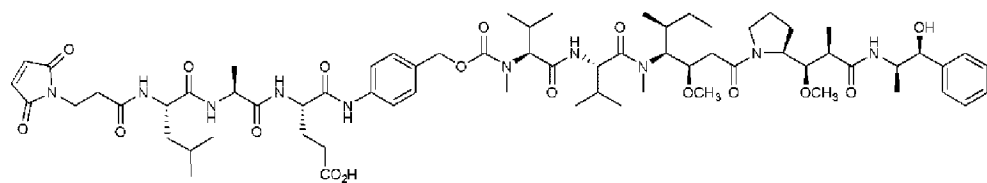
(4)



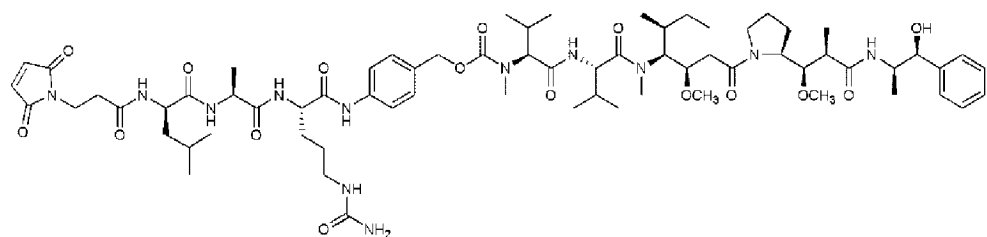
(5)



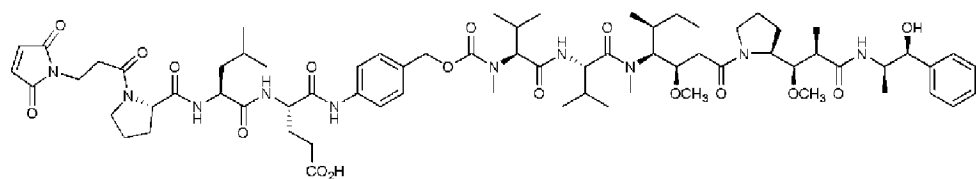
(6)



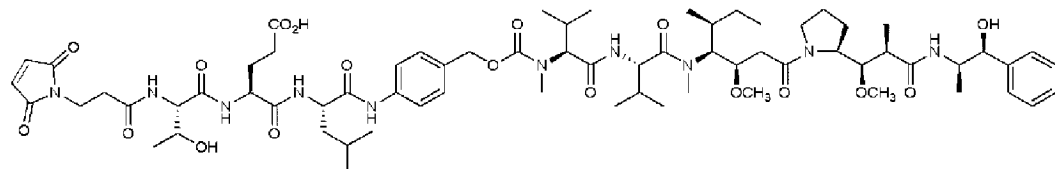
(7)



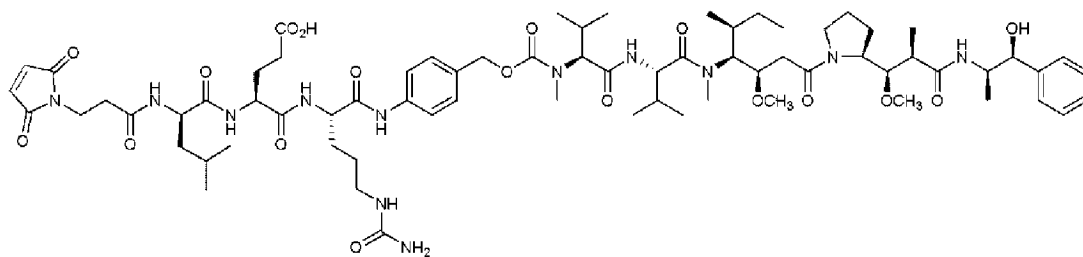
(8)



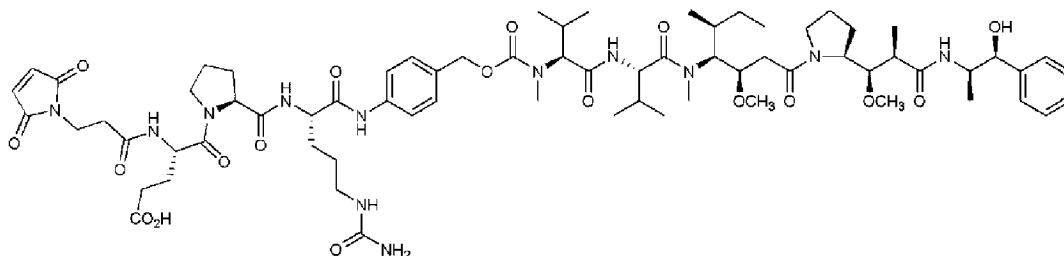
(9)



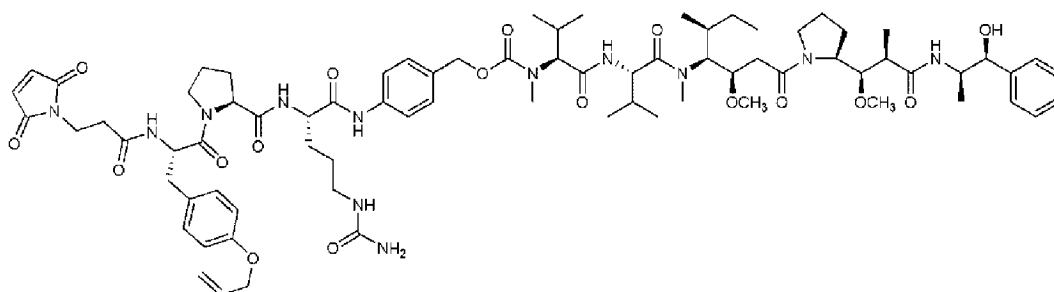
(10)



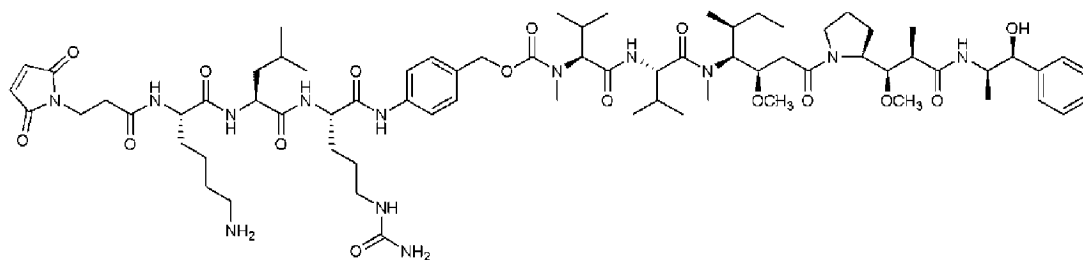
(11)



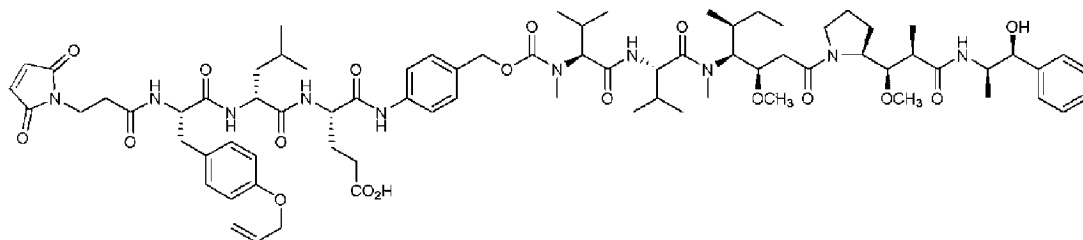
(12)



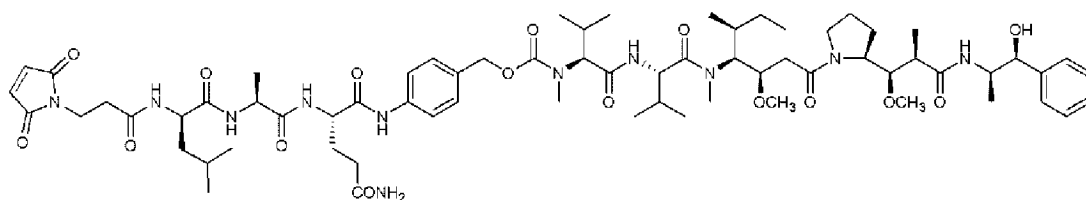
(13)



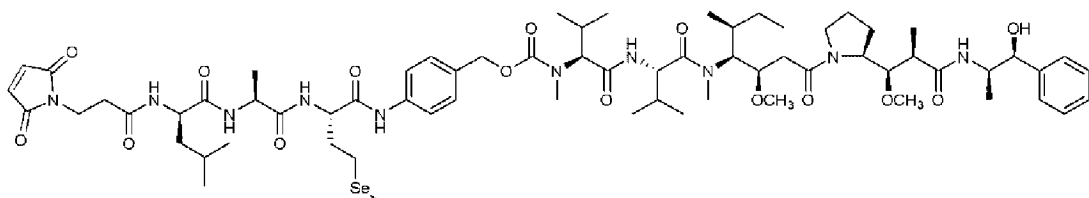
(14)



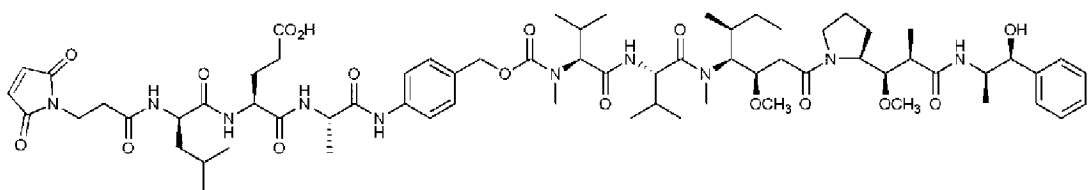
(15)



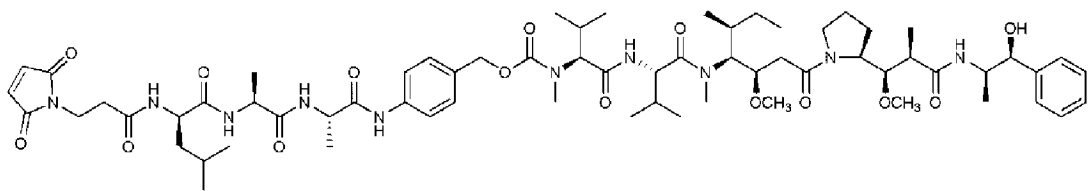
(16)



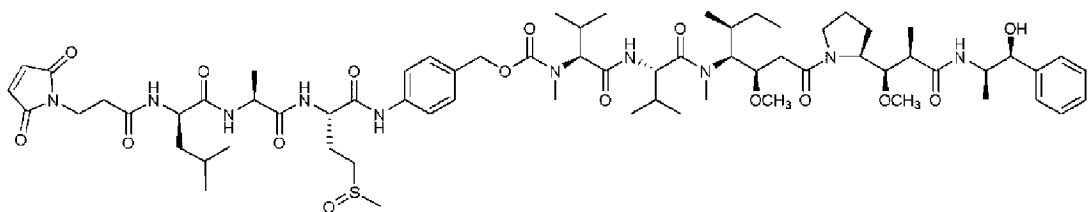
(17)



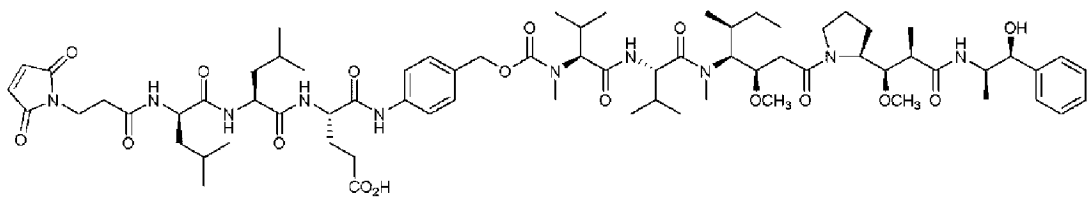
(18)



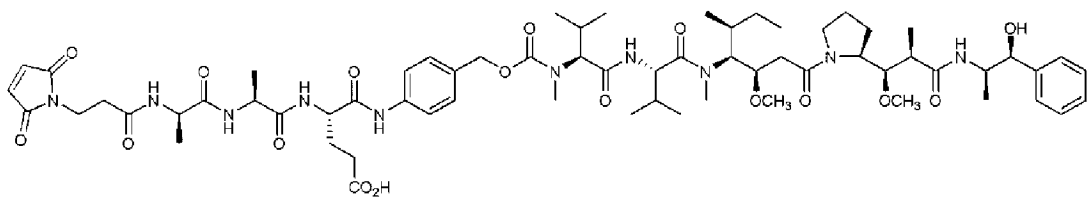
(19)



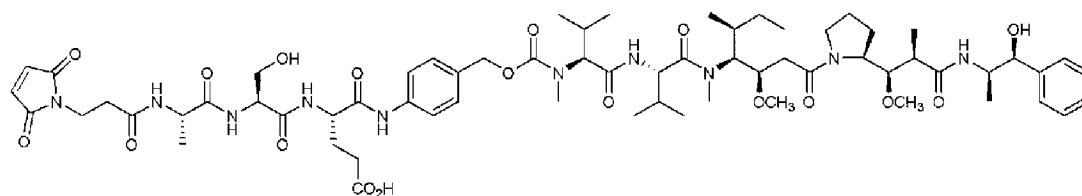
(20)



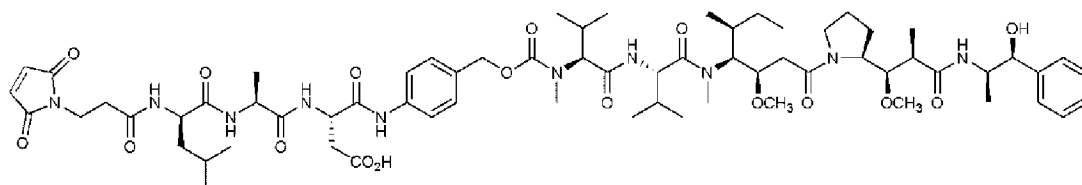
(21)



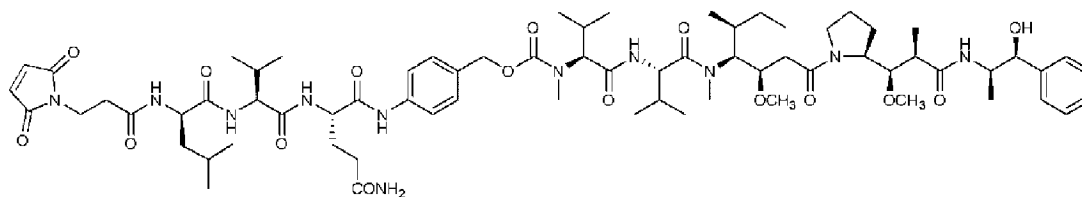
(22)



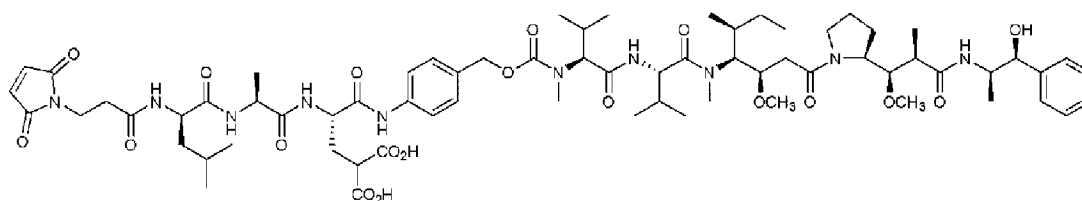
(23)



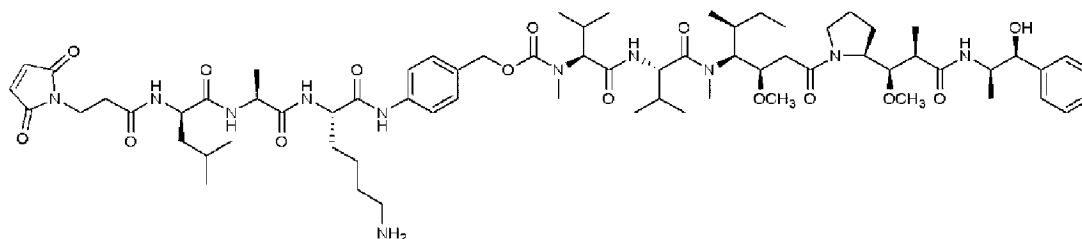
(24)



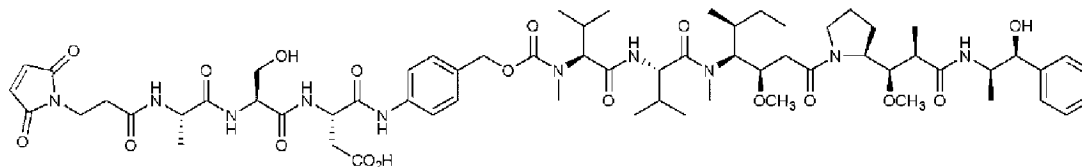
(25)



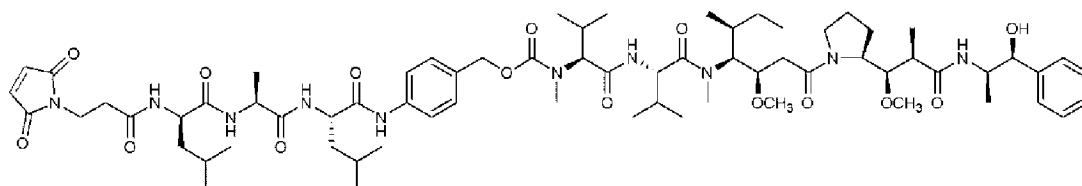
(26)



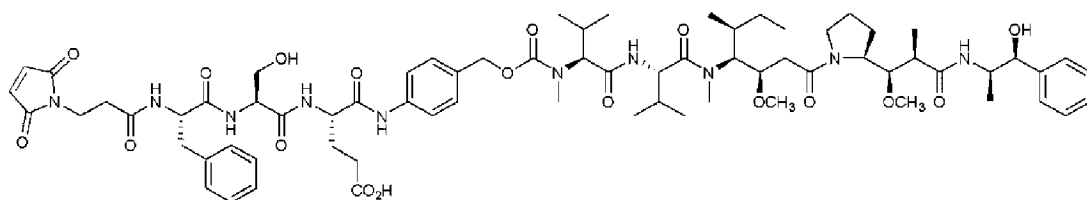
(27)



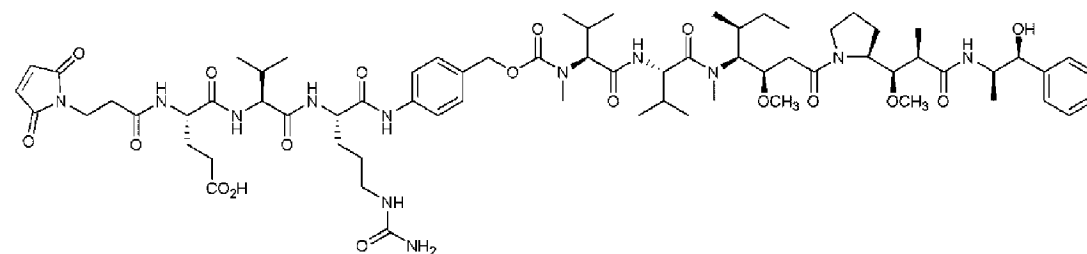
(28)



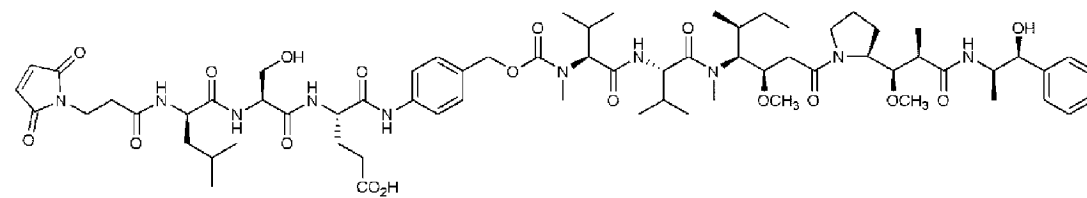
(29)



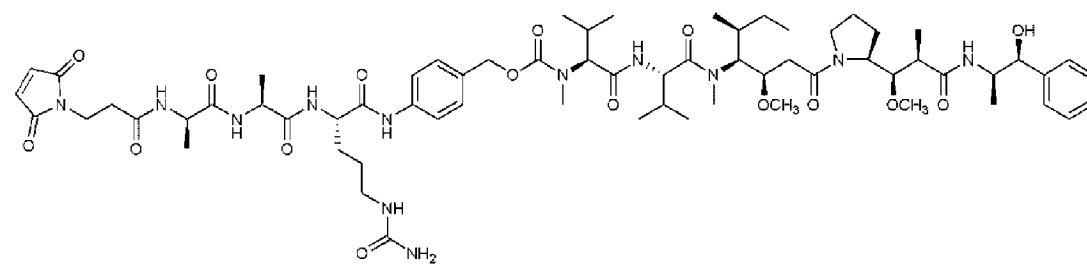
(30)



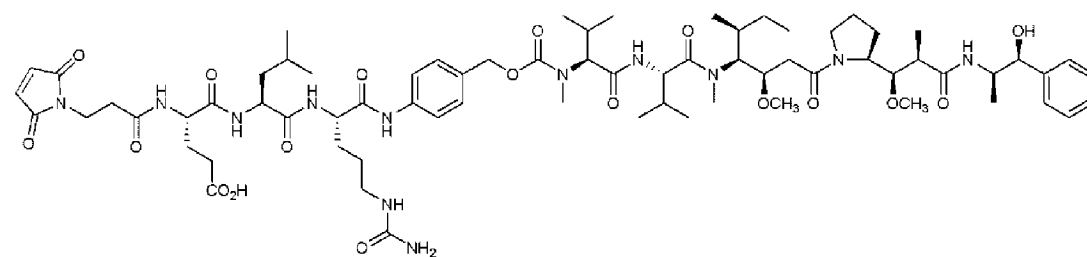
(31)



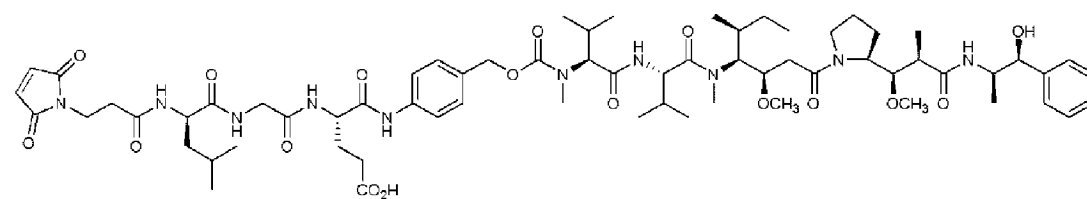
(32)



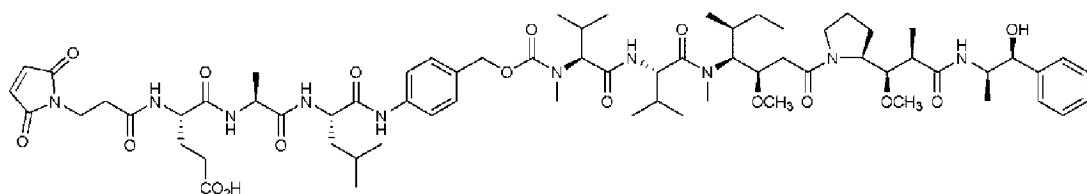
(33)



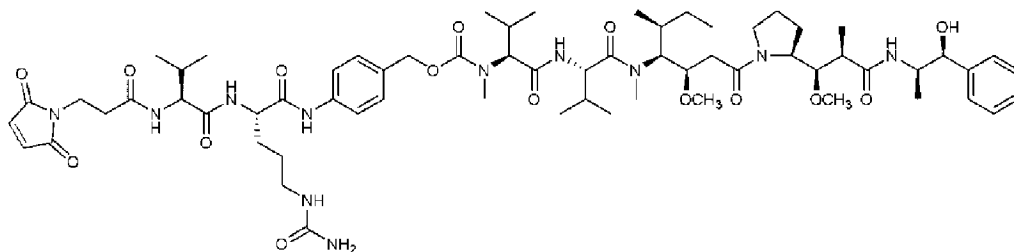
(34)



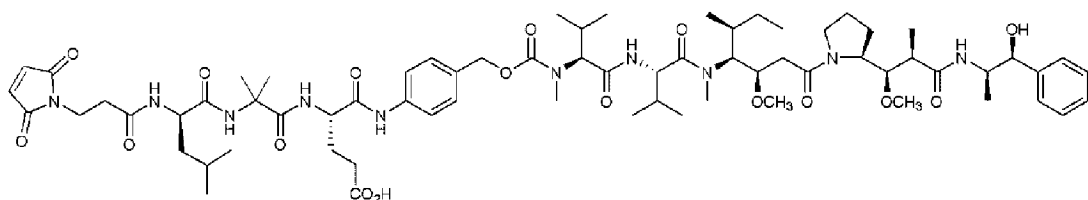
(35)



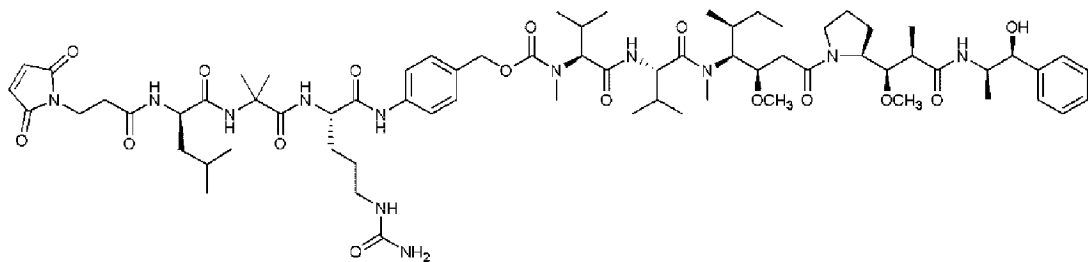
(36)



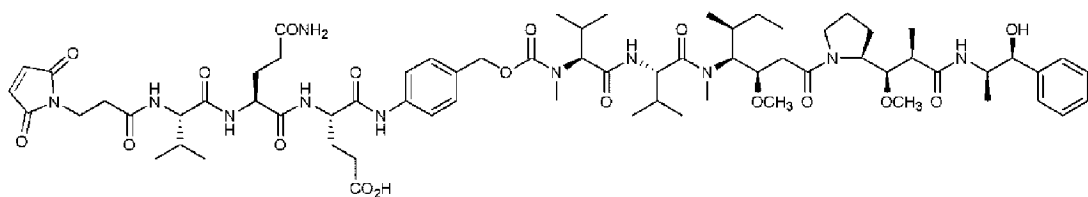
(37)



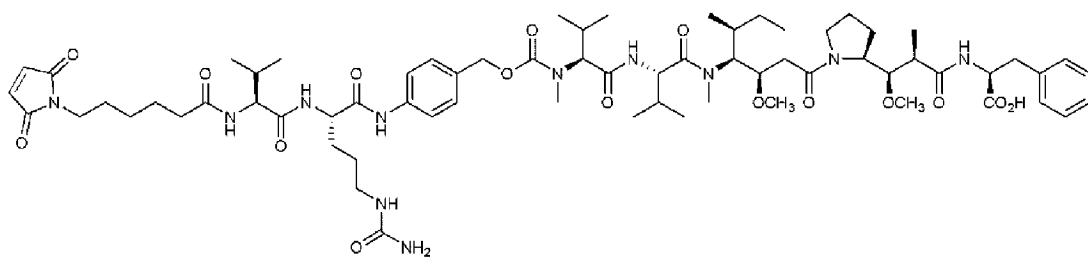
(38)



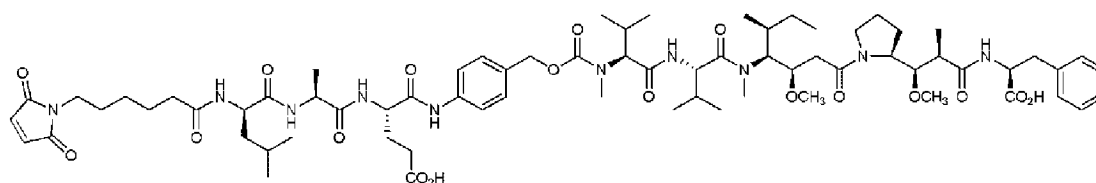
(39)



(40)



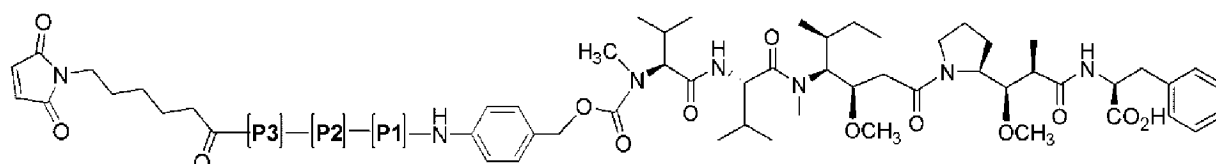
(41)



(42)

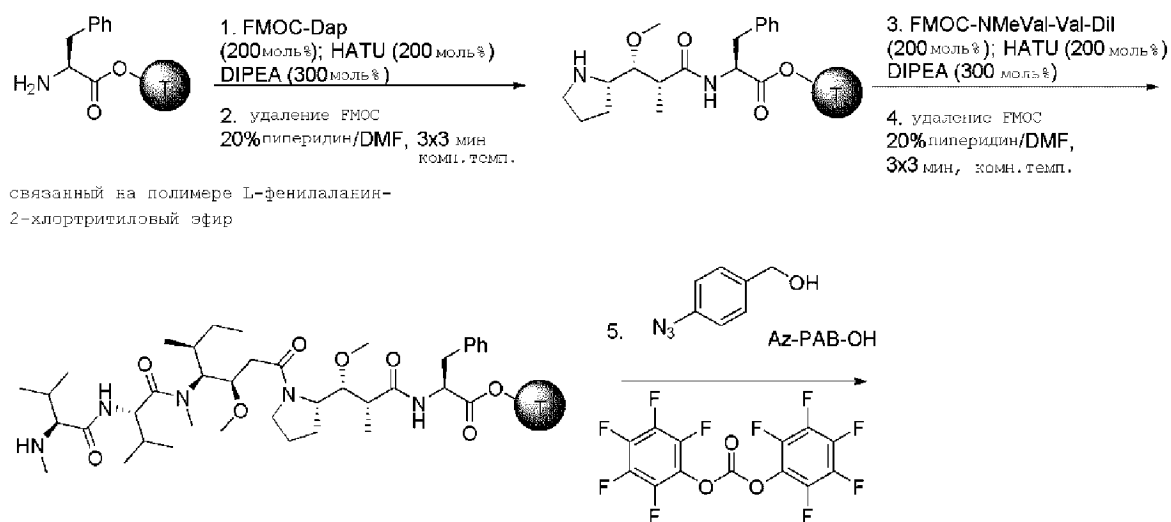
[0676] **Пример 11:** Получение соединений MMAF Лекарственное средство-Линкер на основе трипептида.

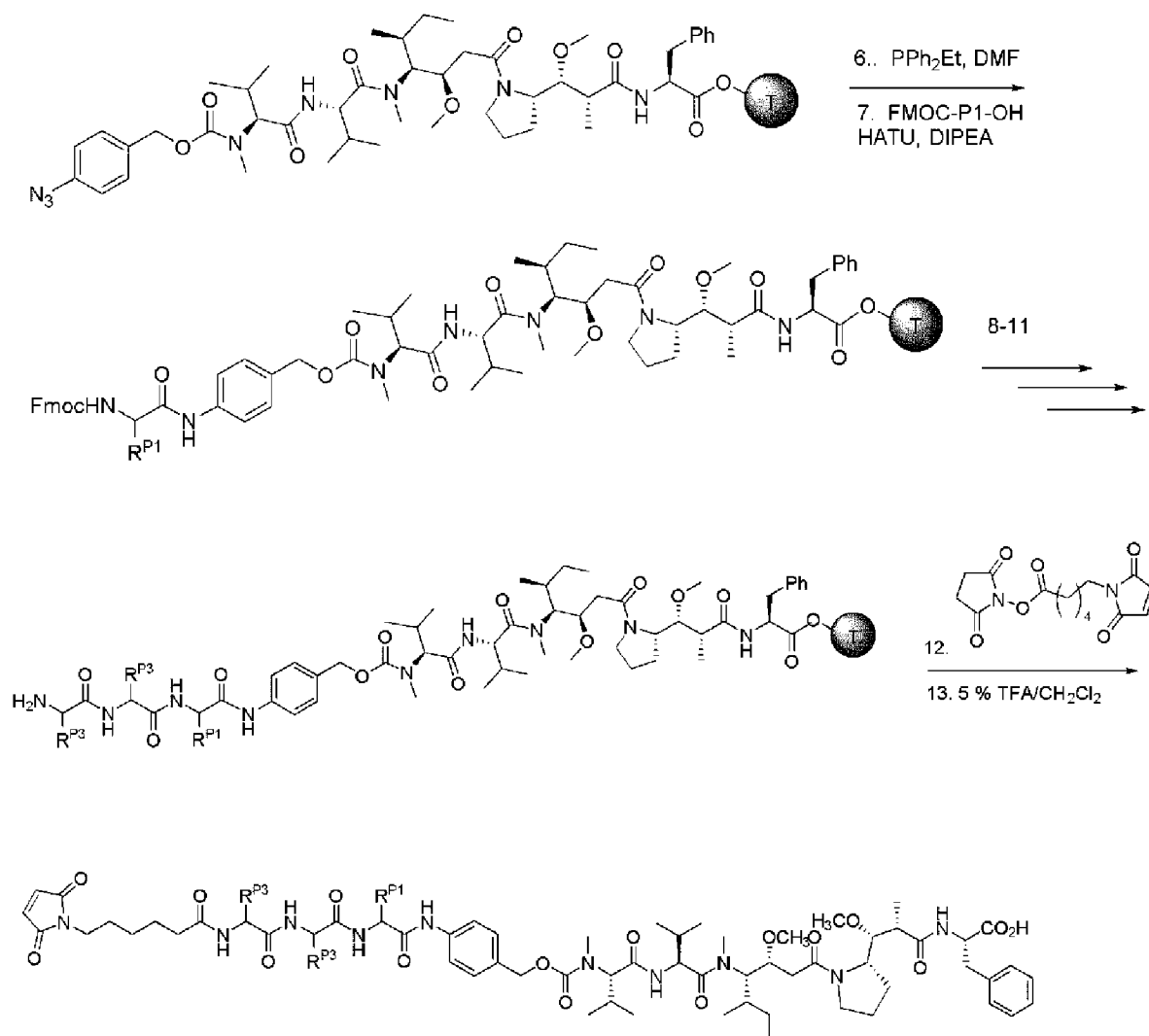
[0677] Соединения Лекарственное средство-Линкер, в которых MMAF представляет собой Лекарственный Компонент и которые можно использовать для получения подобной подгруппы Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, обсуждаемых в Части А, представлены следующей структурой и были получены в соответствии с последовательностью реакций Схемы 4, исходя из коммерчески доступного связанного на полимере L-фенилаланин-2-хлортритилового эфира.



mc-[P3]-[P2]-[P1]-PABC-MMAF

[0678] Схема 4. Получение связанного со смолой MMAF и получаемых из него соединений Лекарственное средство-Линкер на основе трипептида





[0679] На Схемах 3 и 4 R^{P1}, R^{P2} и R^{P3} представляют собой боковые цепи P1, P2 и P3 аминокислотных остатков, соответственно.

[0680] **Пример 12. In vitro** цитотоксичность Конъюгатов Антитело-Лекарственное средство на основе трипептида.

[0681] Конъюгаты Антитело-Лекарственное средство, имеющие отношение лекарственного средства к антителу (DAR) около 4, получали в соответствии с общими процедурами из выбранных соединений MMAE Лекарственное средство-Линкер на основе трипептида Примера 10 и гуманизированного антитела, которое селективно связывается с эпителиальным антигеном (Ag1), который обычно активирован в различных солидных опухолях, включая опухоли поджелудочной железы, головы и шеи, легких и пищевода. Таблица 3 показывает IC₅₀ значения против клеток клеточной линии аденокарциномы поджелудочной железы, в которых Ag1 антиген имеет повышенный уровень экспрессии, для ADC на основе трипептида (2-6) и для сравнительного конъюгата на основе дипептида (1), в котором -val-cit- заменяет трипептидный Расщепляемый Компонент. Таблица 3а показывает IC₅₀ значения против клеток клеточной линии HPAFII, в которых Ag1 антиген имеет повышенный уровень экспрессии, для ADC на основе трипептида (8-10, 13, 16-21, 30, 31, и 38) и для сравнительного конъюгата на основе

дипептида (**1**), в котором -val-cit- заменяет трипептидный Расщепляемый Компонент. Таблица 3b показывает IC₅₀ значения против клеток клеточной линии HPAFII, в которых Ag1 антиген имеет повышенный уровень экспрессии, для ADC на основе трипептида (**7, 15, 22-29, 32-36, 39, и 42**) и для сравнительного конъюгата на основе дипептида (**1 и 41**), в котором -val-cit- заменяет трипептидный Расщепляемый Компонент. Значения в Таблицах 3, 3a, и 3b, представленные курсивом, показывают процент клеток, оставшихся после 96-ч инкубации при максимальной концентрации добавленного лекарственного средства. Для удобства нумерация для членов библиотеки в Таблицах 2 и 2A сохраняется в Таблицах 3, 3a и 3b для соответствующих соединений Лекарственное средство-Линкер, которые включены в ADC.

[0682]

Таблица 3

Цитотоксичность ADC против клеток аденокарциномы поджелудочной железы

ADC	Цитотоксичность	
	IC ₅₀	%
Ag1-1	54	21
Ag1-2	36	21
Ag1-3	22	22
Ag1-4	35	21
Ag1-5	62	23
Ag1-6	30	20

[0683] Результаты, представленные в Таблице 3, показывают, что ADC на основе трипептида (**2-6**) обладают одинаковой эффективностью со сравнительным ADC на основе дипептида (**1**), переносимость которого должна быть улучшена при замене его дипептидного Расщепляемого Компонента каждой из выбранных трипептидных последовательностей.

[0684]

Таблица 3a

Цитотоксичность ADC против клеток HPAFII

ADC	Цитотоксичность	
	IC ₅₀	%
Ag1-1	39	32
Ag1-8	279	39
Ag1-9	85	34
Ag1-10	37	32
Ag1-13	69	21

Ag1-16	83	29
Ag1-17	57	24
Ag1-18	81	27
Ag1-19	29	24
Ag1-20	70	31
Ag1-21	75	25
Ag1-30	144	31
Ag1-31	47	21
Ag1-38	484	54

[0685] Результаты, представленные в Таблице 3а, показывают, что некоторые из ADC на основе трипептида (например, **8** и **30**) менее цитотоксичны, чем сравнительный ADC на основе дипептида (**1**), но столь же эффективны. Результаты, представленные в Таблице 3а, также показывают, что некоторые ADC на основе трипептида (например, **38**) менее цитотоксичны и эффективны, чем сравнительный ADC на основе дипептида (**1**), но менее цитотоксичны для костного мозга крысы, что тем не менее может обеспечить большее терапевтическое окно по сравнению со сравнительным ADC на основе дипептида (**1**).

[0686]

Таблица 3b

Цитотоксичность ADC против клеток HPAFII

ADC	Цитотоксичность	
	IC ₅₀	%
Ag1-1	413	12
Ag1-7	226	29
Ag1-15	802	33
Ag1-22	2210	NA
Ag1-23	581	31
Ag1-24	1239	32
Ag1-25	499	26
Ag1-26	1725	37
Ag1-27	99	11
Ag1-28	768	22
Ag1-29	261	20
Ag1-32	318	32
Ag1-33	279	11

Ag1-34	158	21
Ag1-35	859	27
Ag1-36	160	15
Ag1-39	2352	40
Ag1-41	16	23
Ag1-42	56	30

[0687] Результаты, представленные в Таблице 3b, показывают, что некоторые из ADC на основе трипептида (например, **22, 24, and, 26**) могут быть менее цитотоксичны, чем сравнительный ADC (1), но столь же эффективны.

[0688] **Пример 13.** In vivo цитотоксичность Конъюгатов Антитело-Лекарственное средство на основе трипептида в раковых клетках.

[0689] ADC Таблицы 3 были испытаны в модели ксенотрансплантата, в которой клетки клеточной линии аденокарциномы поджелудочной железы Примера 12 были имплантированы голым мышам. Каждый ADC на основе трипептида вводили при такой же минимальной лечебной дозе (4 мг/кг), которая была определена для сравнительного конъюгата на основе дипептида, чтобы четко отличить разницу в эффективности. Как можно видеть на Фиг. 1A, большинство ADC на основе трипептида по меньшей мере также эффективны, как сравнительный ADC на основе дипептида.

[0690] ADC Таблицы 3a были испытаны в модели ксенотрансплантата, в которой клетки HPAFII клеточной линии Примера 12 имплантировали голым мышам. Каждый ADC на основе трипептида вводили при такой же минимальной лечебной дозе (3 мг/кг), которая была определена для сравнительного конъюгата на основе дипептида, чтобы четко отличить разницу в эффективности. Как можно видеть на Фиг. 1B и 1D, большинство ADC на основе трипептида в основном по меньшей мере также эффективны, как сравнительный ADC на основе дипептида.

[0691] ADC Таблицы 3b были испытаны в модели ксенотрансплантата, в которой клетки HPAFII клеточной линии Примера 12 имплантировали голым мышам. Каждый ADC на основе трипептида вводили при такой же минимальной лечебной дозе (3 мг/кг), за исключением ADC на основе трипептида Ag1-15 и сравнительного ADC на основе дипептида, которые оба испытывали при дозе 6 мг/кг (Фиг. 1C), определенной для сравнительного конъюгата на основе дипептида, чтобы четко отличить разницу в эффективности. Как можно видеть на Фиг. 1C и 1D, некоторые ADC на основе трипептида по меньшей мере также эффективны, как сравнительный ADC на основе дипептида.

[0692] **Пример 14.** In vivo токсичность Конъюгатов Антитело-Лекарственное средство на основе трипептида для костного мозга.

[0693] Показав, что эффективность ADC по меньшей мере сохранялась при замене дипептида большинством из выбранных трипептидных последовательностей, разницу в цитотоксичности in vivo против нормальной ткани костного мозга исследовали путем замены антитела, нацеливающегося на Ag1 антиген, не связывающимся контрольным

(h00) антителом. Каждый из полученных не нацеленно действующих конъюгатов затем вводили при 10 мг/кг крысам, чью кровь анализировали в день 5 после введения на количество нейтрофилов и ретикулоцитов в качестве показателя токсичности для костного мозга по сравнению с получившими имитацию лечения животными. Как можно видеть на Фиг. 2, некоторые из h00 конъюгатов на основе трипептида из Таблиц 3, 3a и 3b показали улучшение количества нейтрофилов по сравнению с сравнительным конъюгатом на основе дипептида (h00-1). Что касается количества нейтрофилов, не связывающиеся конъюгаты на основе трипептида h00-4 и h00-5 показали аналогичное сохранение этого типа клеток в костном мозге по сравнению с h00-1. Однако из не связывающихся конъюгатов аналогичных направленно действующим ADC Таблицы 3 только D-Leu-Ala-Glu не связывающийся контрольный конъюгат (h00-5), соответствующий направленно действующему ADC на основе трипептида Таблицы 3 (Agl-5), показал улучшенное количество ретикулоцитов по сравнению с сравнительным Конъюгатом при испытываемой дозе. Гораздо больше не связывающихся конъюгатов аналогичных направленно действующим ADC Таблиц 3a и 3b показали лучшее сохранение количества нейтрофилов по сравнению с h00-1. Сравнения между Фиг. 2 и 3, по всей видимости, показывают, что ретикулоциты более чувствительны к не связывающимся MMAE конъюгатам, чем нейтрофилы, что считается причиной того, что отличия между другими h00 не связывающимися конъюгатами на основе трипептида, которые аналогичны направленно действующим ADC Таблицы 3, друг от друга или от h00-1 нельзя было установить при испытываемой дозе. Гораздо больше не связывающихся конъюгатов аналогичных направленно действующим ADC Таблиц 3a и 3b показали улучшенное сохранение количества ретикулоцитов по сравнению с h00-1.

[0694] Гистопатология костного мозга с ИНС для моноклеарных клеток, которая показана на Фиг. 4, подтверждает сохранение моноклеарных клеток костного мозга h00-4 и h00-5 конъюгатом на основе трипептида по сравнению с введением сравнительного h00-1 на основе дипептида, при этом результат от введения h00-5 конъюгата почти неотличим от имитации лечения.

[0695] Фиг. 2 и 3 включают данные для h00-7, в котором трипептидная последовательность представляет собой Leu-Ala-Glu. Этот трипептид идентичен трипептиду в h00-5, за исключением того, что стереохимическая конфигурация R3 аминокислоты изменена на противоположную. Оказалось, что оба h00-5 и h00-7 менее токсичны для костного мозга, чем другие не связывающиеся контрольные ADC, при этом h00-5 является лучшим в отношении сохранения более чувствительных ретикулоцитов.

[0696] Фиг. 14 показывает концентрацию антитела во внеклеточном компартменте костного мозга крыс после введения неселективно действующих ADC (h00-37 и h00-5).

[0697] Фиг. 16 показывает истощение ретикулоцитов в дни 5 и 8 после введения дозы h00-5 и h00-7 после введения крысам при 20 мг/кг. Фиг. 17 показывает истощение нейтрофилов в дни 5 и 8 после введения дозы h00-5 и h00-7 после введения крысам при 20 мг/кг.

[0698] Фиг. 18 показывает гистологию кости в дни 5 и 8 после введения дозы h00-5 и h00-7 после введения крысам при 20 мг/кг.

[0699] **Пример 15.** In vivo метаболизм ADC на основе трипептида

[0700] Неспецифическое высвобождение свободного лекарственного средства из ADC является одним механизмом, который способствует нецелевой токсичности для нормальных клеток. Для определения, является ли сохранение костного мозга, наблюдаемое для h00-4 и h00-5 ADC по сравнению с h00-1 ADC, результатом уменьшения высвобождения свободного MMAE из ADC на основе трипептида, плазму из исследования токсичности Примера 14 анализировали на этот метаболит методом ВЭЖХ-МС.

[0701] Как показано на Фиг. 5А, концентрация свободного MMAE после введения h00-4 или h00-5 оставалась ниже концентрации, обнаруженной после введения h00-1, на протяжении всего периода исследования токсичности, при этом h00-5 конъюгат был лучшим в этом отношении. Кроме того, Фиг. 5В показывает, что h00-5 конъюгаты, которые содержат РЗ аминокислоту в D стереохимической конфигурации, имеют неспецифическое высвобождение MMAE меньше, чем h00-7, который идентичен h00-5, за исключением того, что РЗ аминокислота находится в противоположной стереохимической конфигурации. Таким образом, оказалось, что присутствие аминокислоты в неприродной конфигурации в положении РЗ придает улучшенную стабильность ADC на основе трипептида.

[0702] Фиг. 15 показывает количество свободного MMAE в клетках костного мозга крыс после введения неселективно действующих ADC (h00-37 и h00-5).

[0703] **Пример 16.** Анализ действия нейтрофильной эластазы на Конъюгаты Антитело-Лекарственное средство на основе трипептида

[0704] К смеси ADC с нагрузкой=8 (5 мкг), буфера (100 mM tris, 75 mM NaCl, pH 7,5; конечная концентрация) и нейтрофильной эластазы (100 нг) добавляли воду до 20 мкл. Реакционную смесь инкубировали при 37°C в течение 3 ч и затем сразу анализировали на QToF масс-спектрометре.

[0705] Как показано на Фиг. 6А, процент лекарственного средства, отщепленного от тяжелой цепи неселективно действующего ADC 5 in vitro под действием нейтрофильной эластазы, ниже, чем обнаруженный для неселективно действующего ADC 37. Кроме того, Фиг. 6А показывает, что в h00-5 конъюгате, который содержит РЗ аминокислоту в D стереохимической конфигурации, его тяжелая цепь расщепляется под действием нейтрофильной эластазы в значительно меньшей степени, чем в h00-7, который идентичен h00-5, за исключением того, что РЗ аминокислота находится в противоположной стереохимической конфигурации. Фактически, никакого протеолиза h00-5 под действием нейтрофильной эластазы не наблюдали. Таким образом, оказалось, что присутствие аминокислоты в неприродной конфигурации в положении РЗ придает улучшенную стабильность ADC на основе трипептида.

[0706] **Пример 17.** Анализ действия катепсина В на Конъюгаты Антитело-

Лекарственное средство на основе трипептида

[0707] К смеси ADC с нагрузкой=8 (5 мкг), буфера (50 mM цитрат, 75 mM NaCl, pH 4,5; конечная концентрация), катепсина В (100 нг) и активирующего буфера (2 mM DTT/1,33 mM EDTA конечная концентрация) добавляли воду до 20 мкл. Реакционную смесь инкубировали при 37°C в течение 3 ч и затем сразу анализировали на QToF масс-спектрометре.

[0707] Как показано на Фиг. 6В, процент лекарственного средства, отщепленного от тяжелой цепи неселективно действующих ADC 5 и 7 *in vitro* под действием Катепсина В аналогичен обнаруженному для неселективно действующего ADC 37, предполагая, что D-Leu-Ala-Glu не связывающийся контрольный конъюгат (h00-5) расщепляется лизосомальной протеазой аналогично Val-Cit не связывающемуся контрольному конъюгату (h00-37).

[0709] **Пример 18. In vitro** анализ агрегации в плазме Конъюгатов Антитело-Лекарственное средство на основе трипептида

[0710] ADC метили Alexa Fluor 488 TFP эфиром (Molecular Probes), обессоливали, буфер обменивали на PBS, pH 7,4 (Gibco), и стерильно фильтровали. Концентрацию и степень мечения полученного ADC-AF488 конъюгата определяли методом УФ-поглощения перед заморозкой при -80°C. В день эксперимента AF488-ADC разводили в плазме и инкубировали при 37°C. В указанных временных точках аликвоты анализировали методом эксклюзионной СВЭЖХ с детекцией флуоресценции. Полученные хроматограммы анализировали для определения % высокомолекулярных видов.

[0711] Агрегация, как оказалось, была ниже для трипептида MMAF, чем Val-Cit-MMAF. На основании корреляции, наблюдаемой с MMAE, трипептид MMAF будет менее токсичным.

[0712] Фиг. 7 показывает агрегацию неселективно действующих ADC после инкубации в плазме крыс в течение 96.

[0713] Фиг. 8 показывает агрегацию неселективно действующих ADC после инкубации в плазме обезьян в течение 96.

[0714] Фиг. 9 показывает агрегацию неселективно действующих ADC после инкубации в плазме человека в течение 96.

[0715] Фиг. 10 показывает агрегацию неселективно действующих MMAF ADC (h00-41 и h00-42) после инкубации в плазме крыс.

[0716] Фиг. 11 показывает корреляцию истощения ретикулоцитов неселективно действующими ADC у крыс и агрегацию ADC в плазме крыс после 96-ч инкубации.

[0717] Фиг. 12 показывает корреляцию истощения ретикулоцитов неселективно действующими ADC у крыс и агрегацию ADC в плазме обезьян после 96-ч инкубации.

[0718] Фиг. 13 показывает корреляцию истощения ретикулоцитов неселективно действующими ADC у крыс и агрегацию ADC в плазме человека после 96-ч инкубации.

[0719] На Фиг. 19, где показана корреляция между cLogP линкеров и агрегацией

соответствующего h00 конъюгата в плазме крыс, корреляция $r=0,715$ указывает, что присутствие HMW положительно коррелирует с clogP (т.е. линкеры с более низкими cLogP значениями показывают меньшую агрегацию, чем линкеры с более высокими clogP). Линкеры с низкими cLogP значениями имеют низкую гидрофобность, которые включают линкеры с полярными аминокислотами.

[0720] На Фиг. 20, где показана корреляция между истощением ретикулоцитов, вызываемым неселективно действующими ADC, у крыс и агрегацией ADC в плазме крыс, корреляция $r=-0,748$ указывает, что присутствие HMW отрицательно коррелирует с ретикулоцитами (т.е. чем больше % HMW, тем больше истощение ретикулоцитов).

[0721] На Фиг. 21, где показана корреляция между истощением ретикулоцитов, вызываемым неселективно действующими ADC, у крыс и агрегацией ADC в плазме крыс, корреляция $r=-0,800$ указывает, что присутствие HMW отрицательно коррелирует с ретикулоцитами (т.е. чем больше % HMW, тем больше истощение ретикулоцитов).

[0722] На Фиг. 22, где показана корреляция между истощением ретикулоцитов, вызываемым неселективно действующими ADC, у крыс и агрегацией ADC в плазме обезьян, корреляция $r=-0,755$ указывает, что присутствие HMW отрицательно коррелирует с ретикулоцитами (т.е. чем больше % HMW, тем больше истощение ретикулоцитов).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, представленная формулой 1:



или фармацевтически приемлемая соль вышеуказанного соединения, где

L представляет собой Лигандный Компонент;

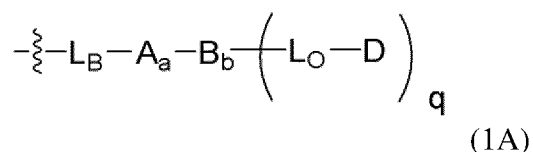
LU представляет собой Линкерный Компонент;

D' представляет собой от 1 до 4 Лекарственных Единиц (D) в каждом фрагменте лекарственное средство-линкер формулы -LU-D'; и

нижний индекс p представляет собой число от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или имеет значение около 4 или около 8,

где Лигандный Компонент происходит из антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела, которое способно селективно связываться с антигеном опухолевой ткани для последующего высвобождения Лекарственного Компонента(Лекарственных Единиц) в виде свободного лекарственного средства,

где фрагмент лекарственное средство-линкер формулы -LU-D' в каждом из соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство композиции имеет структуру формулы 1A:



или его соль,

где волнистая линия указывает ковалентное присоединение к L;

D представляет собой Лекарственный Компонент;

L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающийся с лигандом;

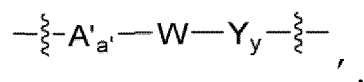
A представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент;

нижний индекс a равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A, соответственно;

B представляет собой необязательный Разветвляющийся Компонент;

нижний индекс b равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие B, соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, где вторичный линкер имеет формулу;



где волнистая линия смежная с Y указывает место ковалентного присоединения L_O к Лекарственному Компоненту, а волнистая линия смежная с A' указывает место ковалентного присоединения к остальной части фрагмента лекарственное средство-линкер;

A' представляет собой второй необязательный Удлиняющий Компонент, который в отсутствие B становится субъединицей A ,

нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A' , соответственно,

W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент, где Пептидный Расщепляемый Компонент включает трипептид, имеющий последовательность $-P3-P2-P1-$, где $P1$, $P2$ и $P3$ каждый представляет собой аминокислоту, где:

первая из аминокислот $P1$, $P2$ или $P3$ отрицательно заряжена;

вторая из аминокислот $P1$, $P2$ или $P3$ имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина; и

третья из аминокислот $P1$, $P2$ или $P3$ имеет гидрофобность меньше, чем у лейцина,

где первая из аминокислот $P1$, $P2$ или $P3$ соответствует любой из $P1$, $P2$ или $P3$, вторая из аминокислот $P1$, $P2$ или $P3$ соответствует одной из двух оставшихся аминокислот $P1$, $P2$ или $P3$, и третья из аминокислот $P1$, $P2$ или $P3$ соответствует последним оставшимся аминокислотам $P1$, $P2$ или $P3$,

при условии, что $-P3-P2-P1-$ не является $-Glu-Val-Cit-$ или $-Asp-Val-Cit-$;

Y представляет собой саморасщепляющийся Спейсерный Компонент;

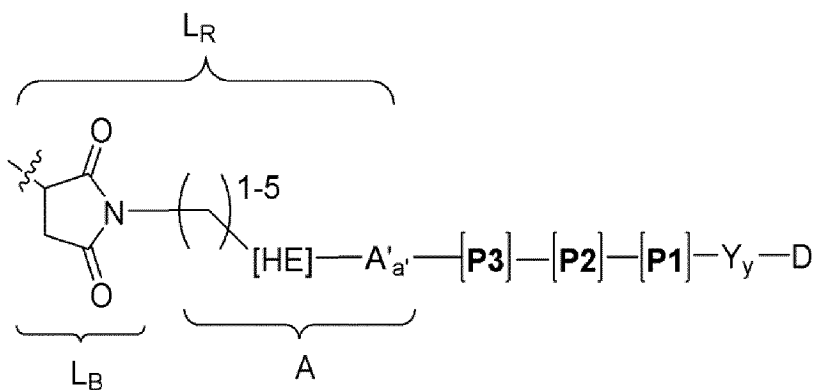
нижний индекс y равен 0, 1 или 2, указывая на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y , соответственно; и

нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 4,

при условии, что нижний индекс q равен 1, когда нижний индекс b равен 0, и нижний индекс q имеет значение 2, 3 или 4, когда нижний индекс b равен 1; и

где соединения-конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство композиции имеют структуру формулы 1, где нижний индекс r заменен нижним индексом r' , где нижний индекс r' представляет собой целое число от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или равное 4 или 8.

2. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство по п. 1, где соединения-конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство преимущественно содержат фрагменты лекарственное средство-линкер формулы 1H:



(Формула 1H)

или их фармацевтически приемлемые соли, и при этом необязательно содержится небольшое количество соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, в которых один или несколько из фрагментов лекарственное средство-линкер в каждом из таких соединений имеет свое сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и где

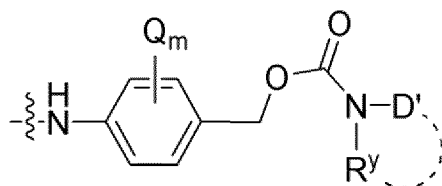
НЕ представляет собой Усиливающий Гидролиз Компонент;

A' представляет собой субъединицу, если присутствует, указанного первого Удлиняющего Компонента (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A'; и

волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы Лигандного Компонента.

3. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство по п. 2, где НЕ представляет собой -C(=O).

4. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство по любому из пп. 1-3, где -Y_y-D имеет структуру:



где -N(R^y)D' представляет собой D, где D' представляет собой остальную часть D;

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к P1;

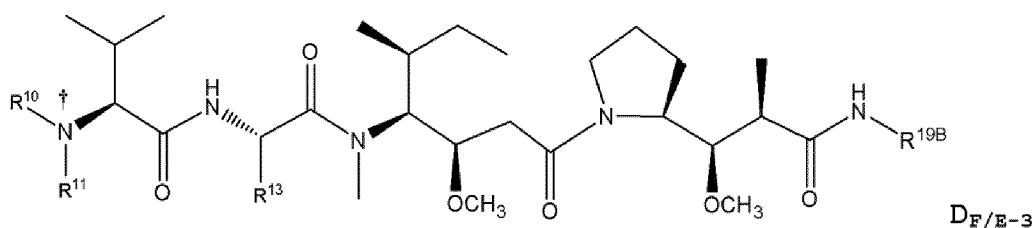
пунктирная линия указывает необязательную циклизацию R^y с D';

R^y представляет собой необязательно замещенный C₁-C₆ алкил в отсутствие циклизации с D' или необязательно замещенный C₁-C₆ алкилен при циклизации с D';

каждый Q независимо выбран из группы, состоящей из -C₁-C₈ алкила, -O-(C₁-C₈ алкил), галогена, нитро и циано; и

нижний индекс m равен 0, 1 или 2.

5. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство по любому из пп. 1-4, где D представляет собой цитотоксическое лекарственное средство, где цитотоксическое лекарственное средство представляет собой содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение, где атом азота вторичного амина представляет собой место ковалентного присоединения к фрагменту лекарственное средство-линкер и содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение имеет структуру формулы D_{F/E-3}:



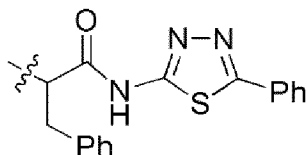
где крестик указывает место ковалентного присоединения атома азота, который

образует карбаматную функциональную группу;

один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил;

R^{13} представляет собой изопропил или $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$; и

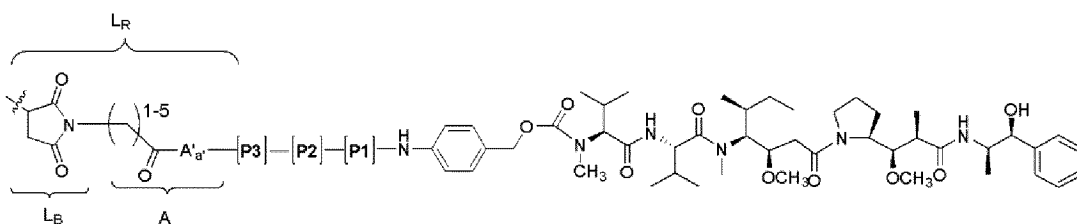
R^{19B} представляет собой $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{OH})-\text{Ph}$, $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})-2$ -тиазолил, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})-2$ -пиридил, $-\text{CH}(\text{CH}_2-p\text{-Cl-Ph})$, $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{Me})-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{Me})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3)\text{C}(=\text{O})\text{NH}$ -хинол-3-ил, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})\text{C}(=\text{O})\text{NH}-p\text{-Cl-Ph}$, или



R^{19B} имеет структуру , где волнистая линия указывает ковалентное присоединение к остальной части ауристатинового соединения.

6. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство по п. 5, где содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение представляет собой монометилауристатин E (ММАЕ) или монометилауристатин F (ММАF).

7. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство по п. 1, где нижний индекс q равен 1 и соединения-конъюгаты Лиганд-Лекарственное средство в композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство преимущественно содержат фрагменты лекарственное средство-линкер формулы 1H-ММАЕ:



(Формула 1H-ММАЕ)

или фармацевтически приемлемую соль вышеуказанного соединения, и при этом необязательно содержится небольшое количество соединений-конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство, в которых один или несколько из фрагментов лекарственное средство-линкер в каждом из таких соединений имеет свое сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и где:

нижний индекс a' равен 0, и A' отсутствует; и

волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы Лигандного Компонента.

8. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство по любому из пп. 1-7, или фармацевтически приемлемая соль вышеуказанного соединения, где Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой трипептид, имеющий последовательность - P3-P2-P1-, где P1, P2 и P3 каждый представляет собой аминокислоту, где:

P3 аминокислота трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации;

одна из P2 и P1 аминокислот имеет алифатическую боковую цепь с

гидрофобностью меньше, чем у лейцина; а

другая из P2 и P1 аминокислот отрицательно заряжена.

9. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство по любому из пп. 1-8, или фармацевтически приемлемая соль вышеуказанного соединения, где P3 аминокислота представляет собой D-Leu или D-Ala.

10. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство по любому из пп. 1-9, или фармацевтически приемлемая соль вышеуказанного соединения, где одна из P2 или P1 аминокислот имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у валина, а другая из P2 или P1 аминокислот отрицательно заряжена при физиологическом pH плазмы.

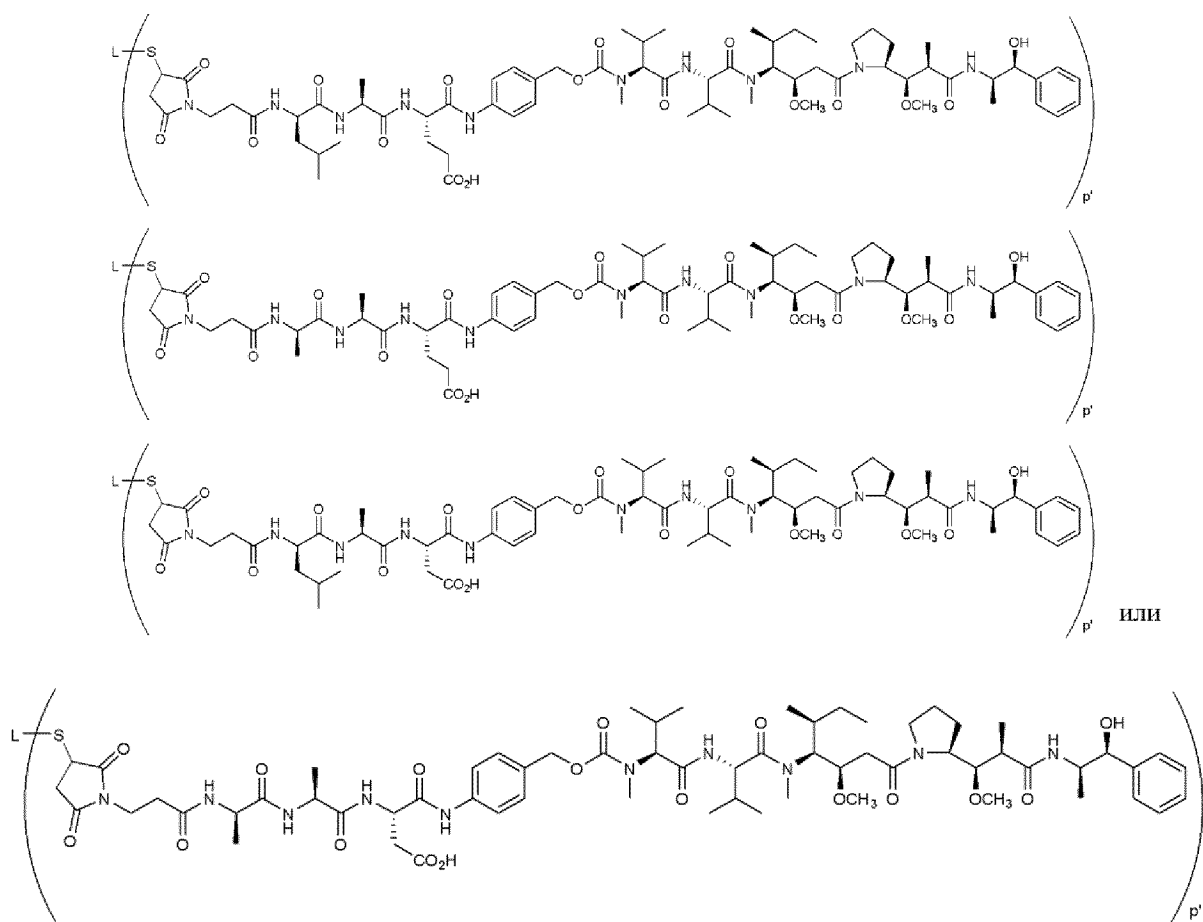
11. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство по любому из пп. 1-10, или фармацевтически приемлемая соль вышеуказанного соединения, где P2 аминокислота имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у валина, а P1 аминокислота отрицательно заряжена при физиологическом pH плазмы.

12. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство по любому из пп. 1-11, или фармацевтически приемлемая соль вышеуказанного соединения, где -P2-P1- представляет собой -Ala-Glu- или -Ala-Asp-.

13. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство по любому из пп. 1-12, или фармацевтически приемлемая соль вышеуказанного соединения, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-.

14. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство по любому из пп. 1-10, или соль вышеуказанного соединения, где P3 аминокислота представляет собой D-Leu или D-Ala, P2 аминокислота представляет собой Ala, Glu или Asp, и P1 аминокислота представляет собой Ala, Glu или Asp.

15. Соединение-конъюгат Лиганд-Лекарственное средство по п. 1, где соединение имеет структуру:



или его фармацевтически приемлемая соль,

где L представляет собой Лигандный Компонент, и нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 12.

16. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство по любому из пп. 1-15, где L представляет собой Лигандный Компонент, включающий антитело, представляющее собой интактное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

17. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство по п. 16, где интактное антитело или его фрагмент способны селективно связываться с антигеном раковой клетки.

18. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство по п. 16, где интактное антитело представляет собой химерное, гуманизированное или человеческое антитело, где антитело способно селективно связываться с антигеном раковой клетки, или антитело представляет собой не связывающееся контрольное антитело, определяющее, таким образом, композицию не связывающегося контрольного Конъюгата.

19. Композиция Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство по любому из пп. 1-18, где нижний индекс p имеет значение от около 2 до около 12, или от около 2 до около 10, или от около 2 до около 8, или нижний индекс p имеет значение около 2, около 4 или около 8.

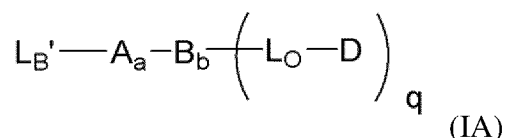
20. Фармацевтически приемлемая композиция, где композиция включает

эффективное количество композиции Конъюгатов Лиганд-Лекарственное средство или эквивалентное количество не связывающегося контрольного Конъюгата по любому из пп. 1-15 и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент.

21. Фармацевтически приемлемая композиция по п. 20, где по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент представляет собой жидкий носитель, который обеспечивает жидкую композицию, где жидкая композиция является подходящей для лиофилизации или введения субъекту, нуждающемуся в этом.

22. Фармацевтически приемлемая композиция по п. 20, где композиция представляет собой твердое вещество, полученное лиофилизацией, или жидкую композицию по п. 21, где по меньшей мере один эксципиент твердой композиции представляет собой лиопротектор.

23. Соединение Лекарственное средство-Линкер формулы IA:



или его соль, где

D представляет собой Лекарственный Компонент;

L_B' представляет собой предшественник ковалентно связывающегося с лигандом фрагмента;

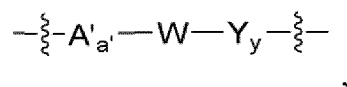
A представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент;

нижний индекс a равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A, соответственно;

B представляет собой необязательный Разветвляющийся Компонент;

нижний индекс b равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие B, соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, где вторичный линкер имеет формулу;

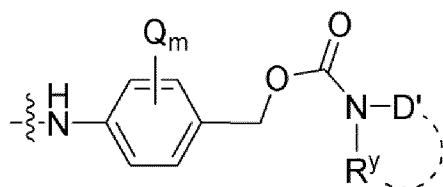


где волнистая линия смежная с Y указывает место ковалентного присоединения L_O к Лекарственному Компоненту, а волнистая линия смежная с A' указывает место ковалентного присоединения к остальной части соединения Лекарственное средство-Линкер;

A' представляет собой второй необязательный Удлиняющий Компонент, который в отсутствие B становится субъединицей A;

нижний индекс a' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A', соответственно,

W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент, где Пептидный Расщепляемый Компонент включает трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-,



где $-N(R^y)D'$ представляет собой D, где D' представляет собой остальную часть D;

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к P1;

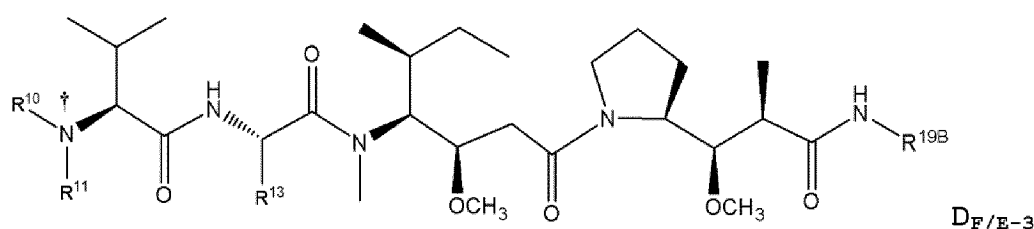
пунктирная линия указывает необязательную циклизацию R^y с D' ;

R^y представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_6 алкил в отсутствие циклизации с D' или необязательно замещенный C_1 - C_6 алкилен при циклизации с D' ;

каждый Q независимо выбран из группы, состоящей из $-C_1$ - C_8 алкила, $-O-(C_1-C_8)$ алкил), галогена, нитро и циано; и

нижний индекс m равен 0, 1 или 2.

27. Соединение Лекарственное средство-Линкер по любому из пп. 23-26, где D представляет собой цитотоксическое лекарственное средство, где цитотоксическое лекарственное средство представляет собой содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение, где атом азота вторичного амина представляет собой место ковалентного присоединения к фрагменту лекарственное средство-линкер и содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение имеет структуру формулы $D_{F/E-3}$:

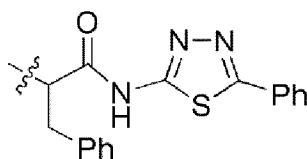


где крестик указывает место ковалентного присоединения атома азота, который образует карбаматную функциональную группу;

один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил;

R^{13} представляет собой изопропил или $-CH_2-CH(CH_3)_2$; и

R^{19B} представляет собой $-CH(CH_3)-CH(OH)-Ph$, $-CH(CO_2H)-CH(OH)-CH_3$, $-CH(CO_2H)-CH_2Ph$, $-CH(CH_2Ph)-2$ -тиазолил, $-CH(CH_2Ph)-2$ -пиридил, $-CH(CH_2-p-Cl-Ph)$, $-CH(CO_2Me)-CH_2Ph$, $-CH(CO_2Me)-CH_2CH_2SCH_3$, $-CH(CH_2CH_2SCH_3)C(=O)NH$ -хинол-3-ил, $-CH(CH_2Ph)C(=O)NH-p-Cl-Ph$, или

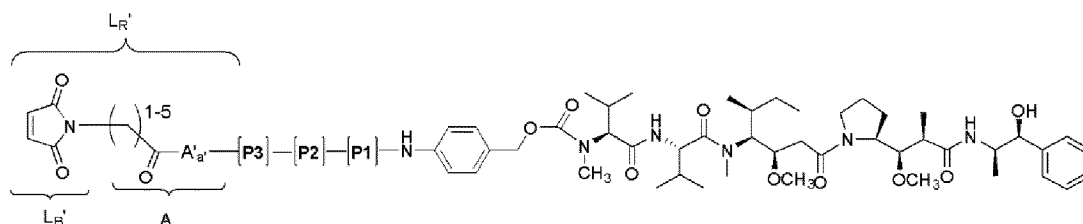


R^{19B} имеет структуру , где волнистая линия указывает ковалентное присоединение к остальной части ауристатинового соединения.

28. Соединение Лекарственное средство-Линкер по п. 27, где содержащее вторичный амин ауристатиновое соединение представляет собой монометилауристатин E

(MMAE) или монометилауристатин F (MMAF).

29. Соединение Лекарственное средство-Линкер по п. 23, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру формулы ИИ-ММАЕ:



(Формула ИИ-ММАЕ)

или его соль, где

нижний индекс a' равен 0, и A' отсутствует.

30. Соединение Лекарственное средство-Линкер по любому из пп. 23-29 или его фармацевтически приемлемая соль, где Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где P1, P2 и P3 каждый представляет собой аминокислоту, где:

P3 аминокислота трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации;

одна из P2 и P1 аминокислот имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью меньше, чем у лейцина; и

другая из P2 и P1 аминокислот отрицательно заряжена.

31. Соединение Лекарственное средство-Линкер по любому из пп. 23-30, где P3 аминокислота представляет собой D-Leu или D-Ala.

32. Соединение Лекарственное средство-Линкер по любому из пп. 23-31, где одна из P2 или P1 аминокислот имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у валина, а другая из P2 или P1 аминокислот отрицательно заряжена при физиологическом pH плазмы.

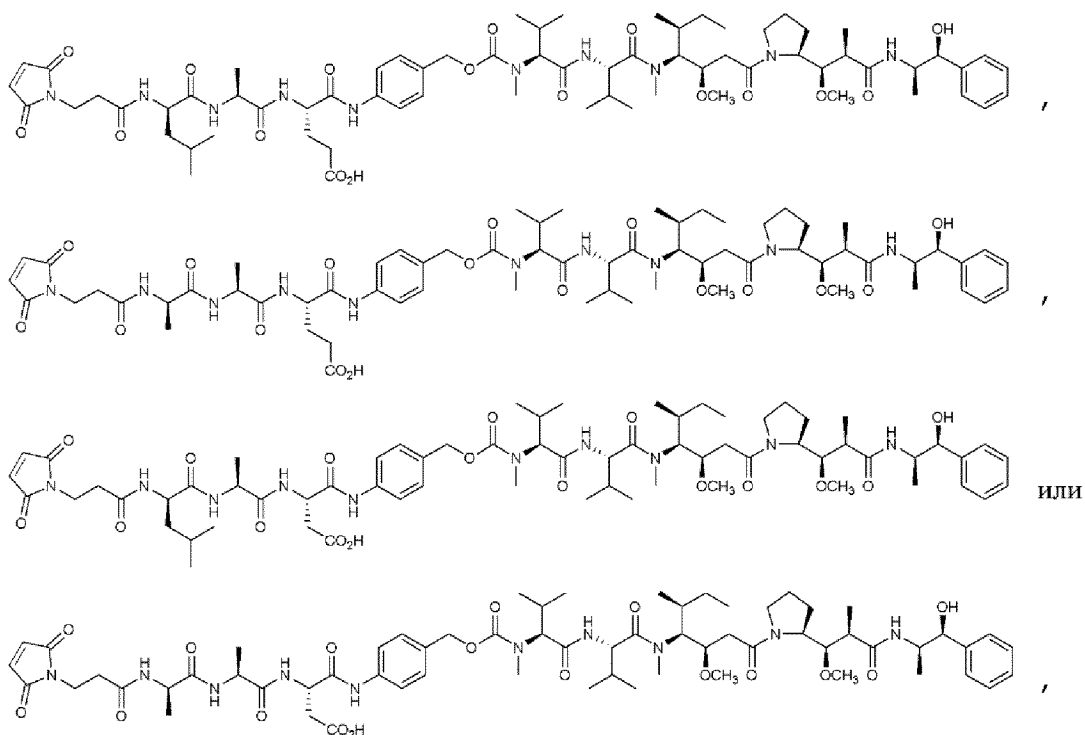
33. Соединение Лекарственное средство-Линкер по любому из пп. 23-32, где P2 аминокислота имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у валина, а P1 аминокислота отрицательно заряжена при физиологическом pH плазмы.

34. Соединение Лекарственное средство-Линкер по любому из пп. 23-33, где -P2-P1- представляет собой -Ala-Glu- или -Ala-Asp-.

35. Соединение Лекарственное средство-Линкер по любому из пп. 23-34, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-.

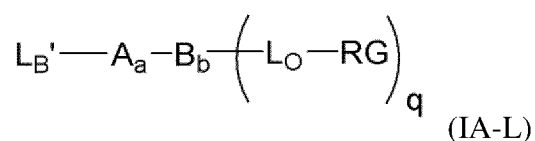
36. Соединение Лекарственное средство-Линкер по любому из пп. 23-32, где P3 аминокислота представляет собой D-Leu или D-Ala, P2 аминокислота представляет собой Ala, Glu или Asp, и P1 аминокислота представляет собой Ala, Glu или Asp.

37. Соединение Лекарственное средство-Линкер по п. 23, где соединение Лекарственное средство-Линкер имеет структуру:



или его соль.

38. Линкерное соединение формулы IA-L:



или его соль, где

RG представляет собой реакционноспособную группу;

L_B' представляет собой предшественник ковалентно связывающегося с лигандом фрагмента;

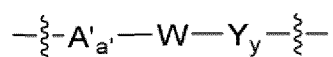
A представляет собой первый необязательный Удлиняющий Компонент;

нижний индекс a равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие A, соответственно;

B представляет собой необязательный Разветвляющийся Компонент;

нижний индекс b равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие B, соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, где вторичный линкер имеет формулу;



где волнистая линия смежная с Y указывает место ковалентного присоединения L_O к Лекарственному Компоненту, а волнистая линия смежная с A' указывает место ковалентного присоединения к остальной части соединения Лекарственное средство-Линкер;

A' представляет собой второй необязательный Удлиняющий Компонент, который в отсутствие В становится субъединицей А;

нижний индекс а' равен 0 или 1, указывая на отсутствие или присутствие А', соответственно,

W представляет собой Пептидный Расщепляемый Компонент, где Пептидный Расщепляемый Компонент включает трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где P1, P2 и P3 каждый представляет собой аминокислоту, где:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 отрицательно заряжена;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не больше, чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность меньше, чем у лейцина,

где первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, и третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последним оставшимся аминокислотам P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не является -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-;

Y представляет собой саморасщепляющийся Спейсерный Компонент;

нижний индекс у равен 0, 1 или 2, указывая на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно; и

нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 4,

при условии, что нижний индекс q равен 1, когда нижний индекс b равен 0, и нижний индекс q имеет значение 2, 3 или 4, когда нижний индекс b равен 1.

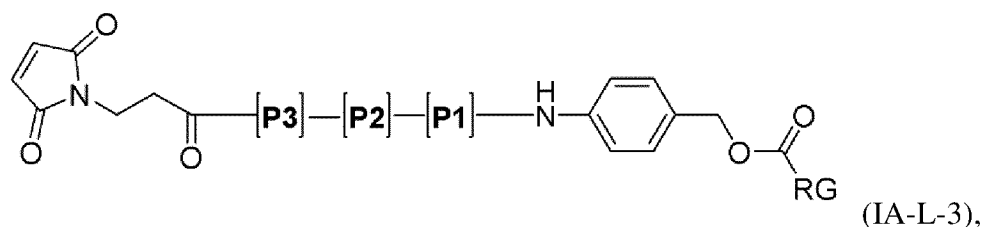
39. Линкерное соединение по п. 38, где Пептидный Расщепляемый Компонент представляет собой трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где P1, P2 и P3 каждый представляет собой аминокислоту, где:

P3 аминокислота трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации;

одна из P2 и P1 аминокислот имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью меньше, чем у лейцина; а

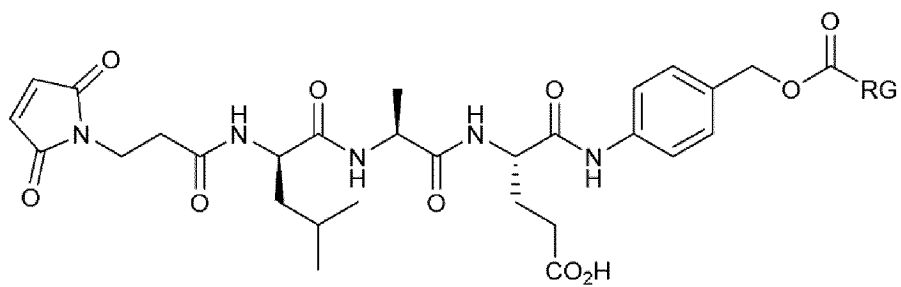
другая из P2 и P1 аминокислот отрицательно заряжена.

40. Линкерное соединение по п. 38, где Линкерное соединение имеет структуру формулы IA-L-3:

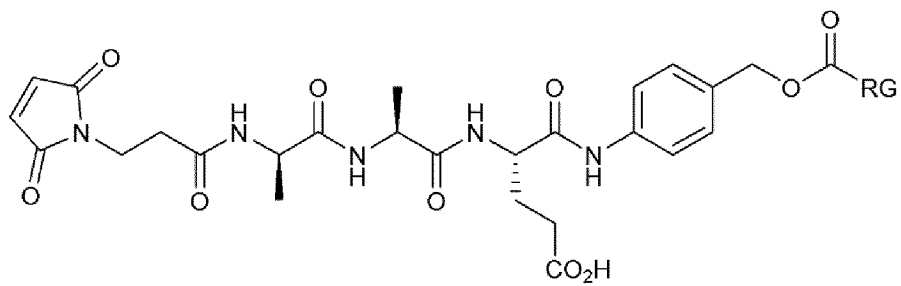


или его соль.

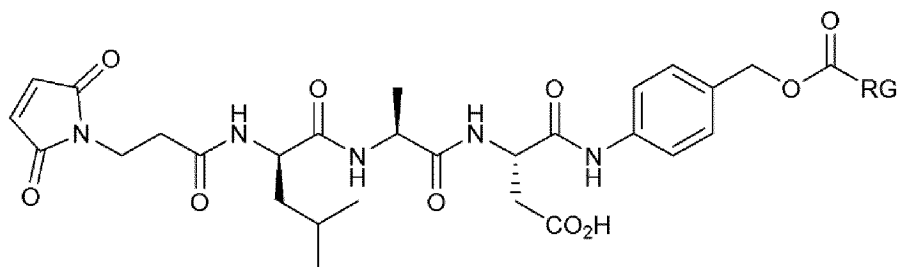
41. Линкерное соединение по п. 38, где Линкерное соединение имеет структуру:



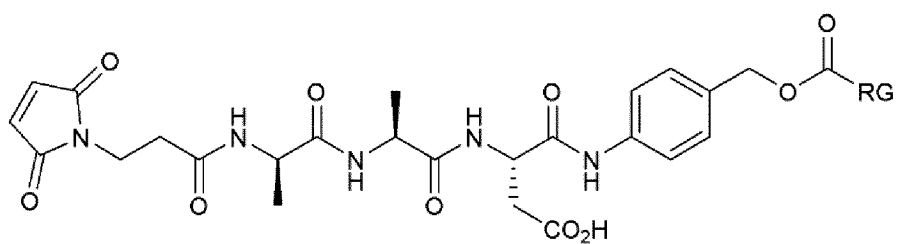
,



,



или

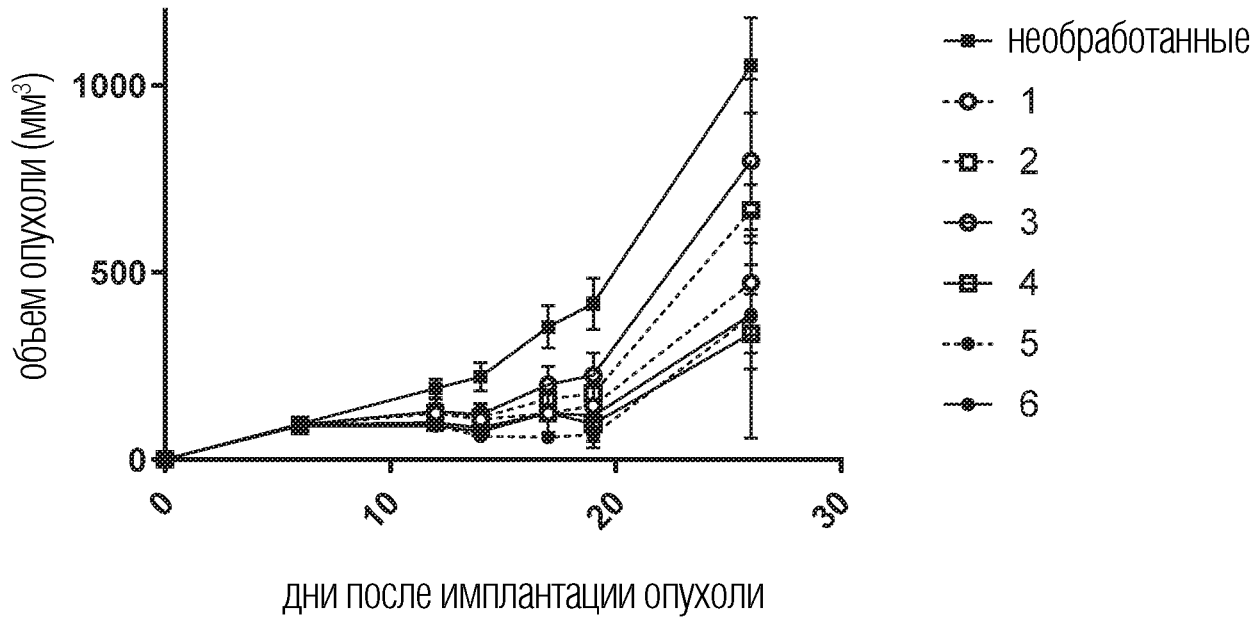


,

или его соль.

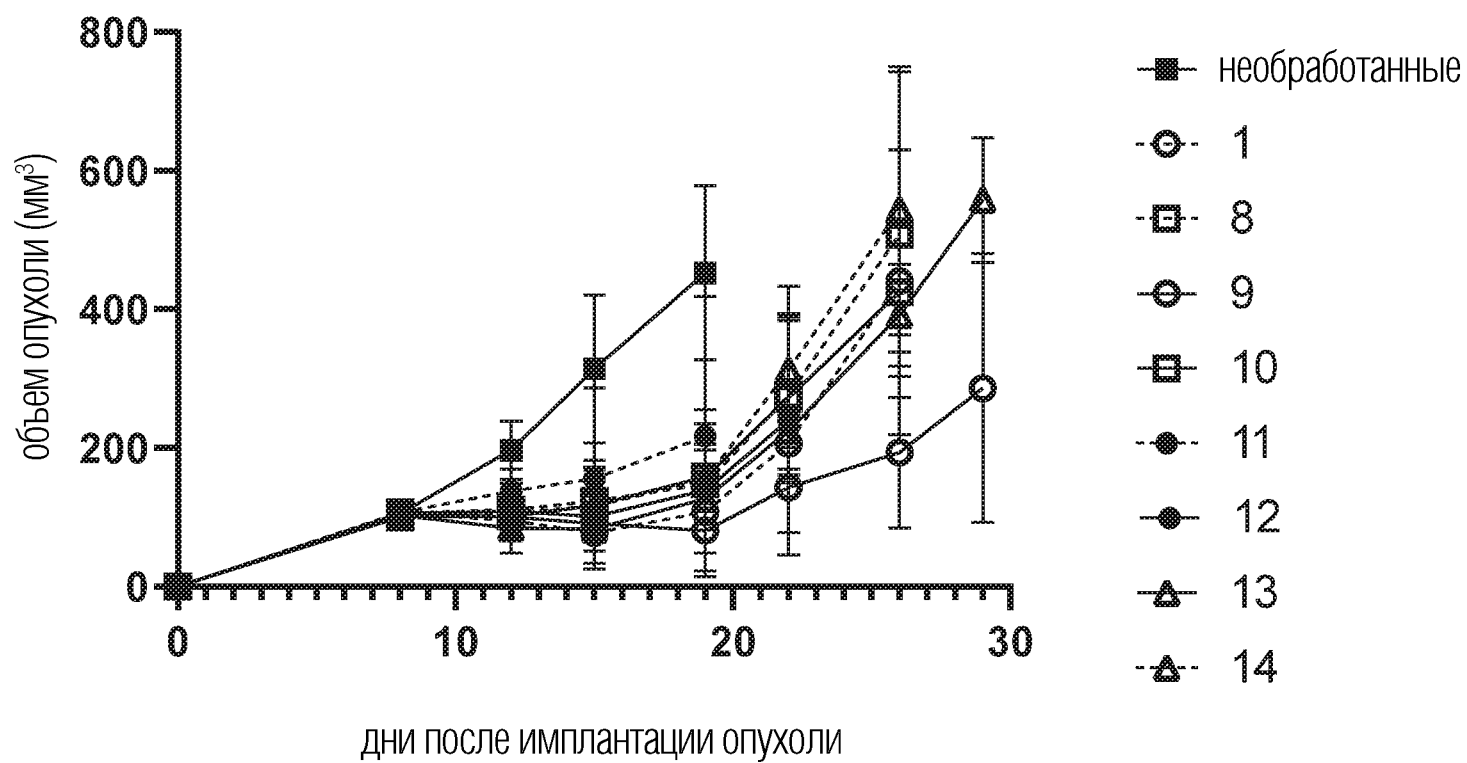
эффективность ADC в ксенотрансплантате рака поджелудочной железы

ФИГ. 1А



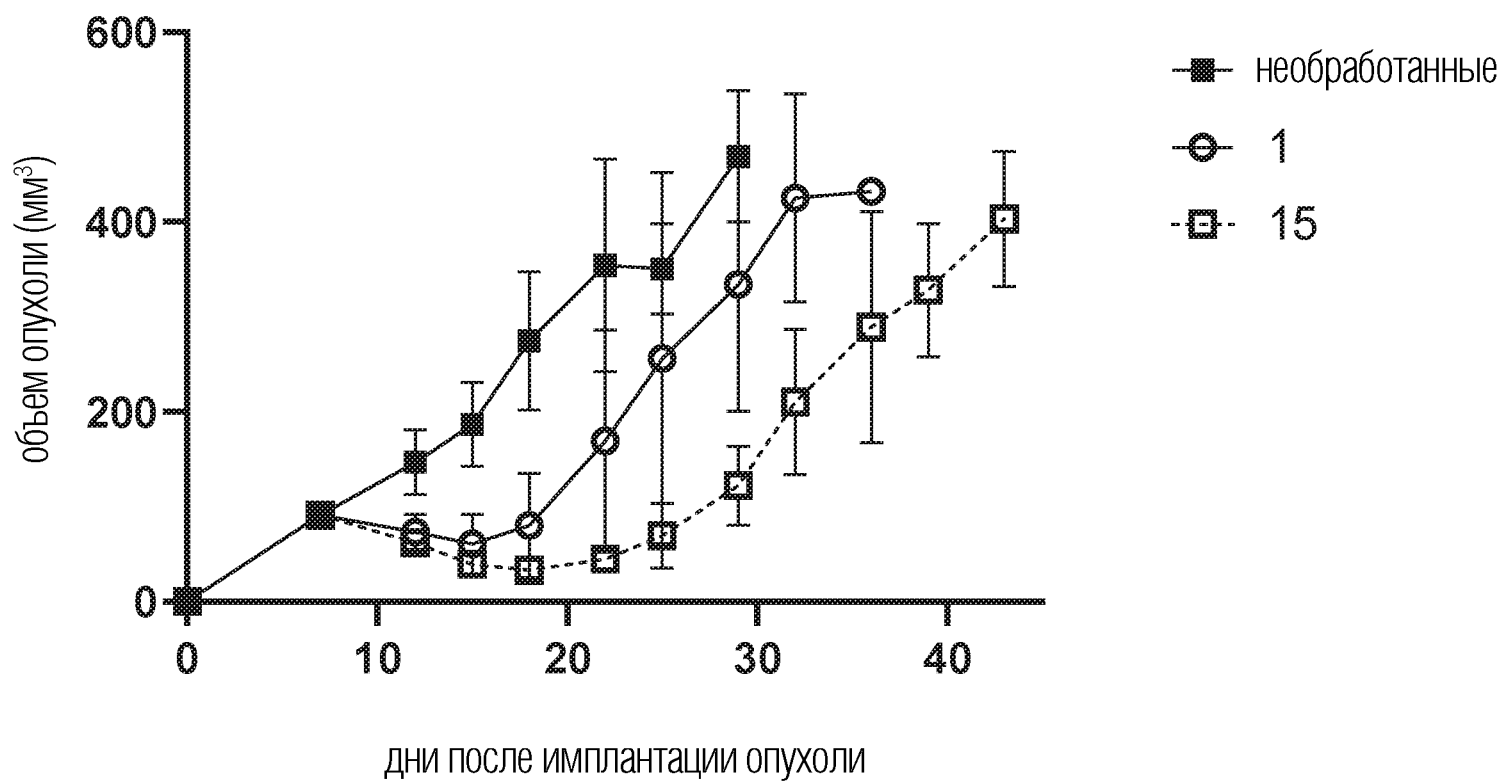
эффективность ADC в ксенотрансплантате рака поджелудочной железы

ФИГ. 1В



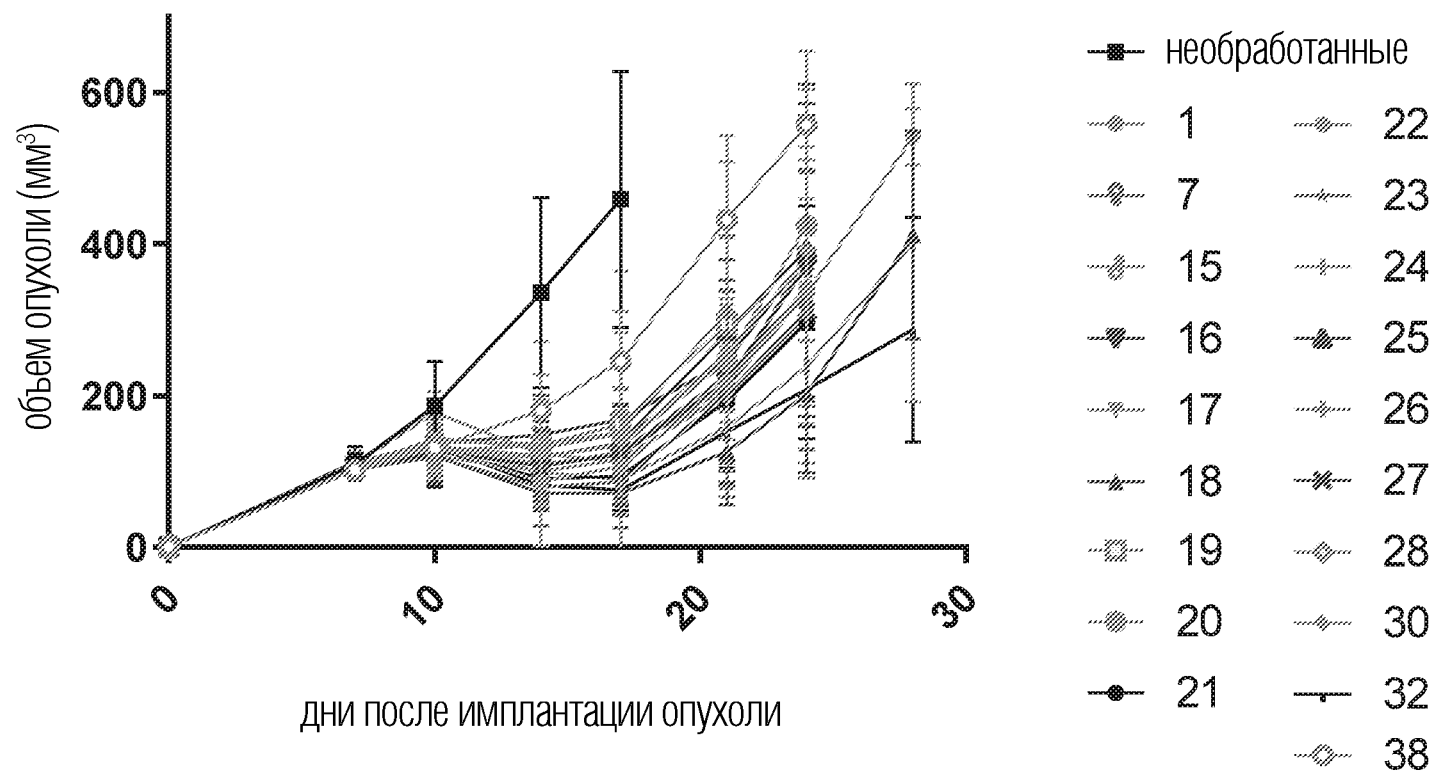
эффективность ADC в ксенотрансплантате рака поджелудочной
железы

ФИГ. 1С



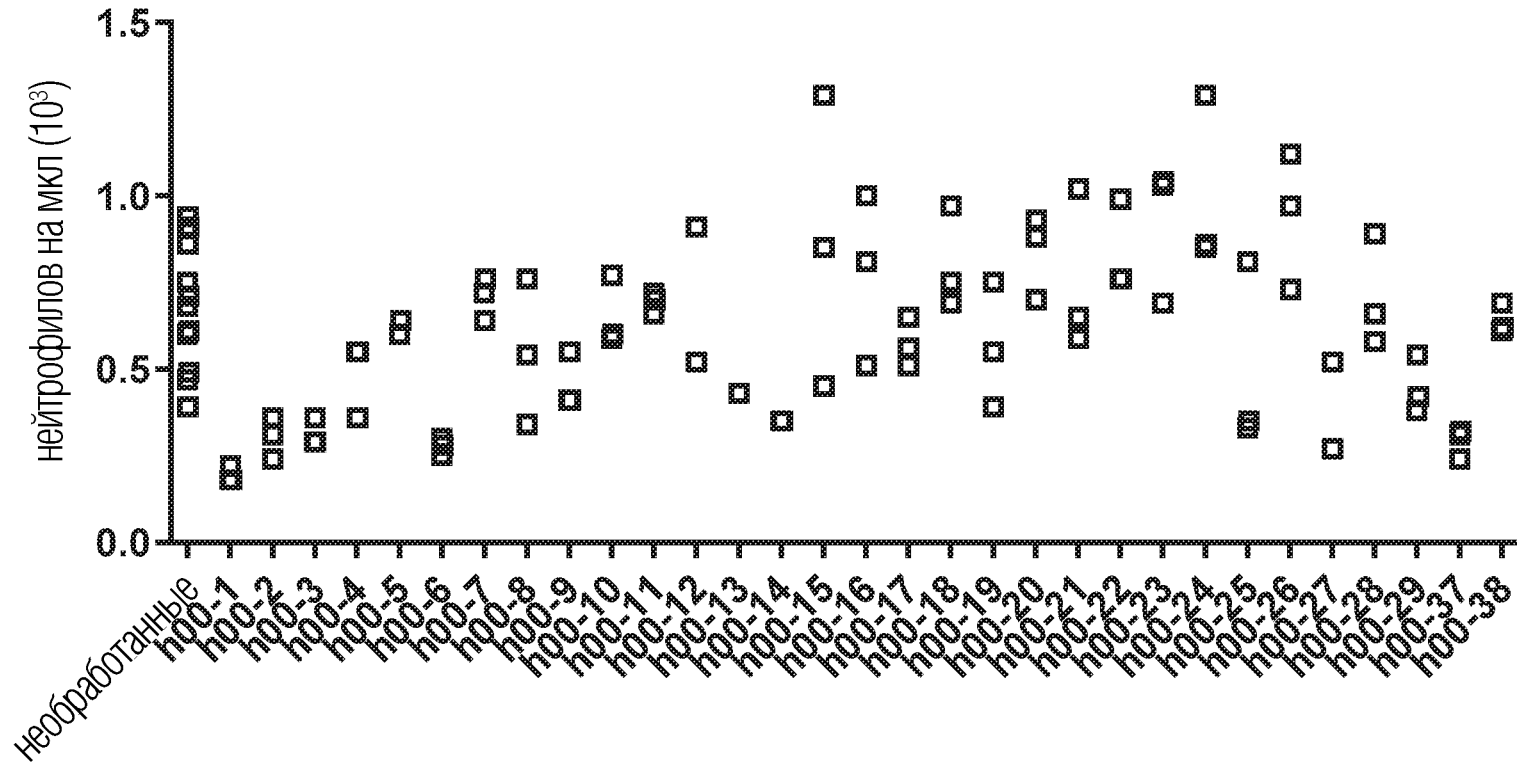
эффективность ADC в ксенотрансплантате рака поджелудочной железы

ФИГ. 1D



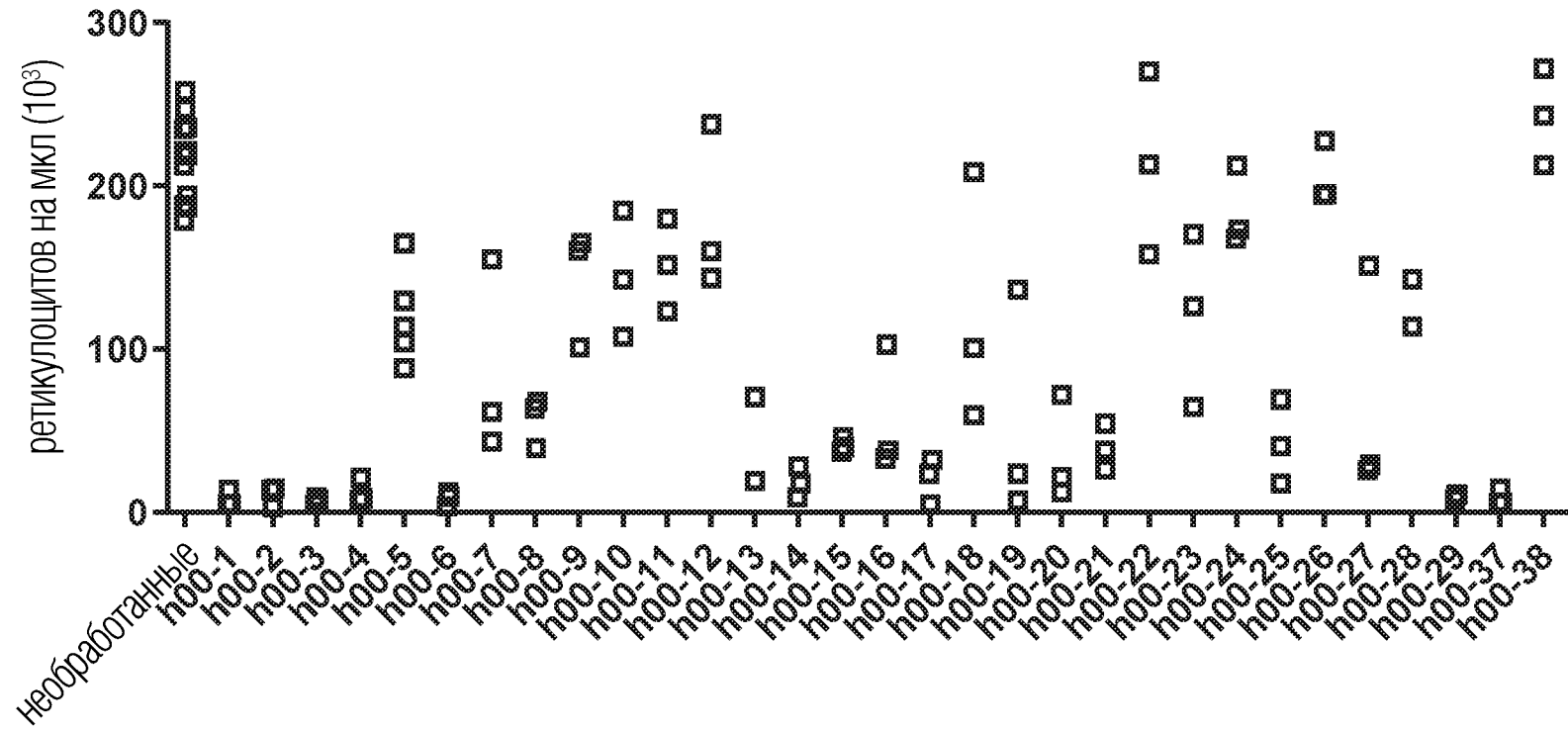
истощение нейтрофилов у крыс, вызываемое несвязывающимися
ся ADC

ФИГ. 2



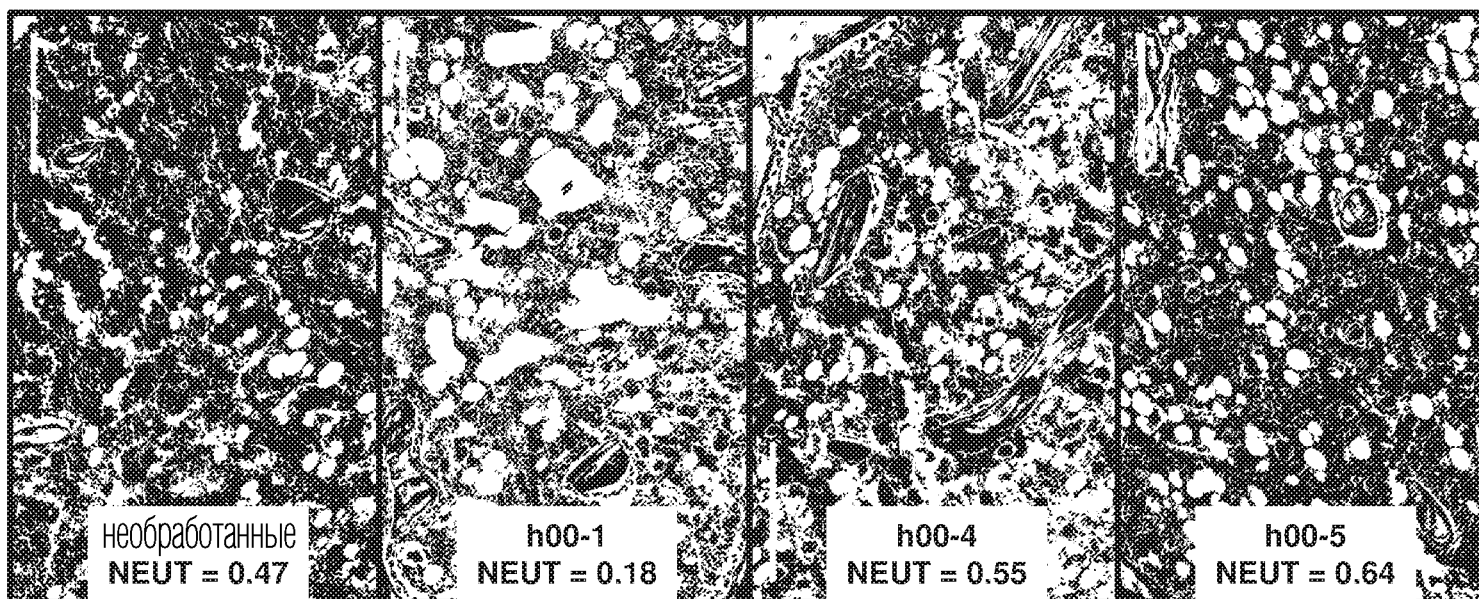
истощение ретикулоцитов у крыс, вызываемое несвязывающимися
ADC

ФИГ. 3

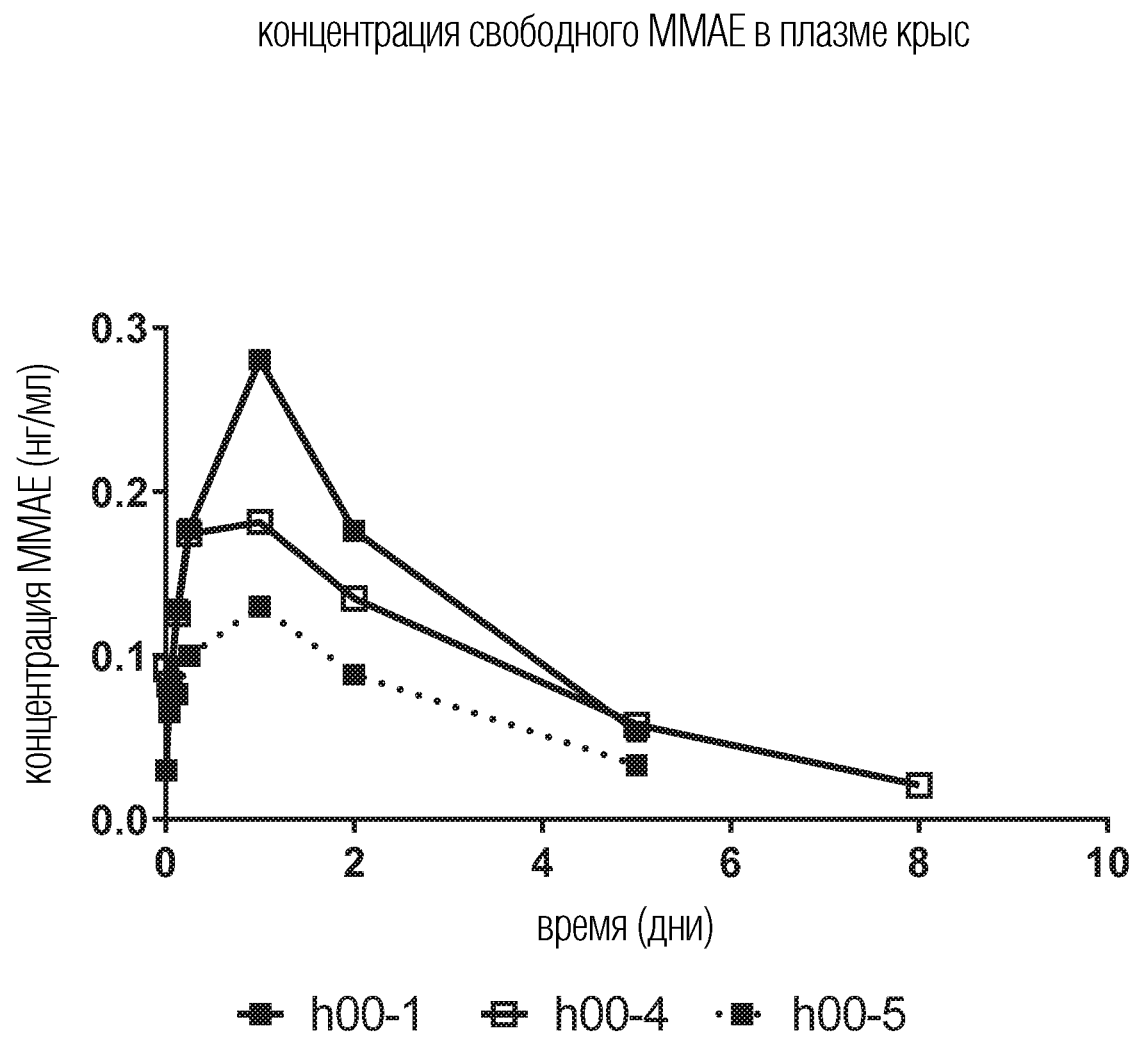


токсичность для костного мозга крыс, вызываемая несвязывающимися ADC

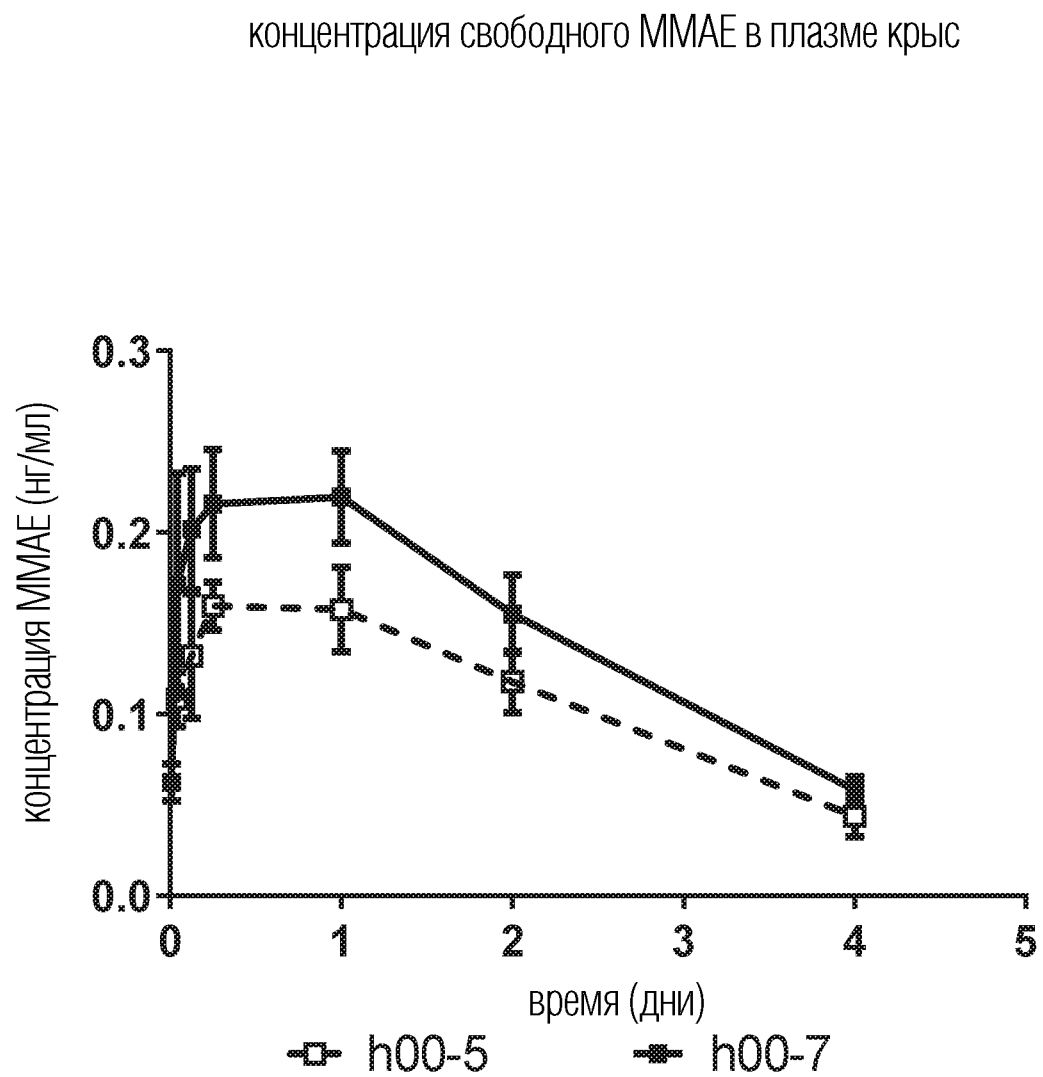
ФИГ. 4



ФИГ. 5А

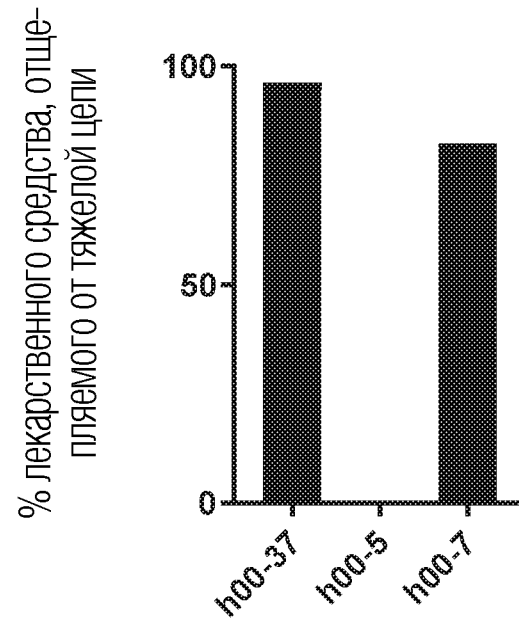


ФИГ. 5В



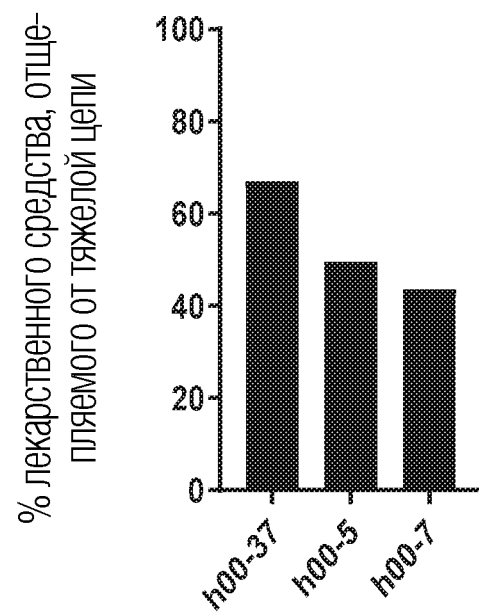
ФИГ. 6А

процент лекарственного средства, отщепляемого от тяжелой цепи неселективно действующих ADC под действием нейтрофильной эластазы in vitro



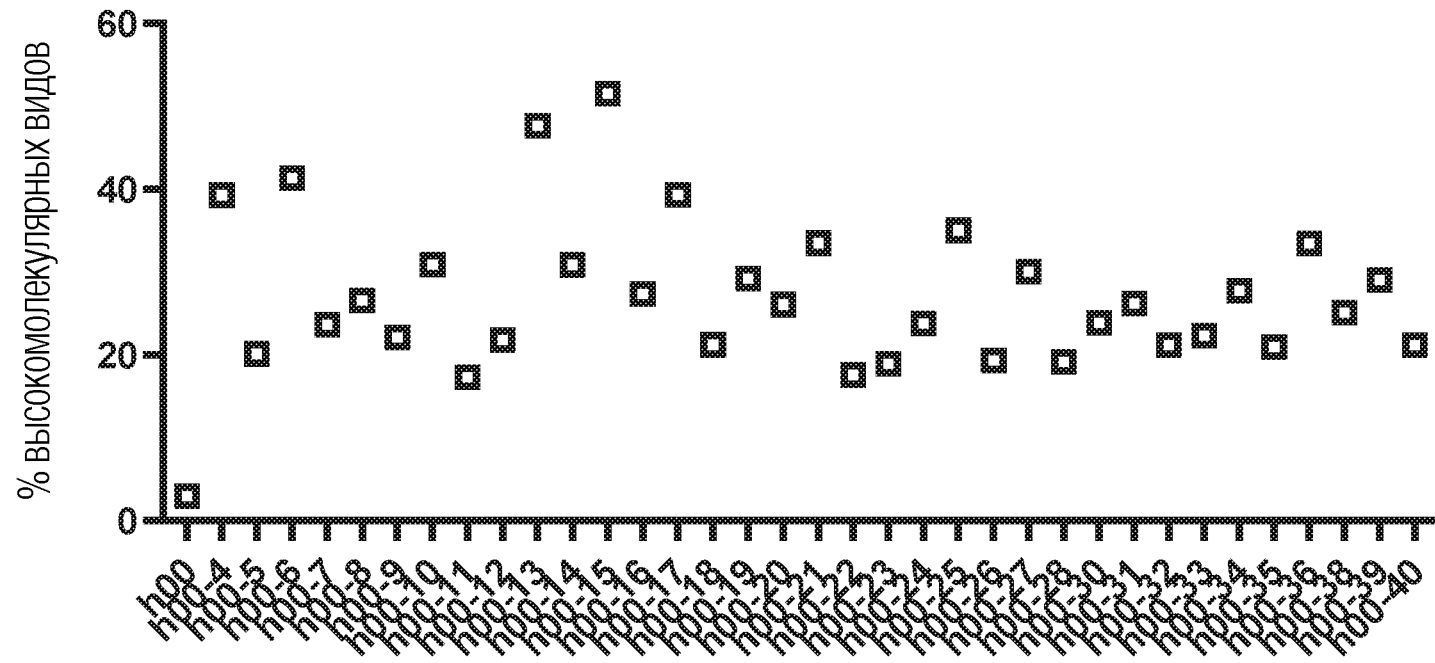
ФИГ. 6В

процент лекарственного средства, отщепляемого от тяжелой цепи неселективно действующих ADC под действием катеписина В in vitro



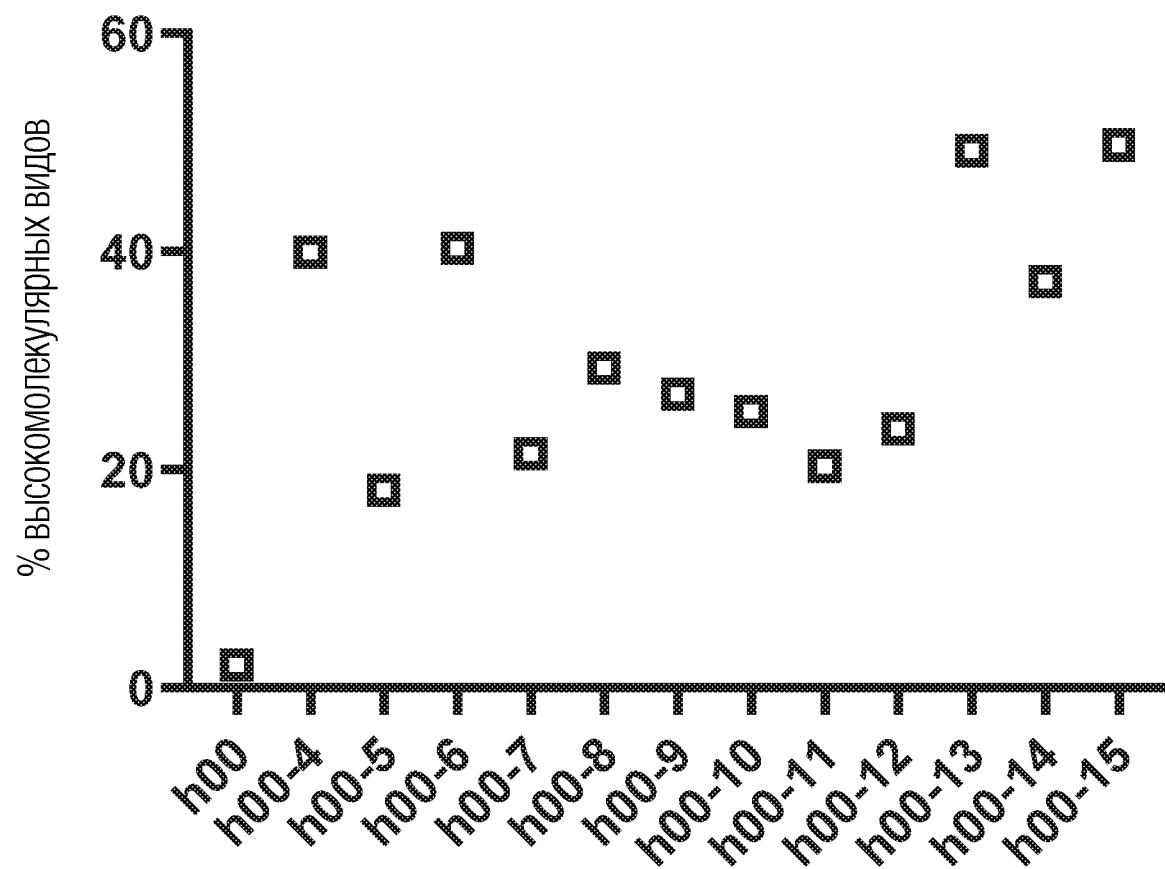
агрегация неселективно действующих ADC после инкубации в плазме крыс в течение 96 часов

ФИГ. 7



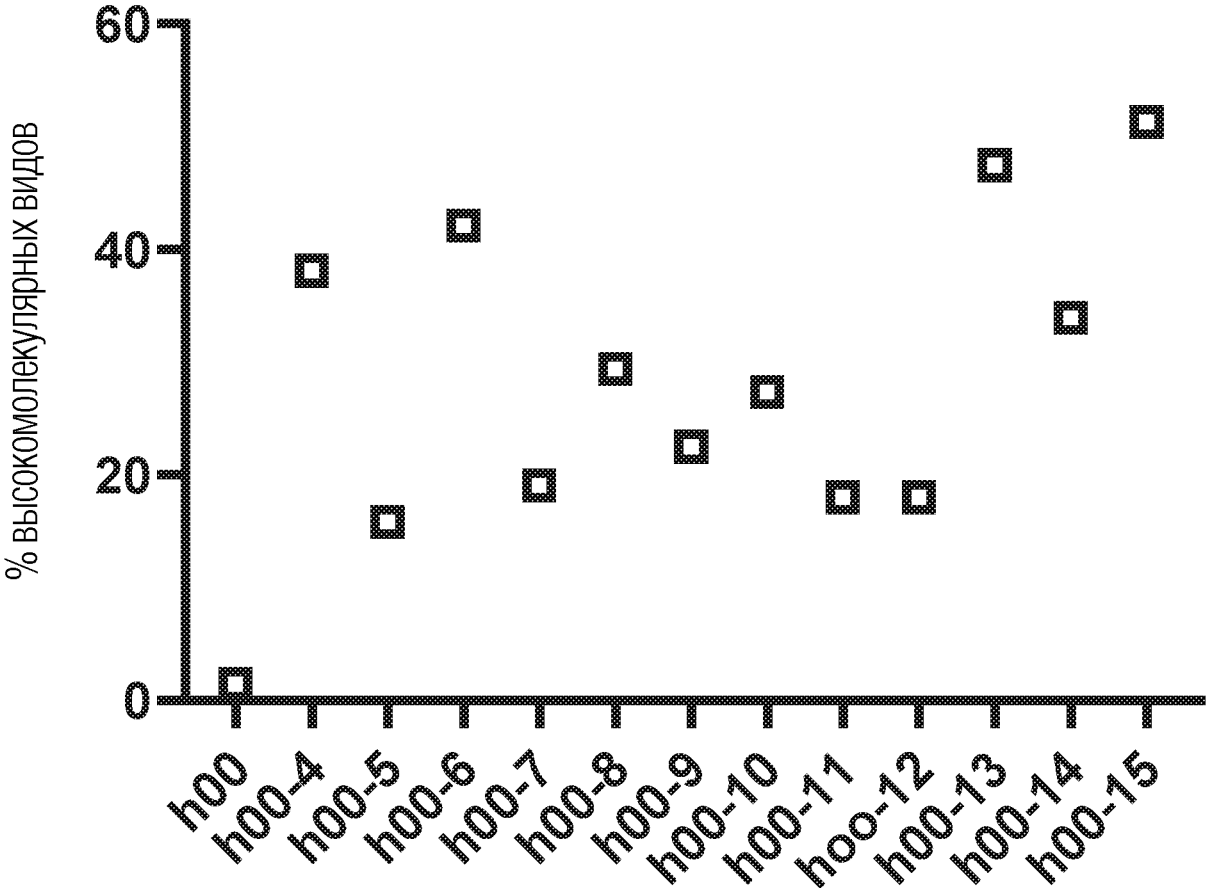
агрегация неселективно действующих ADC после инкубации в плазме обезьян в течение 96 часов

ФИГ. 8



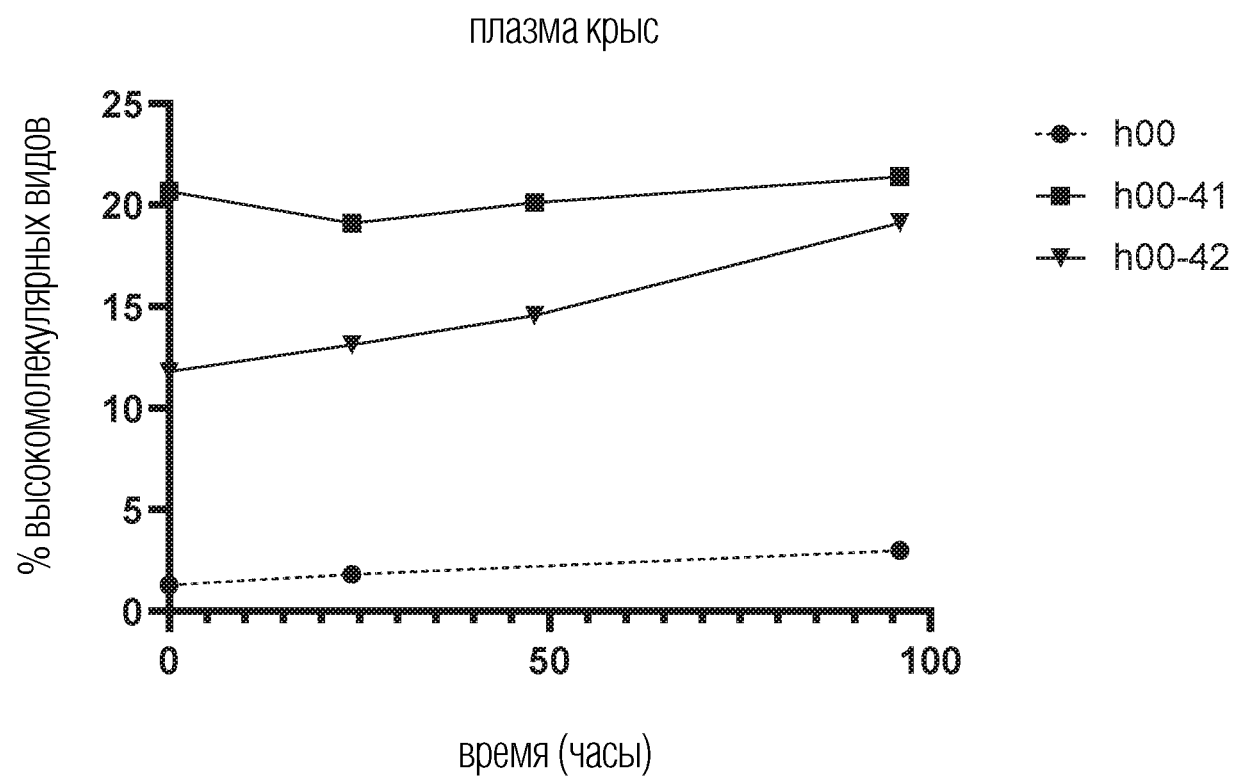
агрегация неселективно действующих ADC после инкубации в плазме человека в течение 96 часов

ФИГ. 9



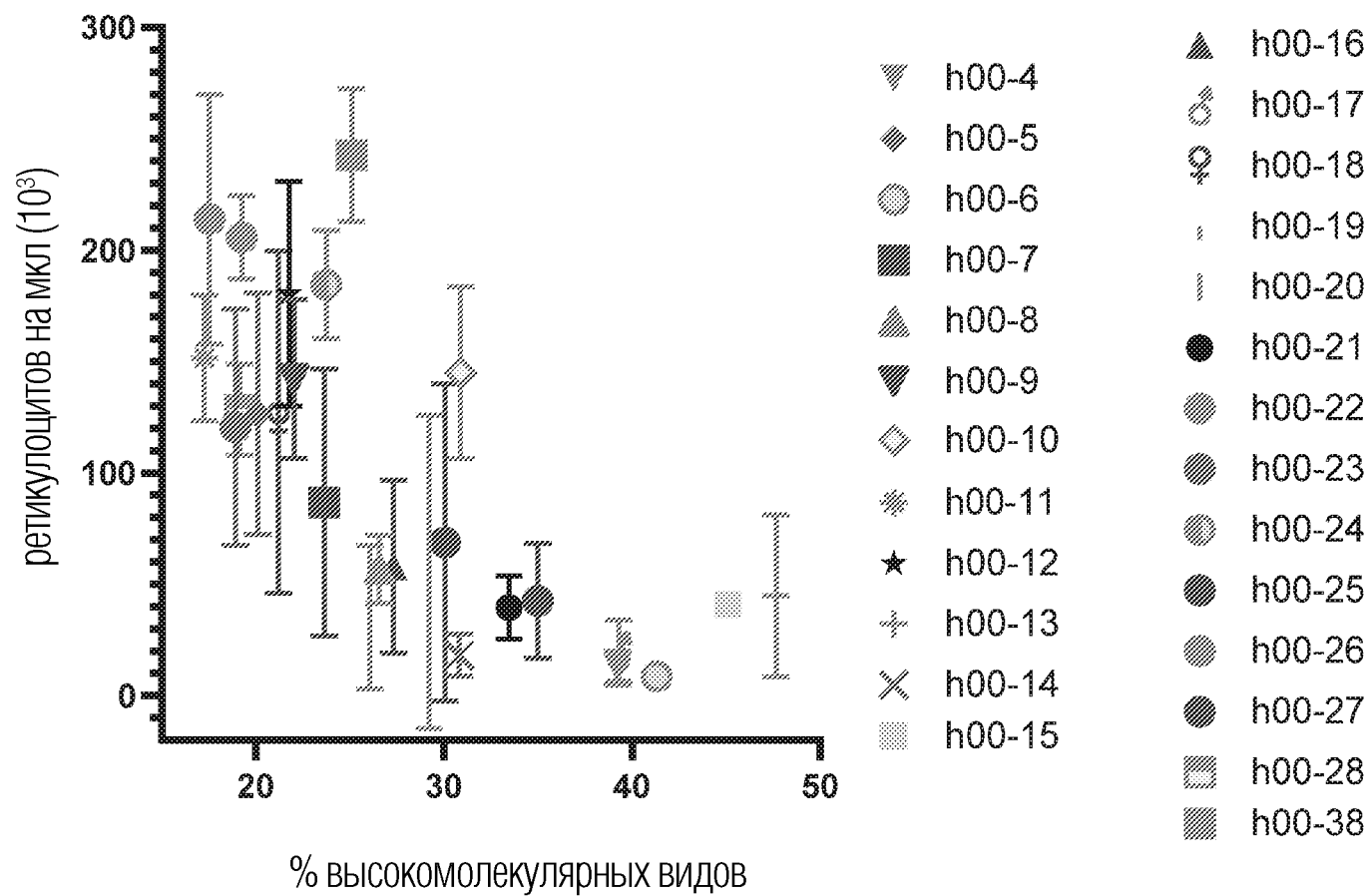
агрегация неселективно действующих MMAF ADC после инкубации в плазме крыс в течение 96 часов

ФИГ. 10



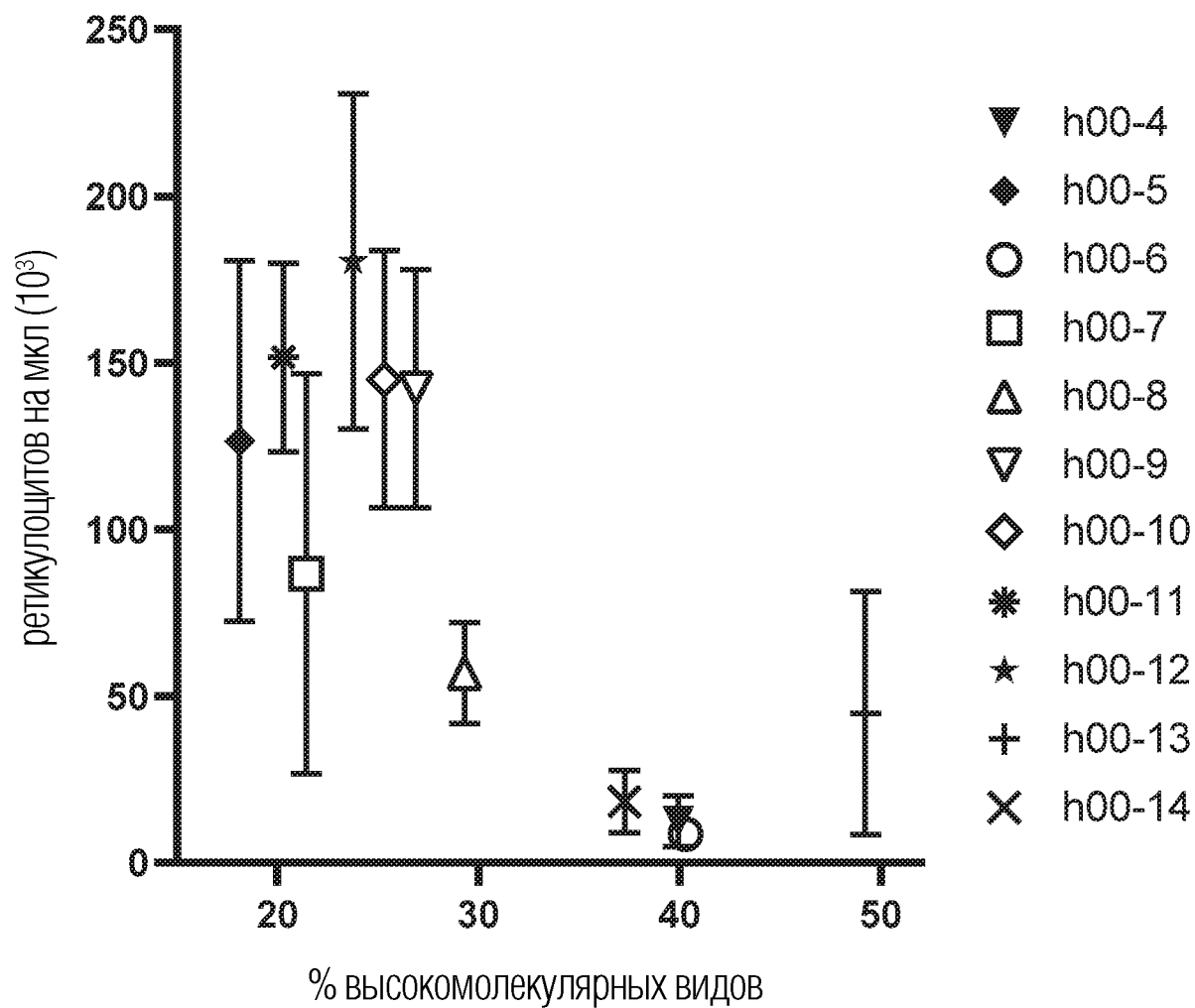
взаимосвязь истощения ретикулоцитов, вызываемого неселективно действующими ADC у крыс, и агрегации ADC в плазме крыс после 96 часов инкубации

ФИГ. 11



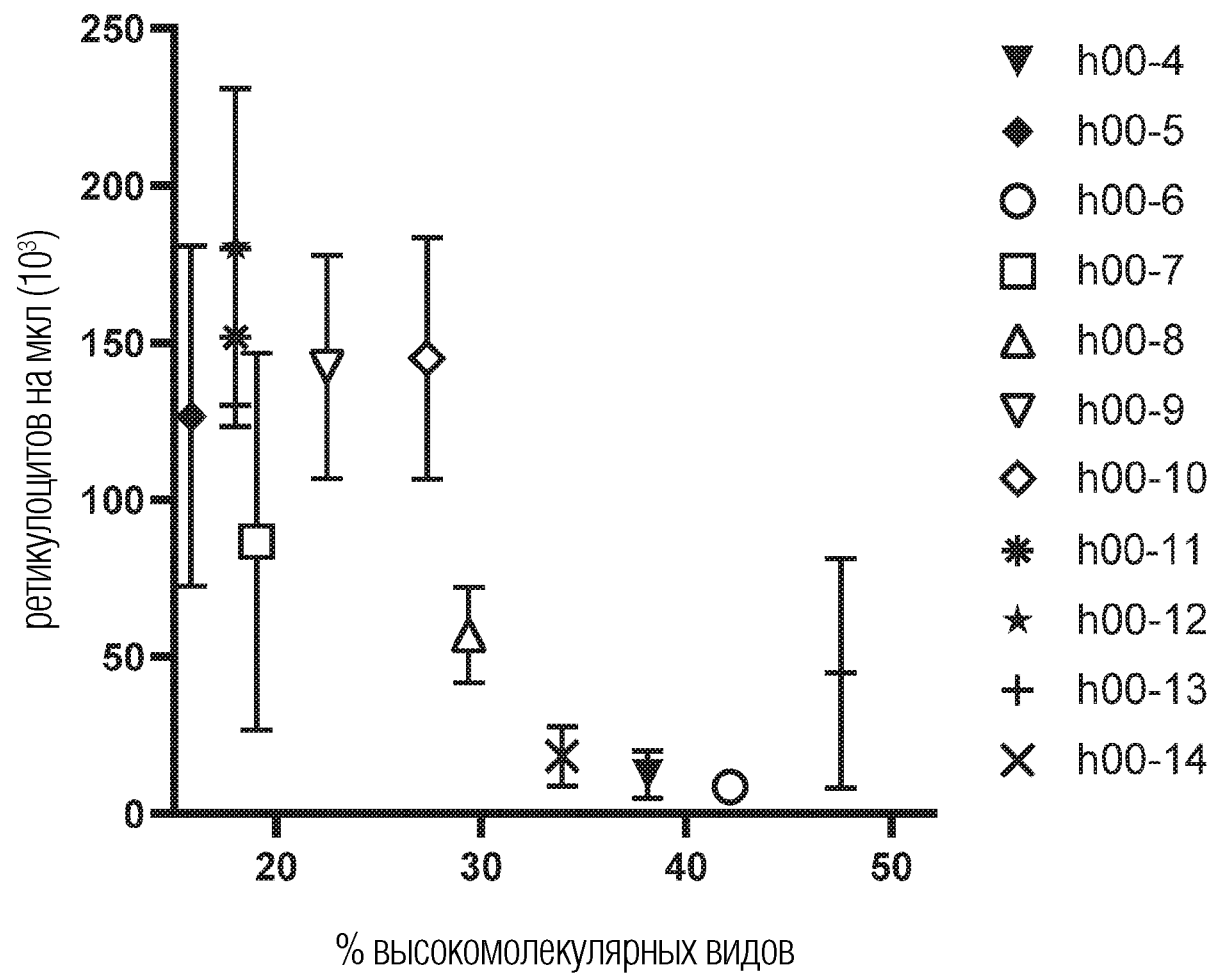
взаимосвязь истощения ретикулоцитов, вызываемого неселективно действующими ADC у крыс, и агрегации ADC в плазме обезьян после 96 часов инкубации

ФИГ. 12



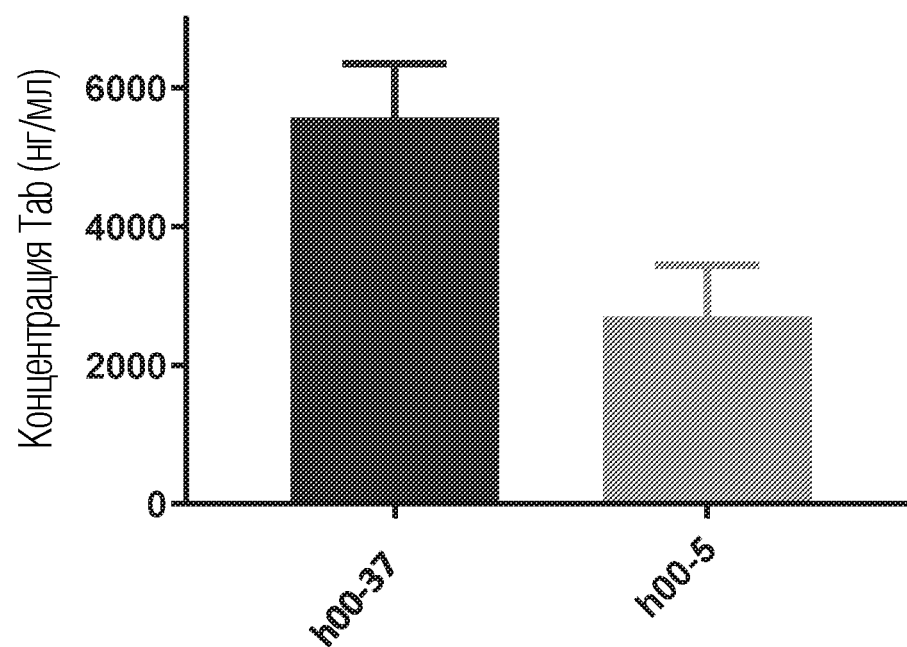
взаимосвязь истощения ретикулоцитов, вызываемого неселективно действующими ADC у крыс, и агрегации ADC в плазме человека после 96 часов инкубации

ФИГ. 13



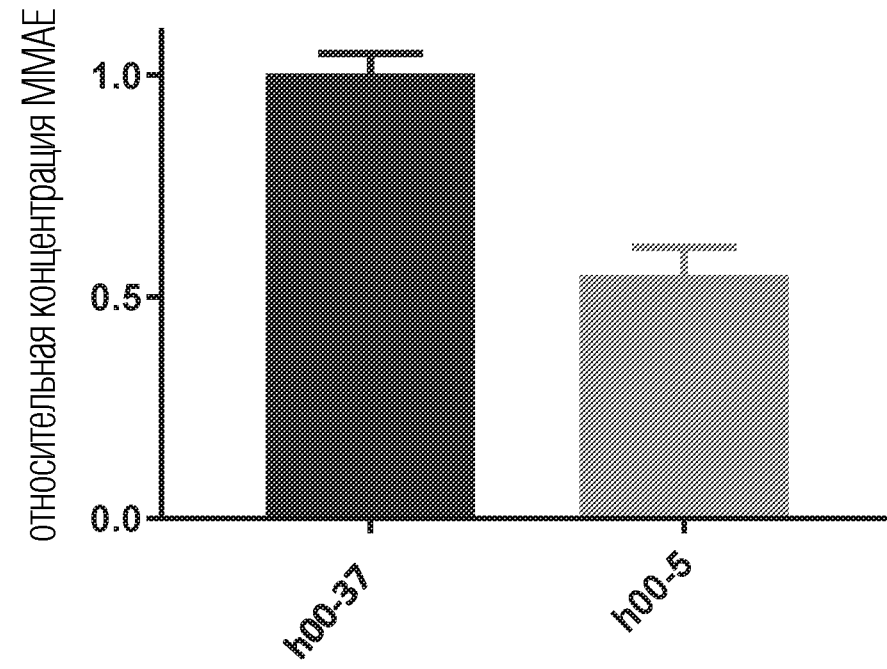
концентрация антитела во внеклеточном компартменте костного мозга крыс после введения неселективно действующих ADC

ФИГ. 14



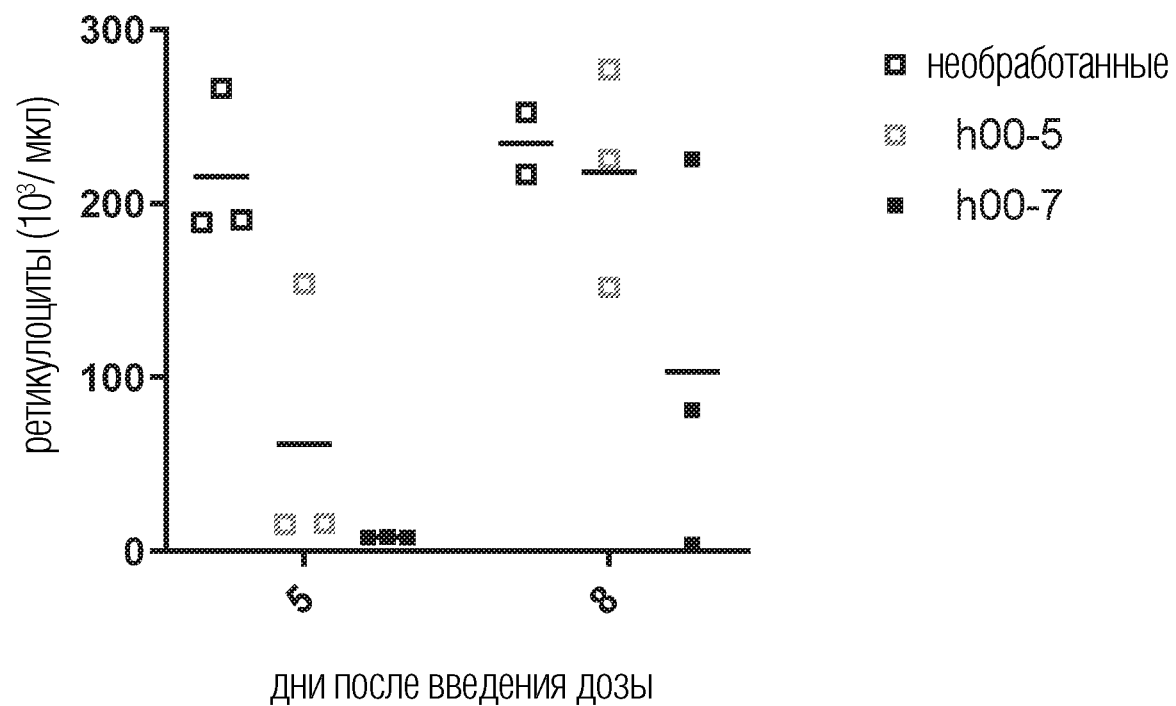
количество свободного MMAE в клетках костного мозга крыс после введения неселективно действующих ADC

ФИГ. 15



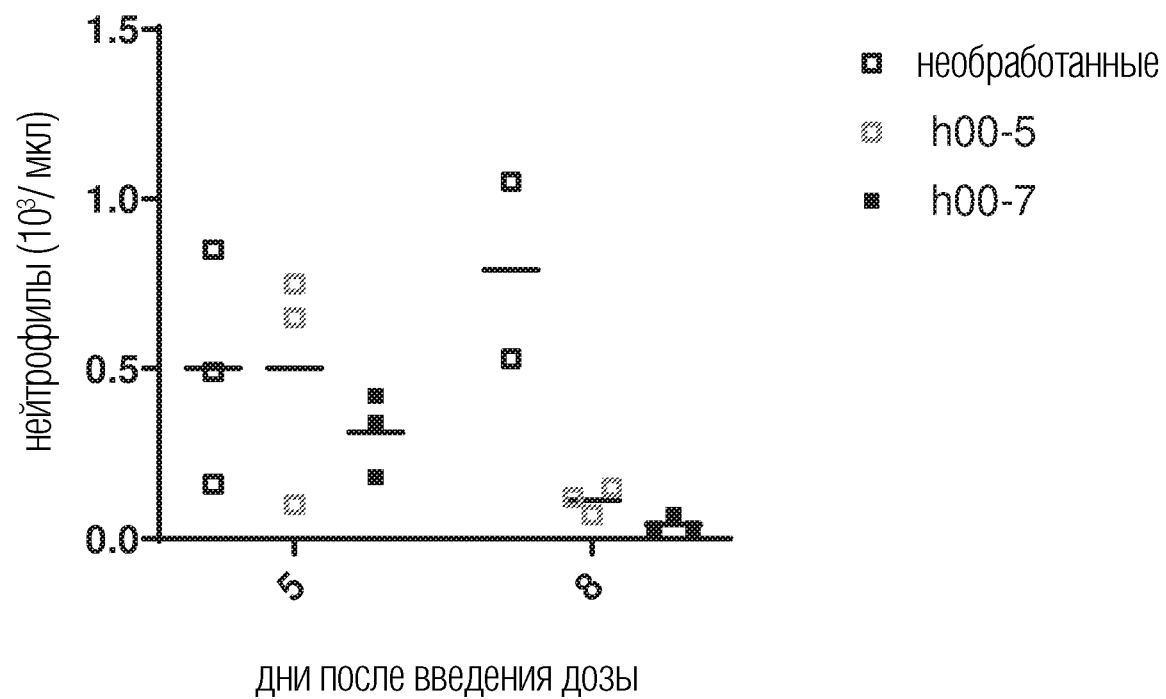
истощение ретикулоцитов, вызываемое неселективно действующими трипептидными ADC, после введения крысам при 20 мг/кг

ФИГ. 16



истощение нейтрофилов, вызываемое неселективно действующими трипептидными ADC, после введения крысам при 20 мг/кг

ФИГ. 17



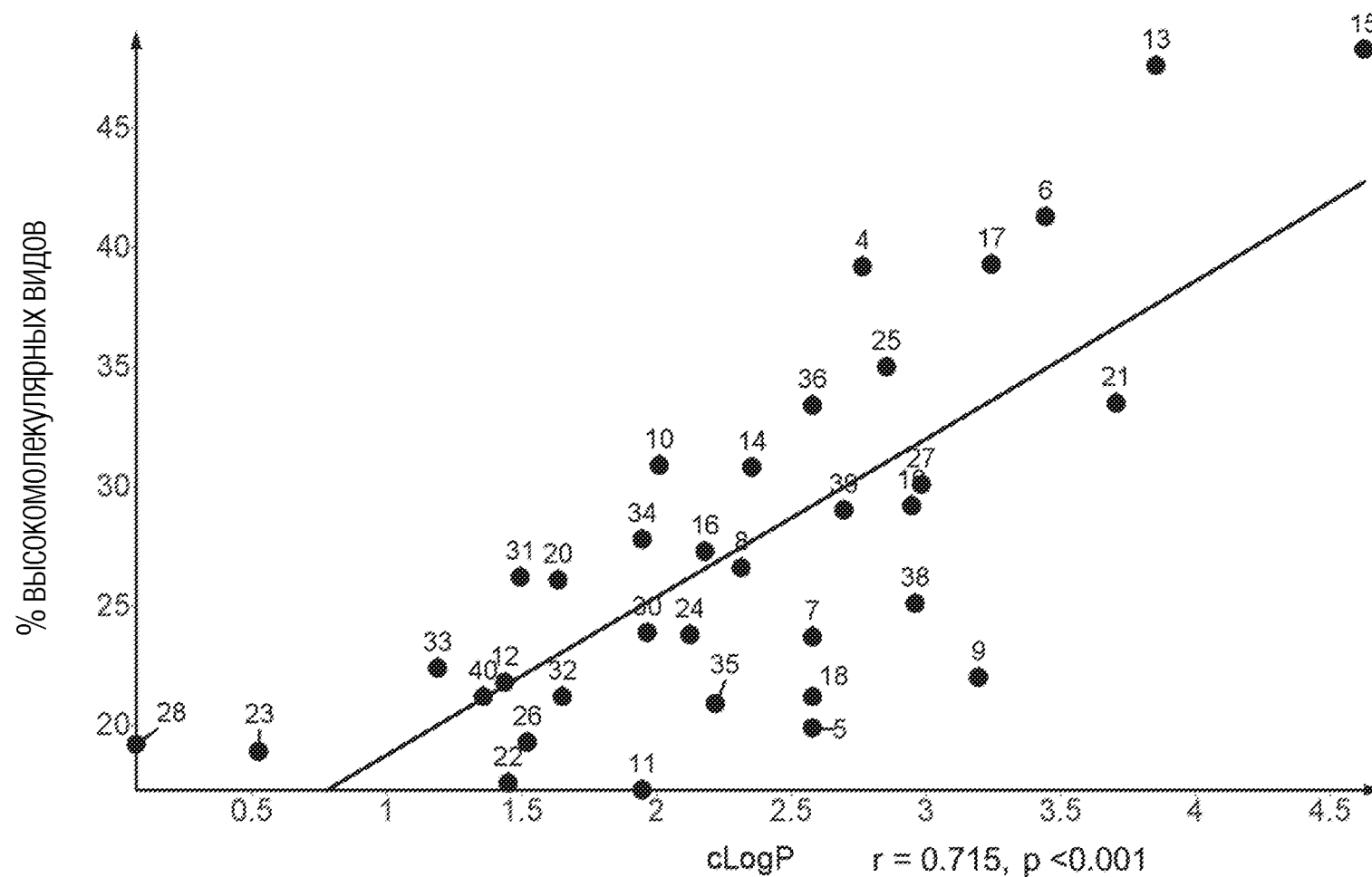
гистология кости после введения крысам неселективно действующих трипептидных ADC при 20 мг/кг

ФИГ. 18

		h00-5						h00-7					
дни после введения дозы		5	5	5	8	8	8	5	5	5	8	8	8
ткань	животное #	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
костный мозг, истощение в бедренной кости		3	3	3	1	2	-	4	4	4	3	2	1
костный мозг, истощение в грудинной кости		3	3	3	-	2	NE	4	4	4	3	2	-

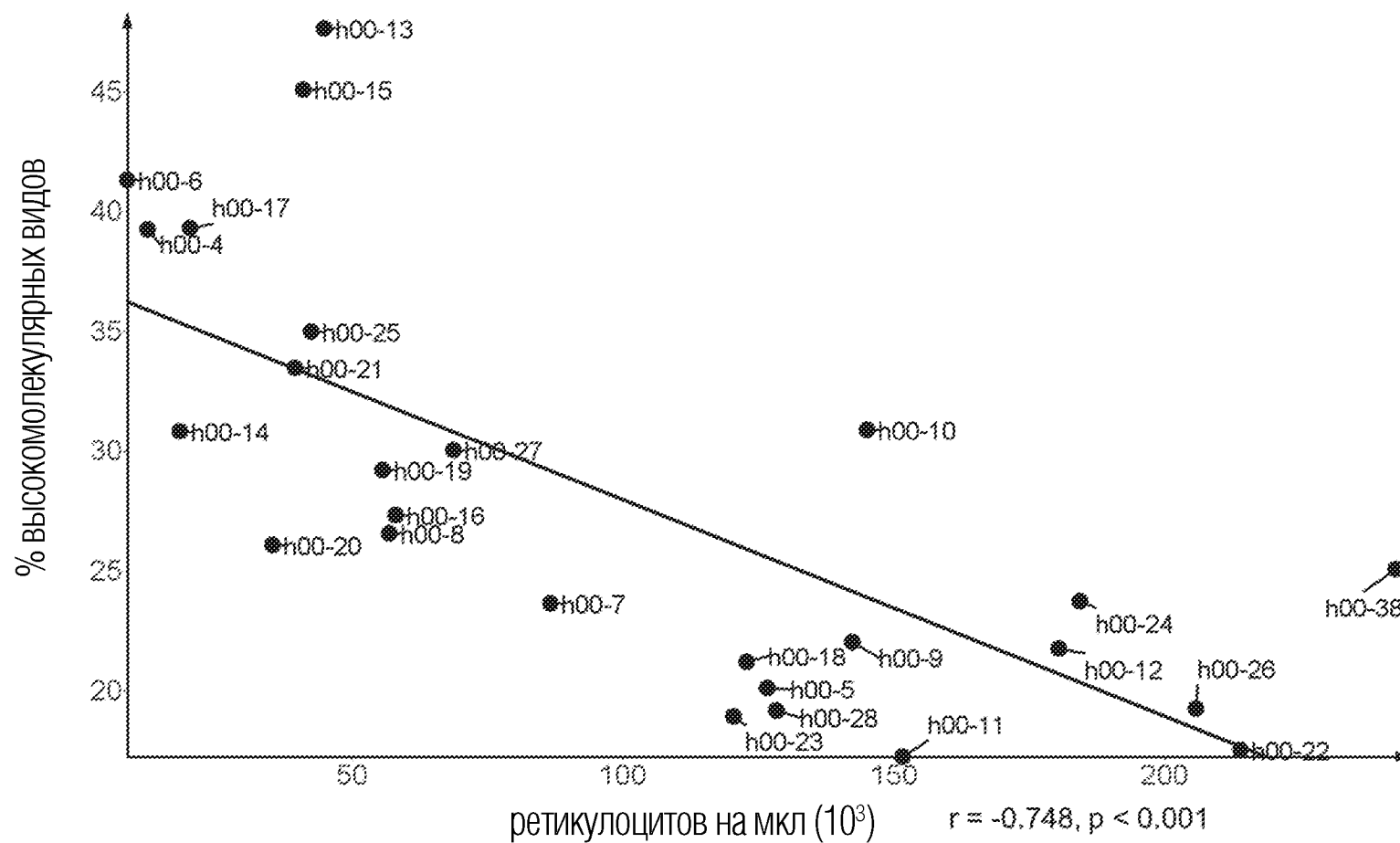
Корреляция между cLogP линкеров и агрегацией соответствующего hO0 конъюгата в плазме крыс после 96-ч инкубации (выраженной как % HMW = % высокомолекулярных видов)

ФИГ. 19



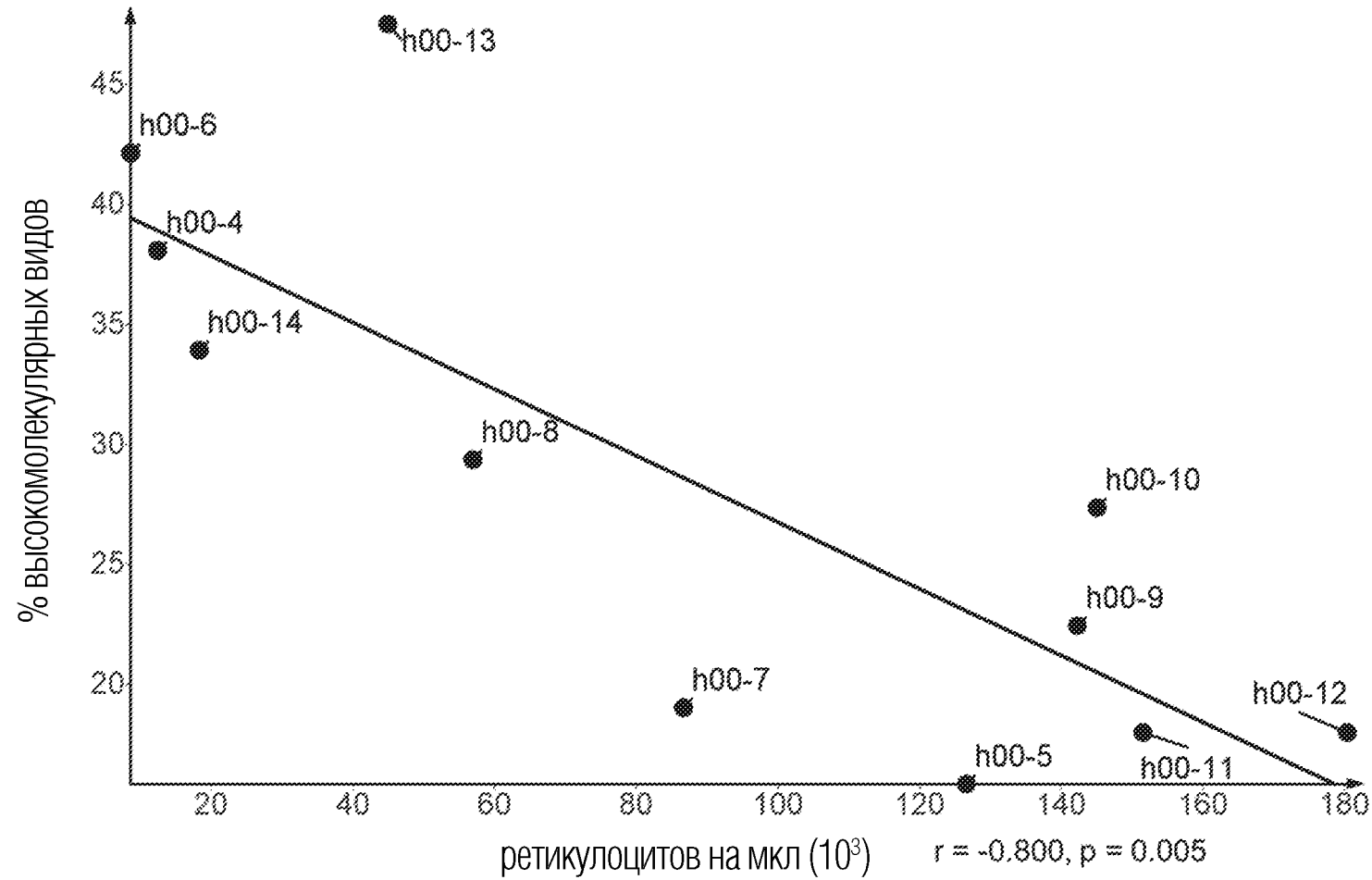
Корреляция между истощением ретикулоцитов у крыс, вызванным неселективно действующими ADC, и агрегацией ADC в плазме крыс после 96-ч инкубации (выраженной как % HMW = % высокомолекулярных видов).

ФИГ. 20



Корреляция между истощением ретикулоцитов у крыс, вызванным неселективно действующими ADC, и агрегацией ADC в плазме человека после 96-ч инкубации (выраженной как % HMW = % высокомолекулярных видов).

ФИГ. 21



Корреляция между истощением ретикулоцитов у крыс, вызванным неселективно действующими ADC, и агрегацией в плазме обезьян после 96-ч инкубации (выраженной как % HMW = % высокомолекулярных видов)

ФИГ. 22

