



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **113162** (13) **C2**

(51) МПК (2016.01)

**A61K 47/48** (2006.01)

**C07D 487/04** (2006.01)

**C07D 519/00**

A61P 35/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки:	<b>а 2013 11028</b>	(72) Винахідник(и):	<b>Лі Вей (US), Міллер Майкл (US), Фішкін Нейтан (US), Чарі Раві В. Дж. (US)</b>
(22) Дата подання заявки:	<b>15.02.2012</b>	(73) Власник(и):	<b>ІМУНОГЕН, ІНК., 830 Winter Street Waltham, MA 02451, United States of America (US)</b>
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	<b>26.12.2016</b>	(74) Представник:	<b>Кістерський Арсеній Леонідович, реєстр. №177</b>
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	<b>61/483,499, 61/443,062, 61/443,092</b>	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	<b>WO 2010/091150 A1; 12.08.2010 WO 2009/016647 A1; 05.02.2009 EP 2 019 104 A1; 28.01.2009</b>
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	<b>06.05.2011, 15.02.2011, 15.02.2011</b>		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	<b>US, US, US</b>		
(41) Публікація відомостей про заявку:	<b>25.12.2013, Бюл.№ 24</b>		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	<b>26.12.2016, Бюл.№ 24</b>		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	<b>PCT/US2012/025252, 15.02.2012</b>		

## (54) ЦИТОТОКСИЧНІ ПОХІДНІ БЕНЗОДІАЗЕПІНУ

### (57) Реферат:

Даний винахід стосується нових похідних бензодіазепіну, які мають антипроліферативну активність, і, зокрема, нових бензодіазепінових сполук формули (I)-(VII). Даний винахід також забезпечує кон'югати бензодіазепінових сполук, приєднаних до агента, який зв'язується із клітинами. Крім того, даний винахід забезпечує композиції і способи, придатні для інгібування аномального клітинного росту або лікування проліферативного розладу у ссавця з використанням сполук або кон'югатів згідно з винаходом.

UA 113162 C2



[01] Дана заявка, згідно з 35 USC § 119 (е), заявляє про пріоритет дати подачі попередньої заявки США № 61/443062, поданої 15 лютого 2011 р., попередньої заявки США № 61/483499, поданої 6 травня 2011 р., і попередньої заявки США № 61/443092, поданої 15 лютого 2011 р., повний зміст яких, включаючи всі креслення, формули, описи і формули винаходу, включені сюди за допомогою посилання.

Галузь техніки

[02] Даний винахід стосується нових цитотоксичних сполук і цитотоксичних кон'югатів, які включають зазначені цитотоксичні сполуки та агенти, які зв'язуються із клітинами. Зокрема, даний винахід стосується нових бензодіазепінових сполук і їх похідних, інтермедіатів, кон'югатів і фармацевтично прийнятних солей, які можна використовувати як медикаменти, зокрема, як антипроліферативні агенти.

Рівень техніки винаходу

[03] Похідні бензодіазепіну являють собою корисні сполуки для лікування різних розладів і включають такі лікарські засоби як протиепілептичні препарати (імідазо[2,1-b][1,3,5]бензотіадіазепіни, патент США №44444688; патент США №4062852), антибактеріальні засоби (піримідо[1,2-с][1,3,5]бензотіадіазепіни, GB 1476684), диуретики і гіпотензивні засоби (пірол(1,2-b)[1,2,5]бензотіадіазепін5,5диоксид, патент США №3506646), гіполіпідемічні засоби (WO 03091232), антидепресанти (патент США №3453266); засоби для лікування остеопорозу (JP 2138272).

[04] Останнім часом на моделях пухлин у тварин показано, що похідні бензодіазепіну, наприклад, піролбензодіазепіни (PBD), діють як протипухлинні агенти (N-2-імідазолілалкіл-заміщений 1,2,5-бензотіадіазепін-1,1-диоксид, патент США №6156746), бензо-піридо- або -дипіридо-тіадіазепін (WO 2004/069843), пірол[1,2-b][1,2,5]бензотіадіазепіни і похідні пірол[1,2-b][1,2,5]бензодіазепіну (WO2007/015280), похідні томайміцину (наприклад, пірол[1,4]бензодіазепіни), наприклад, описані в WO 00/12508, WO2005/085260, WO2007/085930 та EP 2019104. Крім того, відомо, що бензодіазепіни впливають на ріст та диференціювання клітин (Kamal A., et al., Bioorg Med Chem. 2008 Aug 15;16(16):7804-10 (та посилання, згадані в ній); Kumar R, Mini Rev Med Chem. 2003 Jun;3(4):323-39 (та посилання, згадані в ній); Bednarski J J, et al., 2004; Sutter A. P, et al., 2002; Blatt N B, et al., 2002), Kamal A. et al., Current Med. Chem., 2002; 2: 215-254, Wang J-J., J. Med. Chem., 2206; 49:1442-1449, Alley M.C. et al., Cancer Res. 2004; 64:6700-6706, Pepper C. J., Cancer Res 2004; 74:6750-6755, Thurston D.E. and Bose D.S., Chem Rev 1994; 94:433-465; і Tozuka, Z., et al., Journal of Antibiotics, (1983) 36; 1699-1708. Загальна структура PBD описана в публікації США № 20070072846. PBD відрізняються за кількістю, типом і положенням заміників у їх ароматичному кільці А і пірольному кільці С, а також за ступенем насичення кільця С. Їх здатність до утворення аддукту в малій борозенці і перехресного зв'язування ДНК дозволяє їм вносити перешкоди в процесинг ДНК, обумовлюючи їх потенціал для використання як антипроліферативних агентів.

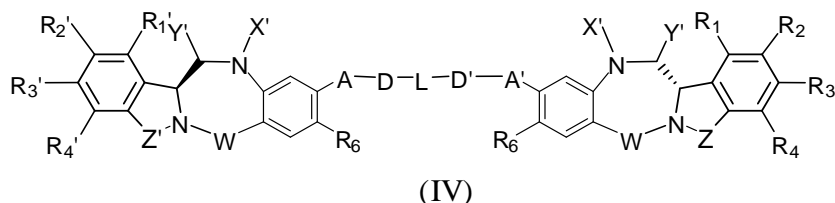
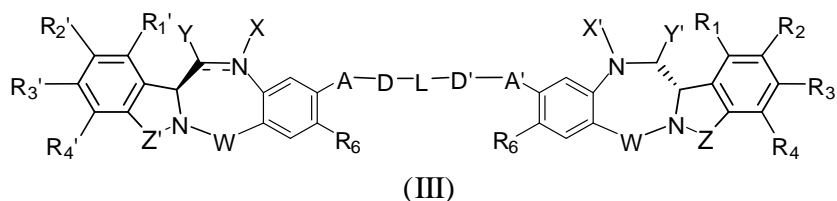
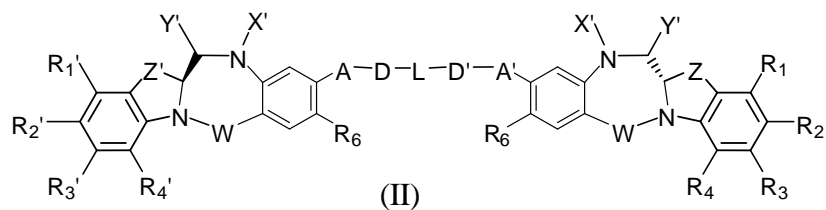
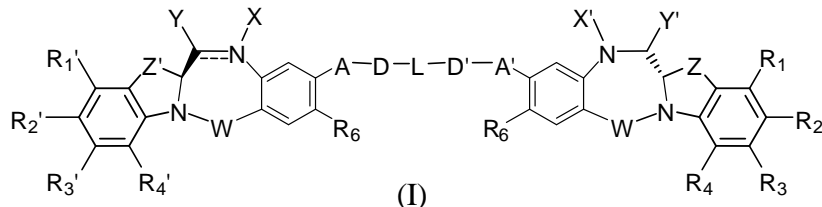
[05] Перший піролбензодіазепін, який увійшов у клінічну практику, SJG-136 (NSC 694501) є потужним цитотоксичним агентом, який викликає перехресне зв'язування внутрішнього ланцюга ДНК (S.G. Gregson et al., 2001, J. Med. Chem., 44: 737-748; M.C. Alley et al., 2004, Cancer Res., 64: 6700-6706; J.A. Hartley et al., 2004, Cancer Res., 64: 6693-6699; C. Martin et al., 2005, Biochemistry., 44: 4135-4147; S. Arnould et al., 2006, Mol. Cancer Ther., 5: 1602-1509). Результати першої фази клінічних досліджень SJG-136 показали, що цей препарат був токсичним за дуже низьких доз (максимальна стерпна доза 45 мг/м<sup>2</sup>), і були відзначені кілька побічних ефектів, у тому числі синдром пропотівання рідини через судини, периферичні набряки, токсичне ураження печінки та стомлюваність. У всіх дозах було відзначено ушкодження ДНК у циркулюючих лімфоцитах (D. Hochhauser et al., 2009, Clin. Cancer Res., 15: 2140-2147). Таким чином, існує потреба в поліпшених похідних бензодіазепіну, які є менш токсичними і, проте, терапевтично активними при лікуванні різних проліферативних хворобливих станів, наприклад, раку.

Сутність винаходу

[06] Цитотоксичні димери бензодіазепінів, описані в даній галузі техніки, мають дві функціональні іміногрупи у вільній формі або обернено блокованої формі, наприклад, у вигляді гідрату, алкоксилату або сульфонату. Наявність зазначених двох функціональних іміногруп приводить до перехресного зв'язування ДНК (S.G. Gregson et al., 2001, J. Med. Chem., 44: 737-748). Даний винахід частково заснований на несподіваному відкритті, яке полягає в тому, що кон'югати агента, який зв'язується із клітинами, і нових цитотоксичних похідних бензодіазепіну, наприклад, димерів індолінбензодіазепіну, позбавлених двох функціональних іміногруп (наприклад, які містять одну функціональну іміногрупу і одну функціональну аміногрупу), і тому нездатних до перехресного зв'язування ДНК, демонструють набагато більш

високий терапевтичний індекс (співвідношення максимальної стерпної дози і мінімальної ефективної дози) *in vivo* у порівнянні з похідними бензодіазепіну, здатними перехресно зв'язувати ДНК, описаними раніше в даній галузі техніки.

- [07] Таким чином, однією метою даного винаходу є забезпечення цитотоксичної сполуки, яка включає зв'язуючу групу із приєднаною до неї реакційноздатною групою, здатну ковалентно приєднувати зазначену цитотоксичну сполуку до агента, який зв'язується із клітинами (СВА, див. нижче), причому цитотоксична сполука представлена будь-якою з наступних формул:



- або її фармацевтично прийнятною сіллю, де:
- подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою одинарний зв'язок або подвійний зв'язок, за умови, що, коли вона являє собою подвійний зв'язок, X відсутня, а Y являє собою -H або лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, а коли вона являє собою одинарний зв'язок, X являє собою -H, зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою або аміноблокуючою групою;
- Y являє собою -H або групу, яка відходить, вибрану із -OR, -OCOR', -OCOOR', -OCONR'R'', -NR'R'', -NR'COR'', -NR'NR'R'', необов'язково заміщений 5- або 6-членний азот-вмісний гетероцикл (наприклад, піперидин, тетрагідропірол, піразол, морфолін і т.д.), гуанідиній, представлений -NR'(C=NH)NR'R'', амінокислоту або пептид, представлений -NRCOP', причому R' являє собою амінокислоту або поліпептид, який містить від 2 до 20 амінокислотних залишків, -SR, -SOR', -SO<sub>2</sub>M, -SO<sub>3</sub>M, -OSO<sub>3</sub>M, галоген, ціаногрупу та азидну групу; або
- Y являє собою сульфат (HSO<sub>3</sub>, HSO<sub>2</sub> або сіль HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>3</sub><sup>2-</sup> або HSO<sub>2</sub><sup>-</sup>, утворену катіоном), метабісульфіт (H<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), моно-, ди-, три- і тетратіофосфат (PO<sub>3</sub>SH<sub>3</sub>, PO<sub>2</sub>S<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, POS<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, PS<sub>4</sub>H<sub>2</sub> або сіль PO<sub>3</sub>S<sup>3-</sup>, PO<sub>2</sub>S<sub>2</sub><sup>3-</sup>, POS<sub>3</sub><sup>3-</sup> або PS<sub>4</sub><sup>3-</sup>, утворену катіоном), складний ефір тіофосфату (R<sup>i</sup>O)<sub>2</sub>PS(OR<sup>i</sup>), R<sup>i</sup>S-, R<sup>i</sup>SO, R<sup>i</sup>SO<sub>2</sub>, R<sup>i</sup>SO<sub>3</sub>, тіосульфат (HS<sub>2</sub>O<sub>3</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), дитіоніт (HS<sub>2</sub>O<sub>4</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), фосфордитіоат (P(=S)(OR<sup>k</sup>)(S)(OH) або його сіль, утворену катіоном), гідроксамову кислоту (R<sup>k</sup>C(=O)NOH або сіль, утворену катіоном), формальдегідсульфоксилат (HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup> або сіль HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup>, утворену катіоном, наприклад, HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup>Na<sup>+</sup>) або їх суміш, де R<sup>i</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, і заміщений щонайменше одним



замінником, вибраним із  $-N(R^i)_2$ ,  $-CO_2H$ ,  $-SO_3H$  і  $-PO_3H$ ;  $R^i$  необов'язково може бути додатково заміщений заміником для алкілу, описаним тут;  $R^j$  являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю;  $R^k$  являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, арил, гетероцикліл або гетероарил; переважно  $Y$  являє собою аддукт бісульфіту, гідросульфиту або метабісульфіту або їх солей (наприклад, солі натрію);

$M$  являє собою  $-H$  або катіон;

$R$ , в кожному випадку незалежно, вибрана із групи, яка складається із  $-H$ , необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$ , необов'язково заміщеного арилу, який містить від 6 до 18 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню і сірки, або необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із  $O$ ,  $S$ ,  $N$  і  $P$ ;

кожна із  $R'$  і  $R''$ , незалежно, вибрана із  $-H$ ,  $-OH$ ,  $-OR$ ,  $-NHR$ ,  $-NR_2$ ,  $-COR$ , необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$  і необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із  $O$ ,  $S$ ,  $N$  і  $P$ ;

$R^c$  являє собою  $-H$  або заміщений або незаміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, або зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою;

$n$  являє собою ціле число від 1 до 24;

$W$  вибрана із  $C=O$ ,  $C=S$ ,  $CH_2$ ,  $BH$ ,  $SO$  і  $SO_2$ ;

$X$  вибрана із  $-H$ , аміноблокуючої групи, зв'язуючої групи з приєднаною до неї реакційноздатною групою, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$ , необов'язково заміщеного арилу, який містить від 6 до 18 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню і сірки, і необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із  $O$ ,  $S$ ,  $N$  і  $P$ ;

$Y$  вибрана із  $-H$ , оксогрупи, зв'язуючої групи з приєднаною до неї реакційноздатною групою, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 6-18-членного арилу, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню і сірки, необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів;

кожна із  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_1'$ ,  $R_2'$ ,  $R_3'$  і  $R_4'$ , незалежно, вибрана із групи, яка складається із  $-H$ , необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-R^c$ , галогену, гуанідинію  $[-NH(C=NH)NH_2]$ ,  $-OR$ ,  $-NR'R''$ ,  $-NO_2$ ,  $-NCO$ ,  $-NR'COR''$ ,  $-SR$ , сульфоксиду, представленого  $-SOR'$ , сульфону, представленого  $-SO_2R'$ , сульфонату  $-SO_3M^+$ , сульфату  $-OSO_3M^+$ , сульфонаміду, представленого  $-SO_2NR'R''$ , ціаногрупи, азидної групи,  $-COR'$ ,  $-OCOR'$ ,  $-CONR'R''$  і зв'язуючої групи з приєднаною до неї реакційноздатною групою;

$R_6$  являє собою  $-H$ ,  $-R$ ,  $-OR$ ,  $-SR$ ,  $-NR'R''$ ,  $-NO_2$ , галоген або зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою;

$Z$  і  $Z'$ , незалежно, вибрані із  $-(CH_2)_n-$ ,  $-(CH_2)_n-CR_7R_8-(CH_2)_{na}-$ ,  $-(CH_2)_n-NR_9-(CH_2)_{na}-$ ,  $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_{na}-$  і  $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_{na}-$ ;

$n$  і  $na$  є однаковими або різними і вибрані із 0, 1, 2 і 3;

$R_7$  і  $R_8$  є однаковими або різними, і кожна із них, незалежно, вибрана із  $-H$ ,  $-OH$ ,  $-SH$ ,  $-COOH$ ,  $-NHR'$ , мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-$ , амінокислоти, пептидної одиниці, яка несе від 2 до 6 амінокислот, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

$R_9$ , незалежно, вибрана із  $-H$ , необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-$ ;

$A$  і  $A'$  є однаковими або різними і, незалежно, вибрані із  $-O-$ , оксо  $-(C(=O)-)$ ,  $-CRR'O-$ ,  $-CRR'-$ ,  $-S-$ ,  $-CRR'S-$ ,  $-NR_5-$  і  $-CRR'N(R_5)-$ ;

$R_5$ , в кожному випадку незалежно, являє собою  $-H$  або необов'язково заміщений лінійний

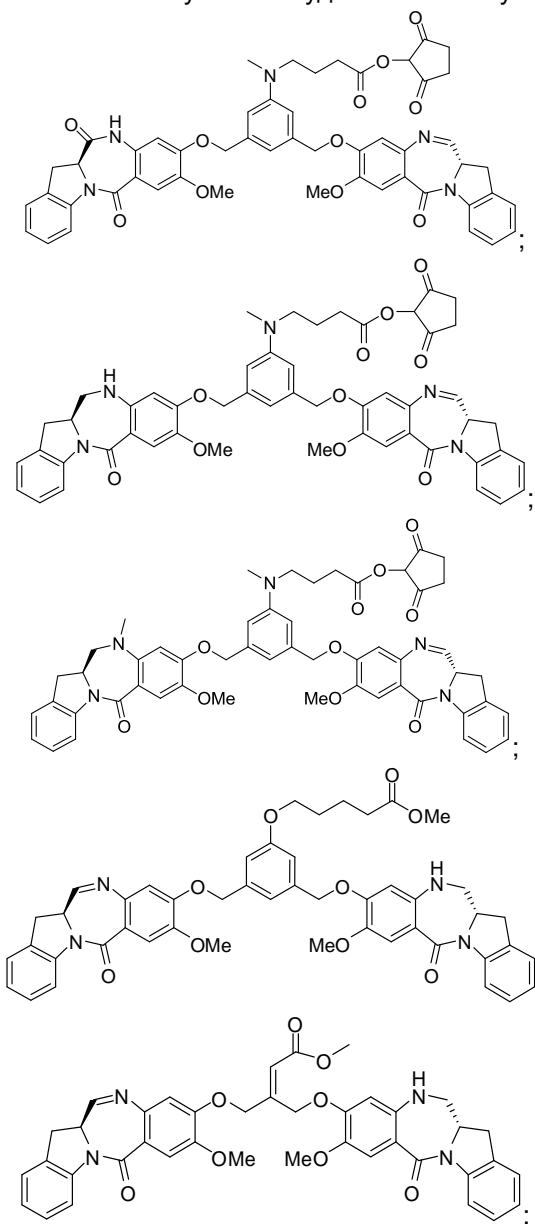
або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

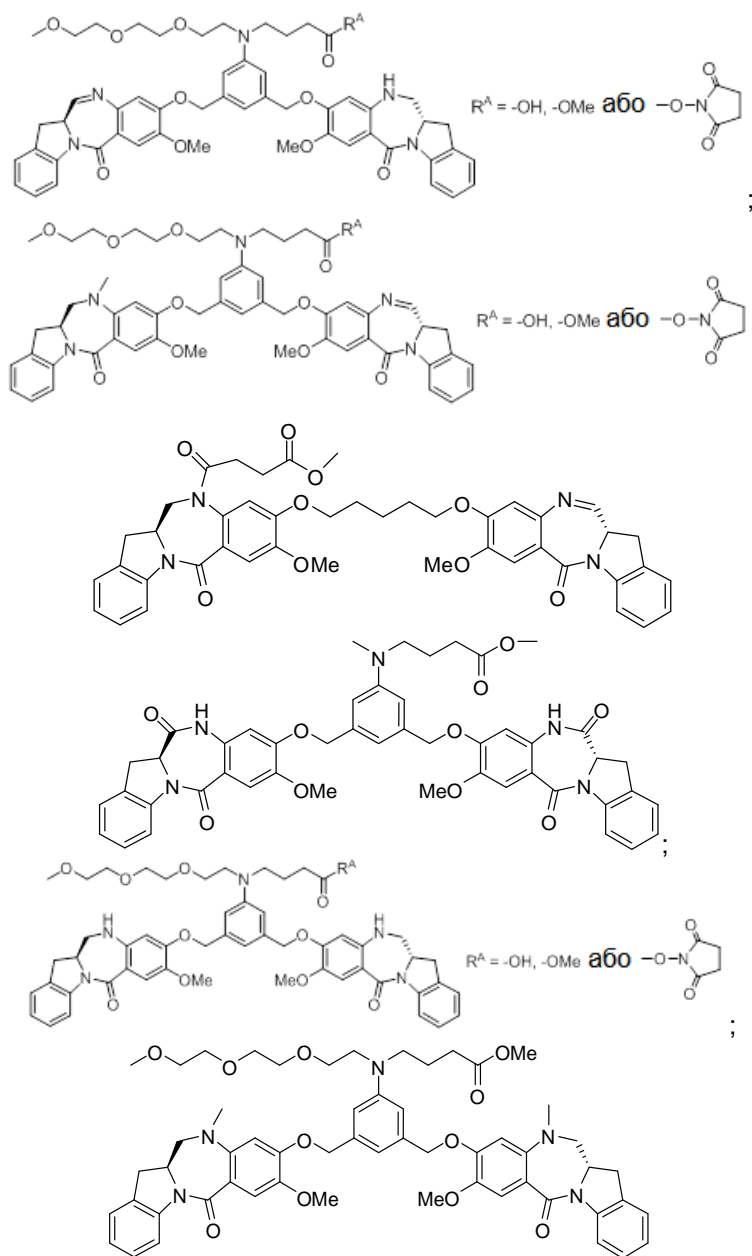
D і D' є однаковими або різними і, незалежно, відсутні або вибрані із групи, яка складається із необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, амінокислоти, пептиду, який несе від 2 до 6 амінокислот, і мономера поліетиленгліколю  $(-OCH_2CH_2)_n$ ;

L відсутня, являє собою зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою, мономер поліетиленгліколю  $(-OCH_2CH_2)_n$ , лінійний, розгалужений або циклічний алкіл або алкеніл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, фенільну групу, 3-18-членний гетероциклічне кільце або 5-18-членний гетероарильне кільце, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P, де алкіл або алкеніл необов'язково заміщені зв'язуючою групою з приєднаною до неї реакційноздатною групою, феніл або гетероциклічне або гетероарильне кільце можуть бути необов'язково заміщені, причому замітник може являти собою зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою.

[08] У деяких варіантах втілення X не є єднальною групою із приєднаної до неї реакційноздатною групою. У деяких варіантах втілення подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою одинарний зв'язок, Y не є -H.

[09] У деяких варіантах втілення сполука не є будь-якою з наступних сполук:



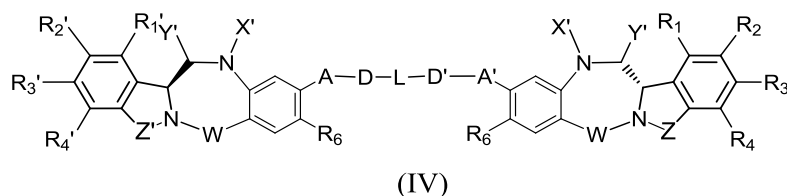
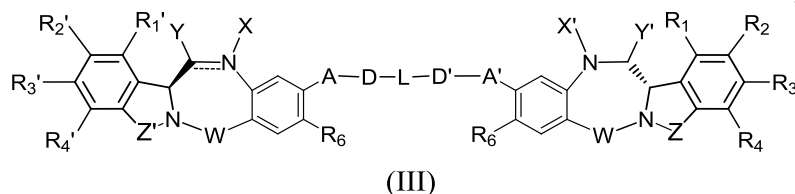
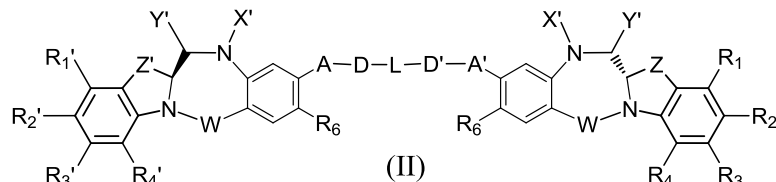
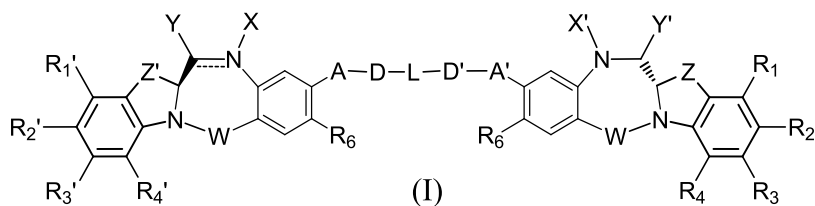


5

[10] У деяких варіантах втілення Y являє собою групу, яка відходить, вибрану із -OR, -OCOR', -OCOOR', -OCONR'R'', -NR'R'', -NR'COR'', -NR'NR'R'', необов'язково заміщений 5- або 6-членний азот-вмісний гетероцикл (наприклад, піперидин, тетрагідропірол, піразол, морфолін і т.д.), гуанідиний, представлений -NR'(C=NH)NR'R'', амінокислоту або пептид, представлений -NRCOP', причому P 'являє собою амінокислоту або поліпептид, який містить від 2 до 20 амінокислотних залишків, -SR, -SOR', -SO<sub>2</sub>M, -SO<sub>3</sub>M, -OSO<sub>3</sub>M, галоген, ціаногрупу та азидну групу.

[11] Другою метою даного винаходу є одержання кон'югатів агентів, які зв'язуються із клітинами, з новими бензодіазепіновими сполуками або їх похідними згідно із даним винаходом. Зазначені кон'югати можна використовувати як терапевтичні агенти, які специфічно доставляються до клітин-мішеней і є цитотоксичними.

[12] Зокрема, кон'югат згідно з винаходом може включати: цитотоксичну сполуку і агент, який зв'язується із клітинами (CBA), причому зазначена цитотоксична сполука включає зв'язуючу групу, яка ковалентно приєднує цитотоксичну сполуку до CBA, і зазначена цитотоксична сполука представлена будь-якою з наступних формул:



5 або її фармацевтично прийнятною сіллю, де:

подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою одинарний зв'язок або подвійний зв'язок, за умови, що, коли вона являє собою подвійний зв'язок, X відсутня, а Y являє собою -H або лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, а коли вона являє собою одинарний зв'язок, X являє собою -H, зв'язуючу групу або аміноблокуючу групу;

10 Y являє собою -H або групу, яка відходить, вибрану із -OR, -OCOR', -OCOOR', -OCONR'R'', -NR'R'', -NR'COR'', -NR'NR'R'', необов'язково заміщений 5- або 6-членний азот-вмісний гетероцикл (наприклад, піперидин, тетрагідропірол, піразол, морфолін), гуанідиній, представлений -NR'(C=NH)NR'R'', амінокислоту або пептид, представлений -NRCOP', причому P 'являє собою амінокислоту або поліпептид, який містить від 2 до 20 амінокислотних залишків,

15 -SR, -SOR', -SO<sub>2</sub>M, -SO<sub>3</sub>M, -OSO<sub>3</sub>M, галоген, ціаногрупу та азидну групу; або  
Y являє собою сульфат (HSO<sub>3</sub>, HSO<sub>2</sub> або сіль HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>3</sub><sup>2-</sup> або HSO<sub>2</sub><sup>-</sup>, утворену катіоном), метабісульфіт (H<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), моно-, ди-, три- і тетратіофосфат (PO<sub>3</sub>SH<sub>3</sub>, PO<sub>2</sub>S<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, POS<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, PS<sub>4</sub>H<sub>2</sub> або сіль PO<sub>3</sub>S<sup>3-</sup>, PO<sub>2</sub>S<sub>2</sub><sup>3-</sup>, POS<sub>3</sub><sup>3-</sup> або PS<sub>4</sub><sup>3-</sup>, утворену катіоном), складний ефір тіофосфату (R<sup>i</sup>O)<sub>2</sub>PS(OR<sup>i</sup>), R<sup>i</sup>S-, R<sup>i</sup>SO, R<sup>i</sup>SO<sub>2</sub>, R<sup>i</sup>SO<sub>3</sub>, тіосульфат (HS<sub>2</sub>O<sub>3</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), дитіоніт (HS<sub>2</sub>O<sub>4</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), фосфордитіоат (P(=S)(OR<sup>k</sup>)(S)(OH) або його сіль, утворену катіоном), гідроксамову кислоту (R<sup>k</sup>C(=O)NOH або сіль, утворену катіоном), формальдегідсульфоксилат (HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup> або сіль HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup>, утворену катіоном, наприклад, HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup>Na<sup>+</sup>) або їх суміш, де R<sup>i</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю і заміщений щонайменше одним  
20 замісником, вибраним із -N(R<sup>i</sup>)<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>H, -SO<sub>3</sub>H і -PO<sub>3</sub>H; R<sup>i</sup> необов'язково може бути додатково заміщений замісником для алкілу, описаним тут; R<sup>j</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю; R<sup>k</sup> являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, арил, гетероцикліл або гетероарил; переважно Y являє собою аддукт бісульфіту, гідросульфиту або метабісульфіту  
25 або їх солей (наприклад, солі натрію);

M являє собою -H або катіон;

R, в кожному випадку незалежно, вибрана із групи, яка складається із -H, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup>, необов'язково  
35 заміщеного арилу, який містить від 6 до 18 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню і сірки, або необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного

кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P;

кожна із R' і R'', незалежно, вибрана із -H, -OH, -OR, -NHR, -NR<sub>2</sub>, -COR, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup> і необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P;

R<sup>c</sup> являє собою -H або заміщений або незаміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю або зв'язуючу групу;

n являє собою ціле число від 1 до 24;

W вибрана із C=O, C=S, CH<sub>2</sub>BH, SO і SO<sub>2</sub>;

X' вибрана із -H, аміноблокуючої групи, зв'язуючої групи, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup>, необов'язково заміщеного арилу, який містить від 6 до 18 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню і сірки, і необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P;

Y' вибрана із -H, оксогрупи, зв'язуючої групи, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 6-18-членного арилу, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню і сірки, необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів;

кожна із R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>1</sub>', R<sub>2</sub>', R<sub>3</sub>' і R<sub>4</sub>', незалежно, вибрана із групи, яка складається із -H, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup>, галогену, гуанідинію [-NH(C=NH)NH<sub>2</sub>], -OR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, -NCO, -NR'COR'', -SR, сульфоксиду, представленого -SOR', сульфону, представленого -SO<sub>2</sub>R', сульфонату -SO<sub>3</sub>M<sup>+</sup>, сульфату -OSO<sub>3</sub>M<sup>+</sup>, сульфонамідів, представленого -SO<sub>2</sub>NR'R'', ціаногрупи, азидної групи, -COR', -OCOR', -OCONR'R'' і зв'язуючої групи;

R<sub>6</sub> являє собою -H, -R, -OR, -SR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, галоген або зв'язуючу групу;

Z і Z', незалежно, вибрані із -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CR<sub>7</sub>R<sub>8</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>na</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-NR<sub>9</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>na</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>na</sub>- і -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>na</sub>-;

n і na є однаковими або різними і вибрані із 0, 1, 2 і 3;

R<sub>7</sub> і R<sub>8</sub> є однаковими або різними, і кожна із них, незалежно, вибрана із -H, -OH, -SH, -COOH, -NHR', мономера поліетиленгліколю -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, амінокислоти, пептидної одиниці, яка несе від 2 до 6 амінокислот, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

R<sub>9</sub> незалежно вибрана із -H, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-;

A і A' є однаковими або різними і незалежно вибрані із -O-, оксо (-C(=O)-), -CRR'O-, -CRR'-, -S-, -CRR'S-, -NR<sub>5</sub> і -CRR'N(R<sub>5</sub>)-,

R<sub>5</sub> в кожному випадку незалежно, являє собою -H або необов'язково заміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

D і D' є однаковими або різними і, незалежно, відсутні або вибрані із групи, яка складається із необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, амінокислоти, пептиду, який несе від 2 до 6 амінокислот, і мономера поліетиленгліколю -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-;

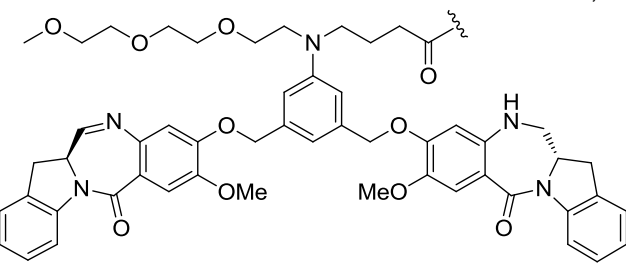
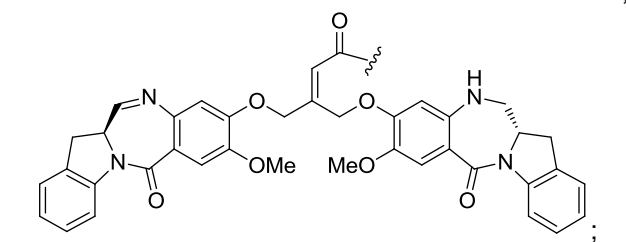
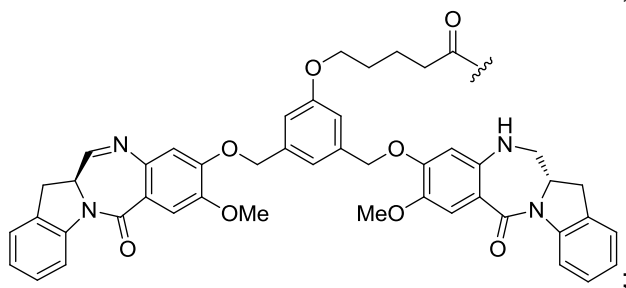
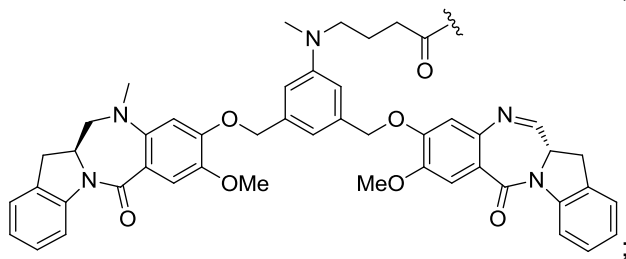
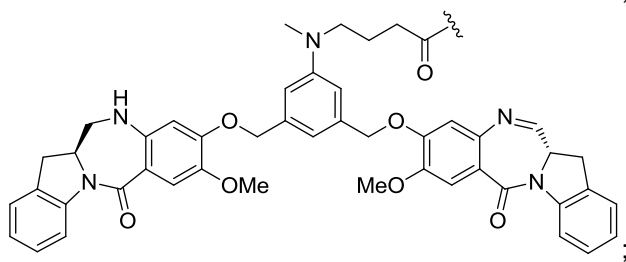
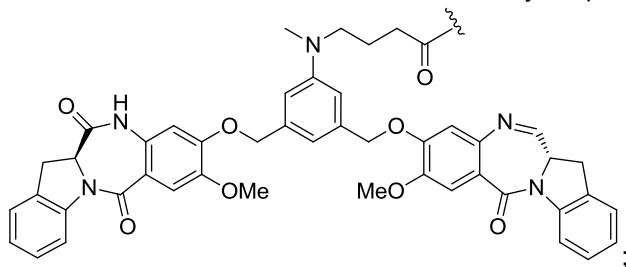
L відсутня, являє собою зв'язуючу групу, мономер поліетиленгліколю -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, лінійний, розгалужений або циклічний алкіл або алкеніл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, фенільну групу, 3-18-членне гетероциклічне кільце або 5-18-членне гетероарильне кільце, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P, де алкіл або алкеніл необов'язково заміщені зв'язуючою групою; феніл або гетероциклічне або гетероарильне кільце можуть бути необов'язково заміщені, причому замітник може являти собою зв'язуючу групу.

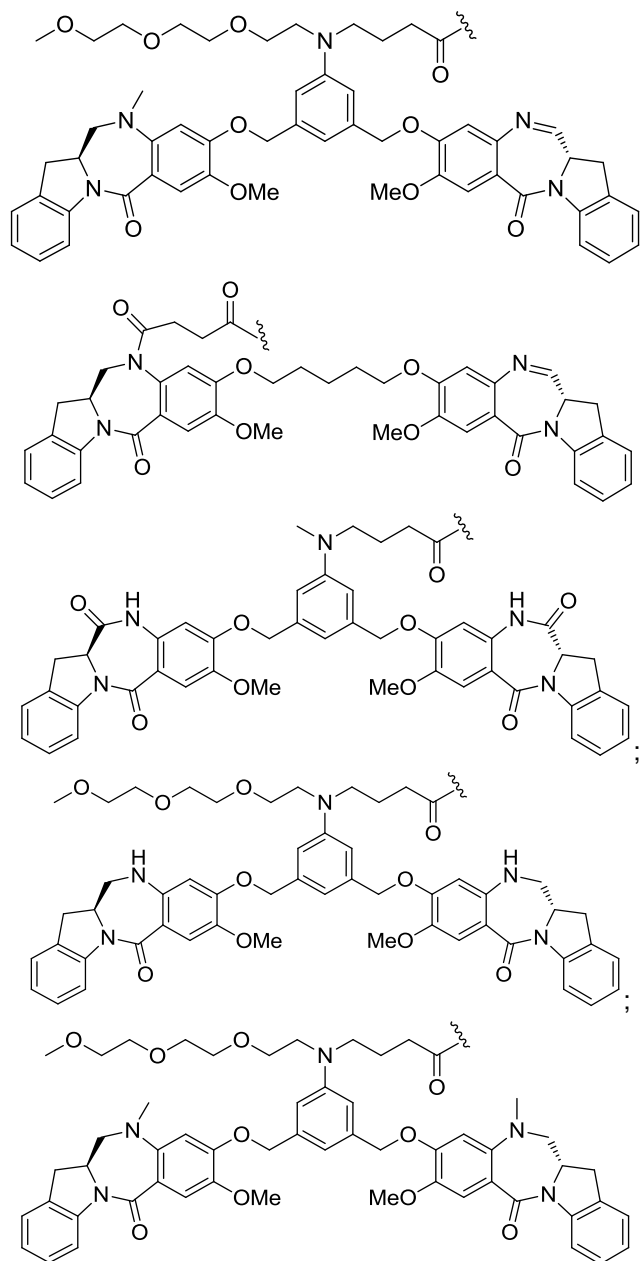
[13] У деяких варіантах втілення X не є зв'язуючою групою. У деяких варіантах втілення подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою одинарний зв'язок, Y не є -H.

[14] У деяких варіантах втілення Y являє собою -H або групу, яка відходить, вибрану із -OR, -OCOR', -OCOOR', -OCONR'R'', -NR'R'', -NR'COR'', -NR'NR'R'', необов'язково заміщений 5- або 6-членний азот-вмісний гетероцикл (наприклад, піперидин, тетрагідропірол, піразол, морфолін і

т.д.), гуанідиній, представлений  $\text{-NR}'(\text{C}=\text{NH})\text{NR}'\text{R}''$ , амінокислоту або пептид, представлений  $\text{-NRCOP}'$ , причому Р 'являє собою амінокислоту або поліпептид, який містить від 2 до 20 амінокислотних залишків,  $\text{-SR}$ ,  $\text{-SOR}'$ ,  $\text{-SO}_2\text{M}$ ,  $\text{-SO}_3\text{M}$ ,  $\text{-OSO}_3\text{M}$ , галоген, ціаногрупу та азидну групу. У деяких варіантах втілення Y не є  $\text{-H}$ .

5 [15]У деяких варіантах втілення сполука кон'югату не є будь-якою з наступних сполук  
(хвилястий зв'язок являє собою зв'язок, за допомогою якого сполука приєднана до СВА)





5

[16] Даний винахід також включає композицію (наприклад, фармацевтичну композицію), яка включає нові бензодіазепінові сполуки, їх похідні або кон'югати (і/або сольвати, гідрати і/або солі) і носій (фармацевтично прийнятний носій). Даний винахід додатково включає композицію (наприклад, фармацевтичну композицію), яка включає нові бензодіазепінові сполуки, їх похідні або кон'югати (і/або сольвати, гідрати і/або солі) і носій (фармацевтично прийнятний носій), а також яка включає другий терапевтичний агент. Композиції згідно з даним винаходом можна використовувати для інгібування аномального клітинного росту або лікування проліферативного розладу у ссавця (наприклад, людини). Композиції згідно з даним винаходом можна використовувати для лікування таких станів як рак, ревматоїдний артрит, розсіяний склероз, реакція трансплантат проти хазяїна (РТПХ), відторгнення трансплантату, вовчак, міозит, інфекція, імунodefіцит, наприклад, СНІД, і запальні захворювання у ссавців (наприклад, людини).

10

15

[17] Даний винахід включає спосіб інгібування аномального клітинного росту або лікування проліферативного розладу у ссавця (наприклад, людини), який включає введення зазначеному ссавцеві терапевтично ефективної кількості нових бензодіазепінових сполук, їх похідних або кон'югатів (і/або сольватів і солей) або їх композиції, окремо або в комбінації із другим терапевтичним агентом.

20

Даний винахід включає спосіб синтезу та застосування нових бензодіазепінових сполук, їх похідних і кон'югатів для діагностики або обробки клітин ссавців, організмів або асоційованих

патологічних станів *in vitro*, *in situ* і *in vivo*.

[18] Сполуки згідно з даним винаходом, їх похідні або кон'югати та композиції, які включають їх, можна використовувати для лікування або зменшення тяжкості захворювань, наприклад, таких, які характеризуються аномальним ростом клітин (наприклад, раку). Інші варіанти застосування сполук і кон'югатів згідно з даним винаходом включають лікування таких станів, як рак, ревматоїдний артрит, розсіяний склероз, реакція трансплантат проти хазяїна (РТПХ), відторгнення трансплантату, вовчак, міозит, інфекція, імунodefіцит, наприклад, СНІД і запальні захворювання у ссавців (наприклад, людини), але не обмежуються ними.

[19] Як використовується тут стосовно групи (наприклад, R<sup>c</sup>, L, X і т.д.), "являє собою/являти собою" (або "не являє собою") зв'язуючу групу або зв'язуючу групу із приєднаною до неї реакційноздатною групою означає, що група "включає" (або "не включає") зв'язуючу групу або зв'язуючу групу із приєднаною до неї реакційноздатною групою.

Короткий опис креслень

[20] На Фіг. 1-6 показані схеми синтезу бензодіазепінових сполук і відповідних сполук, які приєднуються, придатних для кон'югування згідно з даним винаходом.

[21] На Фіг. 7 показана схема синтезу типових сполук із ПЕГ-модифікованими лінкерами згідно з даним винаходом.

[22] На Фіг. 8 показана схема синтезу типових сполук із метилтіо-лінкером згідно з даним винаходом.

[23] На Фіг. 9-10 показані схеми синтезу типових сполук, які містять третинний амін згідно з даним винаходом.

[24] На Фіг. 11 показана схема синтезу типових сполук із пептидним лінкером згідно з даним винаходом.

[25] На Фіг. 12-19 показані схеми синтезу типових сполук, які підходять для способів одноетапного кон'югування згідно з даним винаходом.

[26] На Фіг. 20 показана схема двоетапного синтезу моноімінового димера.

[27] На Фіг. 21 показана схема двоетапного синтезу дивідновлювального димера.

[28] На Фіг. 22 показана схема одноетапного синтезу типових кон'югатів антитіло/лікарська речовина.

[29] На Фіг. 23 показана схема двоетапного синтезу типових кон'югатів антитіло/лікарська речовина.

[30] На Фіг. 24 показана цитотоксичність метилдитіо-димера 1d *in vitro* проти ліній клітин Namalwa, KB і HL60/QC.

[31] На Фіг. 25 показана цитотоксичність і специфічність *in vitro* кон'югатів huMy9-6-SPDB-1f проти різних клітинних ліній. Слід зазначити, що до реакційного середовища для виготовлення кон'югату додавали бісульфіт натрію.

[32] На Фіг. 26 показана цитотоксичність і специфічність *in vitro* кон'югатів huFOLR1-SPDB-1f.

[33] На Фіг. 27 показано, що кон'югування димера не знижує спорідненості зв'язування антитіла. Слід зазначити, що до реакційного середовища для виготовлення кон'югату додавали бісульфіт натрію.

[34] На Фіг. 28 показана антипухлинна активність *in vivo* кон'югату huMy9-6. Слід зазначити, що до реакційного середовища для виготовлення кон'югату додавали бісульфіт натрію.

[35] На Фіг. 29 показана цитотоксичність *in vitro* кон'югату huMy9-6-SPDB-1f проти антиген-позитивних клітин. Слід зазначити, що до реакційного середовища для виготовлення кон'югату додавали бісульфіт натрію.

[36] На Фіг. 30 показана схема синтезу для одержання тіоефір-вмісного дисульфідного лінкера 27e-h.

[37] На Фіг. 31 показана схема синтезу для одержання димерів 28c-f.

[38] На Фіг. 32 показана схема синтезу для одержання феніл-приєднаних димерів 29b-c.

[39] На Фіг. 33 показана схема альтернативного двоетапного синтезу моноімінових димерів.

[40] На Фіг. 34 показана цитотоксичність *in vitro* для huMy9-6-SPDB-1f (A), huMy9-6-сульфоSPDB-1f (B) і huMy9-6-BMPS-1f (C) проти клітин HL60/QC (Ag<sup>+</sup>) з і без блокування антиген-зв'язуючих сайтів. Слід зазначити, що у всіх трьох експериментах (34A, 34B і 34C) до реакційного середовища для виготовлення кон'югату додавали бісульфіт натрію.

[41] На Фіг. 35 показана цитотоксичність *in vitro* для chB38.1-SPDB-1f (A) і chB38.1-сульфоSPDB-1f (B) проти клітин COLO205 (Ag<sup>+</sup>). Слід зазначити, що в обох експериментах до реакційного середовища для виготовлення кон'югату додавали бісульфіт натрію.

[42] На Фіг. 36 показана ефективність huMy9-6-SPDB-1f *in vivo* на мишах, які несуть HL60/QC. Слід зазначити, що до реакційного середовища для кон'югування додавали бісульфіт натрію.

[43] На Фіг. 37 показана ефективність huFOLR1-SPDB-1f *in vivo* на мишах, які несуть пухлини



KB.

[44] На Фіг. 38 показана схема синтезу сполуки 1.

[45] На Фіг. 39 показана схема синтезу сполуки 1d з використанням 5-етил-2-метилпіридинборану (PEMB).

5 [46] На Фіг. 40 показана схема синтезу сполуки 1d з використанням триацетоксиборгідриду натрію (STAB).

[47] На Фіг. 41 показана схема синтезу сполуки 31a-c.

[48] На Фіг. 42 показана схема синтезу сполуки 32c,d.

[49] На Фіг. 43 показана схема синтезу сполук 1i і 12a.

10 [50] На Фіг. 44 показана антипроліферативна активність шляхом порівняння (A) huMy9-6-SPDB-1f, (B) huMy9-6-сульфоSPDB-1f і (C) huMy9-6-BMPS-1f проти клітин OCI-AML3 (Ag<sup>+</sup>) з і без блокування антиген-зв'язуючих сайтів. Слід зазначити, що у всіх трьох експериментах до реакційного середовища для виготовлення кон'югату додавали бісульфіт натрію.

15 [51] На Фіг. 45 показана альтернативна схема синтезу 4-(бензилокси)-5-метокси-2-нітробензойної кислоти, використовуваної при отриманні мономера IBD.

[52] Фіг. 46 є альтернативною схемою синтезу (5-((2-(2-метоксиетокси)етокс)етил)(2-метил-2-(метилдисульфанил)пропіл)аміно)-1,3-фенілен)диметанолу (1b).

[53] Фіг. 47 є альтернативною схемою синтезу (5-((2-(2-(2-метоксиетокси)етокс)етил)(2-метил-2-(метилдисульфанил)пропіл)аміно)-1,3-фенілен)диметанолу (1b).

20 [54] Фіг. 48 є альтернативною схемою двоетапного синтезу моноімінового димера.

[55] На Фіг. 49 показана активність різних кон'югатів стосовно різних ліній клітин. Значення IC<sub>50</sub>, перераховані в таблиці, наведені в нМ.

[56] На Фіг. 50 показана ефективність huMy9-6-сульфо-SPDB-1fin vivo на мишах, які несуть пухлину MOLM-13.

25 [57] На Фіг. 51 показана ефективність huMy9-6-сульфо-SPDB-1fin vivo на мишах, які несуть пухлину NB4.

[58] На Фіг. 52 показана ефективність huMy9-6-BMPS-1fin vivo на мишах, які несуть пухлину HL60/QC.

30 [59] На Фіг. 53 показана ефективність huMy9-6-BMPS-1fin vivo на мишах, які несуть пухлину MOLM-13. Слід зазначити, що до реакційного середовища для виготовлення кон'югату додавали бісульфіт натрію.

[60] На Фіг. 54 показана типова схема синтезу кон'югату сульфований фолат/цитотоксична сполука.

35 [61] На Фіг. 55 показано декілька типових кон'югатів сульфована лікарська речовина-антитіло з різними лінкерами.

[62] На Фіг. 56 показана ефективність huMy9-6-лікарська речовина 2in vivo на мишах, які несуть пухлину HL60/QC. Слід зазначити, що до реакційного середовища для виготовлення кон'югату додавали бісульфіт натрію.

40 [63] На Фіг. 57 показана ефективність huMy9-6-лікарська речовина 2in vivo на мишах, які несуть пухлину MOLM-13. Слід зазначити, що до реакційного середовища для виготовлення кон'югату додавали бісульфіт натрію.

[64] На Фіг. 58 показана аналогічна цитотоксичність in vitro кон'югатів huMy9-6/лікарська речовина 2, отриманих без і з використанням бісульфіту натрію, проти клітин HL60, які експресують антиген CD33.

45 [65] На Фіг. 59 показана аналогічна цитотоксичність in vitro кон'югатів антитіло проти CD22/лікарська речовина 2, отриманих без і з використанням бісульфіту натрію, проти клітин BJAB, які експресують антиген CD22.

[66] На Фіг. 60 показане одержання huMy9-6-сульфо-SPDB-1d з використанням лінкера 4-нітроРу-сульфо-SPDB, який володіє високою реакційною здатністю.

50 Докладний опис винаходу

[67] У даному розділі наведений докладний опис із посиланнями на конкретні варіанти втілення винаходу, приклади яких знайшли відбиття в доданих структурах і формулах. Хоча даний винахід описаний стосовно конкретних наведених варіантів втілення, слід розуміти, що даний винахід не обмежений зазначеними варіантами втілення. Напроти, мається на увазі, що винахід охоплює всі альтернативи, модифікації та еквіваленти, які можуть бути включені в обсяг даного винаходу, як визначено формулою винаходу. Для фахівця в даній галузі техніки очевидні численні способи і матеріали, аналогічні або еквівалентні описаним тут, які можна використовувати для здійснення даного винаходу.

60 [68] Слід розуміти, що будь-який з описаних тут варіантів втілення, включаючи варіанти, описані в різних аспектах даного винаходу (наприклад, сполуки, молекули сполуки-лінкер,

кон'югати, композиції, способи їх одержання і застосування), і різні частини опису (включаючи варіанти втілення, описані тільки в Прикладах) можна поєднувати з одним або більше інших варіантів втілення винаходу, якщо вони не заперечуються або не є невідповідними явно. Комбінація варіантів втілення винаходу не обмежується зазначеними специфічними комбінаціями, заявленими в декількох залежних пунктах формули винаходу.

#### Визначення

[69] "Лінійний або розгалужений алкіл", як використовується тут, стосується насиченого лінійного або розгалуженого одновалентного вуглеводневого радикалу із від одного до двадцяти атомів вуглецю. Приклади алкілів включають метил, етил, 1-пропіл, 2-пропіл, 1-бутил, 2-метил-1-пропіл,  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ , 2-бутил, 2-метил-2-пропіл, 1-пентил, 2-пентил, 3-пентил, 2-метил-2-бутил, 3-метил-2-бутил, 3-метил-1-бутил, 2-метил-1-бутил, 1-гексил, 2-гексил, 3-гексил, 2-метил-2-пентил, 3-метил-2-пентил, 4-метил-2-пентил, 3-метил-3-пентил, 2-метил-3-пентил, 2,3-диметил-2-бутил, 3,3-диметил-2-бутил, 1-гептил, 1-октил і т.п., але не обмежуються ними. Переважно алкіл містить від одного до десяти атомів вуглецю. Більш переважно, алкіл містить від одного до чотирьох атомів вуглецю.

[70] "Лінійний або розгалужений алкеніл" стосується лінійного або розгалуженого одновалентного вуглеводневого радикалу із від двох до двадцяти атомів вуглецю та із щонайменше одним ненасиченим сайтом, тобто подвійним зв'язком вуглець-вуглець, причому алкеніл-радикал включає радикали із "цис-" і "транс-" орієнтацією або, у якості альтернативи, в орієнтаціях "E" і "Z". Приклади включають етиленіл або вініл ( $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ), аліл ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ) і т.п., але не обмежуються ними. Переважно алкеніл містить від двох до десяти атомів вуглецю. Більш переважно алкеніл містить від двох до чотирьох атомів вуглецю.

[71] "Лінійний або розгалужений алкініл" стосується лінійного або розгалуженого одновалентного вуглеводневого радикалу із від двох до двадцяти атомів вуглецю та із щонайменше одним ненасиченим сайтом, тобто потрійним зв'язком вуглець-вуглець. Приклади включають етиніл, пропініл, 1-бутиніл, 2-бутиніл, 1-пентиніл, 2-пентиніл, 3-пентиніл, гексиніл і т.п., але не обмежуються ними. Переважно, алкініл містить від двох до десяти атомів вуглецю. Більш переважно алкініл містить від двох до чотирьох атомів вуглецю.

[72] Терміни "карбоцикл", "карбоцикліл" і "карбоциклічне кільце" стосуються одновалентного неароматичного, насиченого або частково ненасиченого кільця, яке містить від 3 до 12 атомів вуглецю у випадку моноциклічного кільця або від 7 до 12 атомів вуглецю - у випадку біциклічного кільця. Біциклічні карбоцикли, які містять від 7 до 12 атомів, можуть бути організовані, наприклад, у вигляді системи біцикло [4,5], [5,5], [5,6] або [6,6], а біциклічні карбоцикли, які містять 9 або 10 атомів у кільці, можуть бути організовані в вигляді системи біцикло [5,6] або [6,6], або у вигляді місткових систем, наприклад, біцикло[2.2.1]гептану, біцикло[2.2.2]октану і біцикло[3.2.2]нонану. Приклади моноциклічних карбоциклів включають циклопропіл, циклобутил, циклопентил, 1-циклопент-1-еніл, 1-циклопент-2-еніл, 1-циклопент-3-еніл, циклогексил, 1-циклогекс-1-еніл, 1-циклогекс-2-еніл, 1-циклогекс-3-еніл, циклогексадиєніл, циклогептил, циклооктил, циклононіл, циклодецил, циклоундецил, циклододецил і т.п., але не обмежуються ними.

[73] Терміни "циклічний алкіл" і "циклоалкіл" можна використовувати рівнозначно. Вони стосуються одновалентного насиченого карбоциклічного кільцевого радикалу. Переважно циклічний алкіл є 3-7-членним моноциклічним кільцевим радикалом. Більш переважно циклічний алкіл є циклогексилом.

[74] Термін "циклічний алкеніл" стосується карбоциклічного кільцевого радикалу, який містить щонайменше один подвійний зв'язок у складі кільцевої структури.

[75] Термін "циклічний алкініл" стосується карбоциклічного кільцевого радикалу, який містить щонайменше один потрійний зв'язок у складі кільцевої структури.

[76] "Арил" означає одновалентний ароматичний вуглеводневий радикал із 6-18 атомів вуглецю, отриманий видаленням одного атома водню від одного атома вуглецю вихідної ароматичної кільцевої системи. Деякі арильні групи представлені у типових структурах як "Ar". Арил включає біциклічні радикали, які включають ароматичне кільце, конденсовані з насиченим, частково ненасиченим кільцем або ароматичним карбоциклічним або гетероциклічним кільцем. Типові арильні групи включають радикали, які походять від бензолу (феніл), заміщені бензоли, нафталін, антрацен, інданіл, інданіл, 1, 2-дигідронафталін, 1,2,3, 4-тетрагідронафтил і т.п., але не обмежуються ними. Переважно арил є фенільною групою.

[77] Терміни "гетероцикл", "гетероцикліл" і "гетероциклічне кільце" використовуються тут рівнозначно і стосуються насиченого або частково ненасиченого (тобто такого, який містить один або більше подвійних і/або потрійних зв'язків у складі кільця) карбоциклічного радикалу із від 3 до 18 атомів у складі кільця, причому щонайменше один атом у складі кільця є

гетероатомом, вибраним із азоту, кисню, фосфору та сірки, а інші атоми у складі кільця є атомами С, де один або більше атомів у складі кільця, необов'язково, незалежно, заміщені одним або більше заміників, описаних нижче. Гетероцикл може бути моноциклічною структурою, яка містить від 3 до 7 членів кільця (2-6 атомів вуглецю і 1-4 гетероатоми, вибраних із N, O, P і S) або біциклічною структурою, яка містить від 7 до 10 членів кільця (4-9 атомів вуглецю і 1-6 гетероатомів, вибраних із N, O, P і S), наприклад: системою біцикло [4,5], [5,5], [5,6] або [6,6]. Гетероцикли описані Paquette, Leo A.; "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W. A. Benjamin, New York, 1968), зокрема, у розділах 1, 3, 4, 6, 7 і 9; "The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, New York, з 1950 до сьогодні), зокрема, томах 13, 14, 16, 19 і 28; і J. Am. Chem. Soc. (1960) 82:5566. "Гетероциклілі" також включає радикали, де гетероциклічні радикали конденсовані з насиченим, частково ненасиченим кільцем або ароматичним карбоциклічним або гетероциклічним кільцем. Приклади гетероциклічних кілець включають піролідиніл, тетрагідрофураніл, дигідрофураніл, тетрагідротієніл, тетрагідропіраніл, дигідропіраніл, тетрагідротіопіраніл, піперидино, морфоліно, тіоморфоліно, тіоксаніл, піперазиніл, гомопіперазиніл, азетидиніл, оксетаніл, тіетаніл, гомопіперидиніл, оксепаніл, тіепаніл, оксазепаніл, діазепаніл, тіазепаніл, 2-піролініл, 3-піролініл, індолініл, 2Н-піраніл, 4Н-піраніл, диоксаніл, 1,3-диоксоланіл, піразолініл, дитіаніл, дитіоланіл, дигідропіраніл, дигідротієніл, дигідрофураніл, піразолідиніл, імідазолініл, імідазолідиніл, 3-азабіцикло[3.1.0]гексаніл, 3-азабіцикло[4.1.0]гептаніл та азабіцикло[2.2.2]гексаніл, але не обмежуються ними. У рамки даного визначення також входять спірогрупи. Прикладами гетероциклічних груп, де кільцеві атоми заміщені оксогрупами (=O), є піримідиноніл і 1,1-диоксотіоморфолініл.

[78] Термін "гетероарил" стосується одновалентного ароматичного радикалу з 5- або 6-членних кілець і включає системи конденсованих кілець (щонайменше одне з яких є ароматичним) з 5-18 атомів, які містять один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню і сірки. Прикладами гетероарильних груп є піридиніл (включаючи, наприклад, 2-гідроксипіридиніл), імідазоліл, імідазопіридиніл, піримідиніл (включаючи, наприклад, 4-гідроксипіримідиніл), піразоліл, триазоліл, піразиніл, тетразоліл, фурил, тієніл, ізоксазоліл, тіазоліл, оксазоліл, ізотіазоліл, піроліл, хінолініл, ізохінолініл, індоліл, бензімідазоліл, бензофураніл, циннолініл, індазоліл, індолізініл, фталазініл, піридазініл, триазиніл, ізоіндоліл, птеридиніл, пуриніл, оксадіазоліл, триазоліл, тіадіазоліл, фуразаніл, бензофуразаніл, бензотіофеніл, бензотіазоліл, бензоксазоліл, хіназолініл, хіноксалініл, нафтиридиніл і фуропіридиніл.

[79] Гетероциклічна або гетероарильна групи можуть за можливості приєднуватися через атом вуглецю (вуглець-зв'язана група) або азоту (азот-зв'язана група). У якості необмежувачого прикладу, гетероцикли або гетероарили, приєднані через атом вуглецю, приєднані за положенням 2, 3, 4, 5 або 6 піридину, положенням 2, 3, 4, 5 або 6 піридазину, положенням 2, 3, 4 або 5 фурану, положенням 2, 3, 4 або 5 піразину, положенням 2, 3, 4 або 5 тетрагідрофурану, тіофурану, тіофену, піролу або тетрагідропіролу, положенням 2, 4 або 5 оксазолу, імідазолу або тіазолу, положенням 3, 4 або 5 ізоксазолу, піразолу або ізотіазолу, положенням 2 або 3 азиридину, положенням 2, 3 або 4 азетидину, положенням 2, 3, 4, 5, 6, 7 або 8 хіноліну або положенням 1, 3, 4, 5, 6, 7 або 8 ізохіноліну.

[80] У якості необмежувачого прикладу, гетероцикли або гетероарили, приєднані через атом азоту, приєднані за положенням 1 азиридину, азетидину, піролу, піролідину, 2-піроліну, 3-піроліну, імідазолу, імідазолідину, 2-імідазоліну, 3-імідазоліну, піразолу, піразоліну, 2-піразоліну, 3-піразоліну, піперидину, пиперазину, індолу, індоліну, 1Н-індазолу, положенням 2 ізоіндолу або ізоіндоліну, положенням 4 морфоліну і положенням 9 карбазолу або О-карболіну.

[81] Гетероатоми, присутні у складі гетероарилу або гетероциклілу, включають окиснені форми, наприклад, NO, SO і SO<sub>2</sub>.

[82] Термін "гало" або "галоген" стосується F, Cl, Br або I.

[83] Алкіл, алкеніл, алкініл, циклічний алкіл, циклічний алкеніл, циклічний алкініл, карбоциклілі, арил, гетероциклілі і гетероарил, описані вище, можуть бути необов'язково заміщені одним або більше (наприклад, 2, 3, 4, 5, 6 або більше) заміників.

[84] Якщо замітник описаний як "заміщений", то замість атома водню біля атома вуглецю, кисню, сірки або азоту у складі замітника присутній замітник, який не є атомом водню. Так, наприклад, заміщений алкільний замітник є алкільним заміником, де щонайменше один замітник, який не є атомом водню, присутній замість атома водню у складі зазначеного алкільного замітника. З метою ілюстрації монофторалкіл є алкілом, заміщеним фтор-замінником, а дифторалкіл є алкілом, заміщеним двома фтор-замінниками. Слід розуміти, що якщо у складі замітника присутньо більше однієї заміни, кожен замітник, який не є атомом

водню, може бути однаковим або відмінним (якщо не зазначено інше).

[85] Якщо замітник описаний як "необов'язково заміщений", зазначений замітник може бути або (1) не заміщеним, або (2) заміщеним. Якщо атом вуглецю замітника описаний як необов'язково заміщений одним або декількома замітниками зі списку, один або кілька атомів водню біля атома вуглецю (якщо такі є) окремо і/або спільно можуть бути заміщені незалежно вибраним необов'язковим замітником. Якщо атом азоту замітника описаний як необов'язково заміщений одним або декількома замітниками з переліку, кожен із одного або декількох атомів водню біля атома азоту (якщо такі є) може бути заміщений незалежно вибраним необов'язковим замітником. Один типовий замітник може бути зображений як  $-NR'R''$ , де  $R'$  і  $R''$ , разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, можуть утворювати гетероциклічне кільце. Гетероциклічне кільце, утворене  $R'$  і  $R''$  разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, може бути частково або повністю насиченим. В одному варіанті втілення зазначене гетероциклічне кільце містить від 3 до 7 атомів. В іншому варіанті втілення гетероциклічне кільце вибране із групи, яка складається із піролілу, імідазолілу, піразолілу, тριαзолілу, тетразолілу, ізоксазолілу, піридилу та тіазолілу.

[86] У даному описі терміни "замітник", "радикал" і "група" використовуються взаємозамінно.

[87] Якщо група замітників спільно описана як необов'язково заміщена одним або більше замітників із переліку, зазначена група може включати: (1) замітники, які не заміщуються, (2) замітники, які заміщуються, які не заміщені необов'язковими замітниками, і/або (3) замітники, які заміщуються, заміщені одним або більше необов'язкових замітників.

[88] Якщо замітник описаний як необов'язково заміщений певною кількістю замітників, які не є атомами водню, то замітники можуть бути або (1) незаміщеними; або (2) заміщеними зазначеною певною кількістю замітників, які не є атомами водню, або за максимальною кількістю положень, які заміщуються, у складі замітника, залежно від того, яке значення із зазначених є меншим. Так, наприклад, якщо замітник описаний як гетероарил, необов'язково заміщений до 3 замітників, які не є атомами водню, то будь-який гетероарил з менше ніж 3 положеннями, які заміщуються, може необов'язково бути заміщеним лише до такої кількості замітників, які не є атомами водню, скільки положень, які заміщуються, містить зазначений гетероарил. Такі замітники в необмежуваних прикладах можуть бути вибрані з лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, арилу, гетероарилу, гетероциклілу, галогену, гуанідинію  $[-NH(C=NH)NH_2]$ ,  $-OR^{100}$ ,  $NR^{101}R^{102}$ ,  $-NO_2$ ,  $-NR^{101}COR^{102}$ ,  $-SR^{100}$ , сульфоксиду, представленого  $-SOR^{101}$ , сульфону, представленого  $-SO_2R^{101}$ , сульфонату  $-SO_3M$ , сульфату  $-OSO_3M$ , сульфонаміді, представленого  $-SO_2NR^{101}R^{102}$ , ціаногрупи, азидної групи,  $-COR^{101}$ ,  $-OCOR^{101}$ ,  $-CONR^{101}R^{102}$ ; мономера поліетиленгліколю  $(-OCH_2CH_2)_nR^{101}$ , де  $M$  являє собою  $H$  або катіон (наприклад,  $Na^+$  або  $K^+$ ); кожна із  $R^{101}$ ,  $R^{102}$  і  $R^{103}$ , незалежно, вибрані із  $H$ , лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $(-OCH_2CH_2)_nR^{104}$ , де  $n$  являє собою ціле число від 1 до 24, арилу, який містить від 6 до 10 атомів вуглецю, гетероциклічного кільця, яке містить від 3 до 10 атомів вуглецю, і гетероарилу, який містить від 5 до 10 атомів вуглецю; а  $R^{104}$  являє собою  $H$  або лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, де алкіл, алкеніл, алкініл, арил, гетероарил і гетероциклілу у групах, представлених  $R^{100}$ ,  $R^{101}$ ,  $R^{102}$ ,  $R^{103}$  і  $R^{104}$ , необов'язково заміщені одним або більше (наприклад, 2, 3, 4, 5, 6 або більше) замітників, незалежно вибраних із галогену,  $-OH$ ,  $-CN$ ,  $-NO_2$  і незаміщеного лінійного або розгалуженого алкілу, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю. Переважно замітники необов'язково заміщеного алкілу, алкенілу, алкінілу, циклічного алкілу, циклічного алкенілу, циклічного алкінілу, карбоциклілу, арилу, гетероциклілу і гетероарилу, описаних вище, включають галоген,  $-CN$ ,  $-NR^{102}R^{103}$ ,  $-CF_3$ ,  $-OR^{101}$ , арил, гетероарил, гетероциклілу,  $-SR^{101}$ ,  $-SOR^{101}$ ,  $-SO_2R^{101}$  і  $-SO_3M$ .

[89] Терміни "сполука" або "цитотоксична сполука", "цитотоксичний димер" і "цитотоксична димерна сполука" використовуються рівнозначно. Мається на увазі, що вони включають сполуки, для яких у даному винаході описана структура або формула, або будь-яке похідне, або їх структура, або формула, або будь-яке похідне включені за допомогою посилання. Зазначений термін також включає стереоізомери, геометричні ізомери, таутомери, сольвати, метаболіти, солі (наприклад, фармацевтично прийнятні солі) і проліки і солі проліків сполук усіх формул, описаних у даному винаході. Зазначений термін також включає будь-які сольвати, гідрати і поліморфи будь-чого з вищевказаного. Конкретне перерахування "стереоізомерів", "геометричних ізомерів", "таутомерів", "сольватів", "метаболітів", "солі", "проліків", "солі проліків", "кон'югатів", "солей кон'югатів", "сольвату", "гідрату" або "поліморфа" у деяких аспектах винаходу, описаного в даній заявці, не повинно тлумачитися як передбачувана відсутність зазначених форм в інших аспектах винаходу, де термін "сполука" використовують без перерахування зазначених інших форм.

[90] Термін "кон'югат", як використовується тут, стосується сполуки, описаної тут, або його похідного, приєднаного до агента, який зв'язується із клітинами.

[91] Термін "який зв'язується з агентом, який зв'язується із клітиною", як використовується тут, стосується сполук, описаних тут, або їх похідних, які включають щонайменше одну зв'язуючу групу або її попередник, придатну для зв'язування цих сполук або їх похідних з агентом, який зв'язується із клітинами.

[92] Термін "попередник" даної групи стосується будь-якої групи, яка може привести до одержання зазначеної групи за рахунок деблокування, хімічної модифікації або реакції приєднання.

[93] Термін "приєднаний до агента, який зв'язується із клітинами" стосується молекули кон'югату, яка включає щонайменше одну із сполук, описаних тут (наприклад, сполук формули (I)-(IV) і (VIII)-(XI) і сполук лікарська речовина-лінкер, описаних тут), або її похідне, зв'язане з агентом, який зв'язується із клітинами, за допомогою відповідної зв'язуючої групи або її попередника.

[94] Термін "хіральний" стосується молекул, які володіють властивістю не збігатися при накладенні зі своїм дзеркальним відображенням, у той час як термін "ахіральний" стосується молекул, які при накладенні збігаються зі своїм дзеркальним відображенням.

[95] Термін "стереоізомер" стосується сполук, які характеризуються однаковим хімічним складом і внутрішньомолекулярними зв'язками, але різними типами орієнтації атомів у просторі, які не можуть взаємоперетворюватися шляхом повороту навколо одинарних зв'язків.

[96] "Диастереомери" стосується стереоізомерів із двома або більше центрів хіральності, молекули яких не є дзеркальними відображеннями один одного. Диастереоізомери мають різні фізичні властивості, наприклад, температури плавлення, температури кипіння, спектральні властивості і реакційну здатність. Суміші диастереоізомерів можна розділити за допомогою аналітичних методик з високим ступенем поділу, таких як кристалізація, електрофорез і хроматографія.

[97] "Енантіомери" стосується двох стереоізомерів сполуки, які є дзеркальними відображеннями один одного, які не збігаються при накладенні.

[98] Стереохімічні визначення і умовні позначки, використовувані тут, у цілому відповідають S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; и Eliel, E. and Wilen, S., "Stereochemistry of Organic Compounds," John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994. Сполуки згідно з винаходом можуть містити асиметричні або хіральні центри і, отже, існують у різних стереоізомерних формах. Передбачається, що всі стереоізомерні форми сполук згідно з винаходом, включаючи диастереомери, енантіомери та атропізомери, а також їх суміші, наприклад, рацемічні суміші, не обмежуючись ними, утворюють частину даного винаходу. Багато органічних сполук існують у вигляді оптично активних форм, тобто мають здатність обертати площину плоскополяризованого світла. При описі оптично активних сполук для позначення абсолютної конфігурації молекули відносно її хіального(их) центру(ів) використовують префікси D і L або R і S. Префікси d і l або (+) і (-) використовують для позначення знаку повороту плоскополяризованого світла сполукою, при цьому префікси (-) або l означають, що сполука є лівообертальною. Сполука із префіксом (+) або d є правообертальною. Для даної хімічної структури ці стереоізомери є однаковими, окрім того, що вони являють собою дзеркальні відображення один одного. Конкретний стереоізомер також можна розглядати в якості енантіомера, при цьому суміш таких ізомерів часто називають енантіомерною сумішшю. Суміш енантіомерів 50:50 називають рацемічною сумішшю або рацематом; зазначена суміш може утворюватися у випадку, якщо в хімічній реакції або процесі відсутні стереовибірковість або стереоспецифічність. Терміни "рацемічна суміш" і "рацемат" стосуються екімолярної суміші двох типів енантіомерів, яка не володіє оптичною активністю.

[99] Термін "таутомер" або "таутомерна форма" стосується структурних ізомерів з різною енергією, які взаємоперетворюються при переході низькоенергетичного бар'єру. Наприклад, протонні таутомери (також відомі як прототропні таутомери) включають взаємоперетворення за допомогою міграції протона, наприклад, при кето-енольній та імін-енамінній ізомеризації. Валентні таутомери включають взаємоперетворення шляхом реорганізації деяких електронних зв'язків.

[100] Термін "проліки", як використовується в даній заявці, стосується попередника або похідного сполуки згідно з винаходом, яка здатна ферментативно або гідролітично активуватися або перетворюватися в більш активну вихідну форму. Див., наприклад, Wilman, "Prodrugs in Cancer Chemotherapy" Biochemical Society Transactions, 14, pp. 375-382, 615th Meeting Belfast (1986) і Stella et al., "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery," Directed Drug Delivery, Borchardt et al., (ed.), pp. 247-267, Humana Press (1985). Проліки згідно з даним

винаходом включають складноефірні проліки, фосфат-вмісні проліки, тіофосфат-вмісні проліки, сульфат-вмісні проліки, пептид-вмісні проліки, проліки, модифіковані D-амінокислотами, глікозильовані проліки, β-лактам-вмісні проліки, проліки, які містять необов'язково заміщений феноксиацетамід, проліки, які містять необов'язково заміщений фенолацетамід, 5-фторцитозинові та інші 5-фторуридинові проліки, які можна перетворювати на більш активні цитотоксичні вільні лікарські засоби, але не обмежуються ними. Приклади цитотоксичних лікарських речовин, які можна перетворити на форму проліків для використання в даному винаході, включають сполуки згідно з винаходом і хіміотерапевтичні агенти, наприклад, описані вище, але не обмежуються ними.

[101] Крім того, мають на увазі, що термін "проліки" включає похідне сполуки, здатне піддаватися гідролізу, окисненню або іншим способом вступати в реакцію в біологічних умовах (in vitro або in vivo) з одержанням сполуки згідно з даним винаходом. Проліки можуть бути активними тільки після такої реакції в біологічних умовах або можуть мати активність у непрореагованій формі. Приклади проліків, розглянуті в даному винаході, включають аналоги або похідні сполук будь-якої з формул, описаних тут, які включають біогідролізовні молекули, наприклад, біогідролізовні амідні, біогідролізовні складноефірні, біогідролізовні карбаматні, біогідролізовні карбонатні, біогідролізовні уреїдні, а також біогідролізовні фосфатні аналоги, але не обмежуються ними. Інші приклади проліків включають похідні сполук будь-якої з формул, описаних тут, які включають -NO, -NO<sub>2</sub>, -ONO або -ONO<sub>2</sub> групи. Проліки звичайно можна одержати, використовуючи широко відомі способи, наприклад, способи, описані в Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery (1995) 172-178, 949-982 (Manfred E. Wolff ed., 5th ed); див. також Goodman and Gilman's, The Pharmacological basis of Therapeutics, 8th ed., McGraw-Hill, Int. Ed. 1992, "Biotransformation of Drugs".

[102] Одна краща форма проліків згідно з винаходом включає сполуки (з або без лінкерних груп) і кон'югати згідно з винаходом, які містять аддукт, утворений між імінним зв'язком сполук/кон'югатів і реагентом, здатним взаємодіяти з імінами. Ще одна краща форма проліків згідно з винаходом включає такі сполуки як сполуки формули (I) - (IV), причому, коли подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою одинарний зв'язок, X є H або аміноблокуючою групою, і сполука стає проліками. Проліки згідно з винаходом можуть містити одну або обидві форми проліків, описані тут (наприклад, містити аддукт, утворений між імінним зв'язком сполук/кон'югатів та імін-реакційноздатним реагентом, і/або містити групу, яка відходить, Y, коли X є -H).

[103] Термін "реагент, здатний взаємодіяти з імінами" стосується реагенту, здатного взаємодіяти з іміногрупою. Приклади реагентів, здатних взаємодіяти з імінами, включають сульфіти (H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>2</sub> або сіль HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>3</sub><sup>2-</sup> або HSO<sub>2</sub><sup>-</sup>, утворену катіоном), метабісульфіт (H<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), моно-, ди-, три- і тетраіофосфати (PO<sub>3</sub>SH<sub>3</sub>, PO<sub>2</sub>S<sub>2</sub>H<sub>3</sub>, POS<sub>3</sub>H<sub>3</sub>, PS<sub>4</sub>H<sub>3</sub> або сіль PO<sub>3</sub>S<sup>3-</sup>, PO<sub>2</sub>S<sub>2</sub><sup>3-</sup>, POS<sub>3</sub><sup>3-</sup> або PS<sub>4</sub><sup>3-</sup>, утворену катіоном), складні ефіри тіофосфату ((R'<sup>i</sup>O)<sub>2</sub>PS(OR<sup>i</sup>), R'<sup>i</sup>SH, R'<sup>i</sup>SOH, R'<sup>i</sup>SO<sub>2</sub>H, R'<sup>i</sup>SO<sub>3</sub>H), різні аміни (гідроксиламін (наприклад, NH<sub>2</sub>OH), гідразин (наприклад, NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), NH<sub>2</sub>O-R<sup>i</sup>, R'<sup>i</sup>NH-R<sup>i</sup>, NH<sub>2</sub>-R<sup>i</sup>), NH<sub>2</sub>-CO-NH<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>-C(=S)-NH<sub>2</sub>, тіосульфат (H<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), дитіоніт (H<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), фосфордитіоат (P(=S)(OR<sup>k</sup>)(SH)(OH) або його сіль, утворену катіоном), гідроксамову кислоту (R<sup>k</sup>C(=O)NHOH або сіль, утворену катіоном), гідразид (R<sup>k</sup>CONHNH<sub>2</sub>), формальдегідсульфоксилат (HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>H або сіль HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup>, утворену катіоном, наприклад, HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup>Na<sup>+</sup>), глікозаборований нуклеотид (наприклад, GDP-манозу), флударабін або їх суміш, де R<sup>i</sup> і R<sup>h</sup>, незалежно, являють собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, і заміщені щонайменше одним замінником, вибраним із -N(R<sup>i</sup>)<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>H, -SO<sub>3</sub>H і PO<sub>3</sub>H; R<sup>i</sup> і R<sup>h</sup>, необов'язково, можуть бути додатково заміщені замінником для алкілу, описаним тут; R<sup>i</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю; а R<sup>k</sup> являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, арил, гетероцикліл або гетероарил (переважно R<sup>k</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю; більш переважно R<sup>k</sup> являє собою метил, етил або пропіл), але не обмежуються ними. Переважно катіон являє собою одновалентний катіон, наприклад, Na<sup>+</sup> або K<sup>+</sup>. Переважно реагент, здатний взаємодіяти з імінами, вибирають із сульфітів, гідроксиламіну, сечовини і гідразину. Більш переважно реагент, здатний взаємодіяти з імінами, являє собою NaHSO<sub>3</sub> або KHSO<sub>3</sub>.

[104] Як використовується тут, якщо не зазначено інше, терміни "біогідролізовний амідний", "біогідролізовний складноефірний", "біогідролізовний карбаматний", "біогідролізовний карбонатний", "біогідролізовний уреїдний" і "біогідролізовний фосфатний аналог" означають амідний, складноефірний, карбаматний, карбонатний, уреїдний або фосфатний аналог, відповідно, який або: 1) не порушує біологічної активності сполуки і надає зазначеній сполуці

вигідні властивості *in vivo*, наприклад, поглинання, тривалість дії або початок дії, або 2) сам по собі є біологічно неактивним, але перетвориться *in vivo* на біологічно активну сполуку. Приклади біогідролізовних амідів включають амідни нижчих алкілів, амідни  $\alpha$ -амінокислот, алкоксиациламіди та алкіламіноалкілкарбоніламіди, але не обмежуються ними. Приклади біогідролізовних складних ефірів включають складні ефіри нижчих алкілів, алкоксиацилоксиефіри, алкілациламіноалкілові складні ефіри та складні ефіри холіну, але не обмежуються ними. Приклади біогідролізовних карбаматів включають нижчі алкіламіни, заміщені етилендіаміни, амінокислоти, гідроксиалкіламіни, гетероциклічні та гетероароматичні аміни і поліефірні аміни, але не обмежуються ними. Особливо кращими проліками і солями проліків є проліки, які підвищують біодоступність сполук згідно з винаходом при введенні таких сполук в організм ссавця.

[105] Фраза "фармацевтично прийнятна сіль", як використовується тут, стосується фармацевтично прийнятних органічних або неорганічних солей сполуки згідно з даним винаходом. Типові солі включають сульфат, цитрат, ацетат, оксалат, хлорид, бромід, йодид, нітрат, бісульфат, фосфат, кислий фосфат, ізонікотинат, лактат, саліцилат, кислий цитрат, тартрат, олеат, таннат, пантотенат, бітартрат, аскорбат, сукцинат, малеат, гентизинат, фумарат, глюконат, глюкуронат, сахарат, форміат, бензоат, глутамат, метансульфонат "мезилат", етансульфонат, бензолсульфонат, *p*-толуолсульфонат, памоат (тобто 1,1'-метиле-біс-(2-гідрокси-3-нафтоат)), солі лужних металів (наприклад, натрію і калію), солі лужноземельних металів (наприклад, магнію) і солі амонію, але не обмежуються ними. Фармацевтично прийнятні солі можуть містити впровадження іншої молекули, наприклад, ацетат-іону, сукцинат-іону або іншого протиіону. Протиіон може бути будь-якою органічною або неорганічною групою, яка стабілізує заряд вихідної сполуки. Крім того, фармацевтично прийнятна сіль може містити більше одного зарядженого атома у своїй структурі. У випадку, коли кілька заряджених атомів є частиною фармацевтично прийнятної солі, вона може містити декілька протиіонів. Таким чином, фармацевтично прийнятна сіль може містити один або більше заряджених атомів і/або один або більше протиіонів.

[106] Якщо сполука згідно з винаходом є основою, бажану фармацевтично прийнятну сіль можна одержати будь-яким підходящим способом, доступним у даній галузі техніки, наприклад, обробкою вільної основи неорганічною кислотою, наприклад, соляною кислотою, бромистоводневою кислотою, сірчаною кислотою, азотною кислотою, метансульфоною кислотою, фосфорною кислотою і т.п., або органічною кислотою, наприклад, оцтовою кислотою, малеїною кислотою, бурштиною кислотою, мигдальною кислотою, фумаровою кислотою, маліновою кислотою, піровиноградною кислотою, щавлевою кислотою, гліколевою кислотою, саліциловою кислотою, піранозидною кислотою, наприклад, глюкуроною кислотою або галактуриновою кислотою, альфа-гідрокси кислотою, наприклад, лимонною кислотою або винною кислотою, амінокислотою, наприклад, аспарагіною кислотою або глутаміною кислотою, ароматичною кислотою, наприклад, бензойною кислотою або коричною кислотою, сульфоною кислотою, наприклад, *p*-толуолсульфоною кислотою або етансульфоною кислотою або т.п.

[107] Якщо сполука згідно з винаходом є кислотою, бажану фармацевтично прийнятну сіль можна одержати будь-яким підходящим способом, наприклад, обробкою вільної кислоти неорганічною або органічною основою, наприклад, аміном (первинним, вторинним або третинним), гідроксидом лужного металу або гідроксидом лужноземельного металу або т.п. Ілюстративні приклади підходящих солей включають органічні солі, які є похідними амінокислот, наприклад, гліцину та аргініну, аміаку, первинних, вторинних і третинних амінів і циклічних амінів, наприклад, піперидину, морфоліну і піперазину, та неорганічні солі, які є похідними натрію, кальцію, калію, магнію, марганцю, заліза, міді, цинку, алюмінію і літію, але не обмежуються ними.

[108] Як використовується тут, термін "сольват" означає сполуку, яка додатково включає в стехіометричних або нестехіометричних кількостях розчинник, наприклад, воду, ізопропанол, ацетон, етанол, метанол, ДМСО, етилацетат, оцтову кислоту і етаноламін, дихлорметан, 2-пропанол або т.п., зв'язаний за рахунок нековалентних міжмолекулярних сил. Сольвати або гідрати сполук легко одержати шляхом додавання щонайменше одного молярного еквівалента гідроксильного розчинника, наприклад, метанолу, етанолу, 1-пропанолу, 2-пропанолу або води до сполуки, що приведе до сольватування або гідратування іміногрупи.

[109] У даній заявці терміни "аномальний ріст клітин" і "проліферативний розлад" використовуються взаємозамінно. "Аномальний ріст клітин", як використовується тут, якщо не зазначено інше, стосується росту клітин, який не залежить від нормальних регуляторних механізмів (наприклад, втрати контактного інгібування). Зазначений термін включає, наприклад,

аномальний ріст: (1) пухлинних клітин (пухлин), які проліферують за рахунок експресії мутантної тирозинкінази або надекспресії рецепторної тирозинкінази, (2) доброякісних і злоякісних клітин при інших проліферативних захворюваннях, при яких відбувається аберантна активація тирозинкінази, (3) будь-яких пухлин, які проліферують за рахунок рецепторних тирозинкіназ, (4) 5 будь-яких пухлин, які проліферують за рахунок активації аберантної серин/треонінкінази, і (5) доброякісних і злоякісних клітин при інших проліферативних захворюваннях, при яких відбувається аберантна активація серин/треонінкінази.

[110] Терміни "рак" і "раковий" стосуються або описують фізіологічний стан у ссавців, який звичайно характеризується нерегульованим ростом клітин. "Пухлина" включає одну або більше 10 ракових клітин і/або доброякісних, або передракових клітин. Приклади раку включають, але не обмежуються цим, карциному, лімфому, бластоми, саркому і лейкоз або лімфонеоплазію. Конкретні приклади таких видів раку включають плоскоклітинний рак (наприклад, епітеліальний плоскоклітинний рак), рак легенів, включаючи дрібноклітинний рак легенів, недрібноклітинний рак легенів ("НМРЛ"), аденокарциному легенів і плоскоклітинну карциному легенів, рак черевної 15 порожнини, печінковоклітинний рак, рак шлунку, включаючи рак шлунково-кишкового тракту, рак підшлункової залози, гліобластоми, рак шийки матки, рак яєчників, рак печінки, рак сечового міхура, гепатому, рак молочної залози, рак товстої кишки, рак прямої кишки, рак ободової і прямої кишки, рак ендометрію або матки, карциному слинних залоз, рак нирок, рак передміхурової залози, рак вульви, рак щитовидної залози, карциному печінки, карциному 20 анального каналу, рак статевого члена, гострий лейкоз, рак голови/головного мозку і шиї, злоякісні захворювання лімфатичних органів і гематологічні злоякісні новоутвори, включаючи лейкоз (гострий лімфобластний лейкоз (ГЛЛ), гострий мієлобластний лейкоз (ГМЛ), хронічний лімфоцитарний лейкоз (ХЛЛ), хронічний мієлолейкоз (ХМЛ), гострий моноцитарний лейкоз (AMOL), волосатоклітинний лейкоз (ВКЛ), Т-клітинний пролімфоцитарний лейкоз (Т-ПЛЛ), 25 крупноклітинний гранулолімфоцитарний лейкоз, Т-клітинний лейкоз дорослих), лімфому (дрібноклітинну лімфоцитарну лімфому (SLL), ходжкінську лімфому (з нодулярним склерозом, змішаноклітинну, багату лімфоцитами, збіднену або незбіднену лімфоцитами і нодулярну ходжкінську лімфому з перевагою лімфоцитів), неходжкінські лімфоми (усіх підтипів), хронічний лімфоцитарний лейкоз/дрібноклітинну лімфоцитарну лімфому, В-клітинний пролімфоцитарний 30 лейкоз, лімфоплазмоцитарну лімфому (наприклад, макроглобулінемію Вальденстрема), лімфому із клітин крайової зони селезінки, плазмоцитарні новоутвори (плазмаклітинну мієлому, плазмацитому, хвороби відкладання моноклональних імуноглобулінів, хвороби важких ланцюгів), екстранодальну В-клітинну лімфому із клітин крайової зони (MALTлімфому), В-клітинну лімфому із клітин крайової зони лімфовузлів (NMZL), фолікулярну лімфому, лімфому із 35 клітин мантийної зони, дифузійну крупноклітинну В-клітинну лімфому, крупноклітинну В-клітинну лімфому середостіння (тимусу), внутрішньосудинну крупноклітинну В-клітинну лімфому, первинну випітну лімфому, лімфому/лейкоз Беркіта, Т-клітинний пролімфоцитарний лейкоз, Т-клітинний крупноклітинний гранулолімфоцитарний лейкоз, агресивний NK-клітинний лейкоз, Т-клітинний лейкоз/лімфому дорослих, екстранодальну NK/Т-клітинну лімфому (назального типу), 40 Т-клітинну лімфому ентеропатичного типу, печінково-селезінкову Т-клітинну лімфому, бластну NK-клітинну лімфому, фунгоїдну гранулеми/синдром Сезарі, первинні шкірні CD 30-позитивні Т-клітинні лімфопроліферативні розлади, первинну шкірну анапластичну крупноклітинну лімфому, лімфоматоїдний папулез, ангиоиммуобластну Т-Клітинну лімфому, периферичну Т-Клітинну лімфому (невизначену), анапластичну крупноклітинну лімфому), множинну мієлому 45 (плазмаклітинну мієлому або хворобу Калера).

[111] Термін "терапевтичний агент" охоплює біологічний агент, наприклад, антитіло, пептид, білок, фермент або хіміотерапевтичний агент.

[112] "Хіміотерапевтичний агент" є хімічною сполукою, придатною для лікування раку. Приклади хіміотерапевтичних агентів включають ерлотиніб (TARCEVA®, Genentech/OSI 50 Pharm.), бортезоміб (VELCADE®, Millennium Pharm.), фулвестрант (FASLODEX®, AstraZeneca), сутент (SU11248, Pfizer), летрозол (FEMARA®, Novartis), іматинібу мезилат (GLEEVEC®, Novartis), PTK787/ZK 222584 (Novartis), оксалиплатин (Eloxatin®, Sanofi), 5-ФУ (5-фторурацил), лейковорин, рапаміцин (сиролімус, RAPAMUNE®, Wyeth), лапатиніб (TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline), лонафарніб (SCH 66336), сорафеніб (BAY43-9006, Bayer Labs) і гефітініб (IRESSA®, AstraZeneca), AG1478, AG1571 (SU 5271; Sugen), алкаборуючі агенти, наприклад, тіотепа і CYTOXAN® циклофосфамід; алкілсульфонати, наприклад, бусульфан, імпросульфан і піпосульфан; азириди, такі як бензодоба, карбоквон, метуредоба і уредоба; етиленіміни та метиламеламіни, включаючи альтретамін, триетиленмеламін, триетиленфосфорамід, триетилентіофосфорамід і триметилмеламін; ацетогеніни (зокрема, буллатацин і буллатацинон); 60 камптотецин (включаючи синтетичний аналог топотекан); бріостатин; калістатин; CC-1065 (у



тому числі його синтетичні аналоги адозелезин, карзелезин і бізелезин); криптофіцини (зокрема, криптофіцин 1 і криптофіцин 8); доластатин; дуокарміцин (у тому числі синтетичні аналоги KW-2189 і CB1-TM1), елеутеробін; панкреатистатин; саркодиктін; спонгістатин; азотисті іприти, наприклад, хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорфосфамід, естрамустин, іфосфамід, мехлоретамін, мехлоретаміну оксид-гідрохлорид, мелфалан, новембіхін, фенестерин, преднімустин, трофосфамід, урациловий іприт; похідні нітрозосечовини, наприклад, кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, німустин і ранімнустин; антибіотики, наприклад, енедїїнові антибіотики (наприклад, каліхеаміцин, зокрема, каліхеаміцин гаммалл і каліхеаміцин омегалл (Angew Chem. Intl. Ed. Engl. (1994) 33:183-186); динеміцин, включаючи динеміцин А; бісфосфонати, наприклад, клодронат; еспераміцин; а також неокарцинонстатинний хромофор і споріднені хромопротейнові енедїїнові антибіотики-хромофори), аклациномізини, актиноміцин, аутраміцин, азасерин, блеоміцини, кактиноміцин, карабіцин, каміноміцин, карзинофабон, хромоміцини, дактиноміцин, даунорубіцин, деторубіцин, 6-діазо-5-оксо-L-норлейцин, ADRIAMYCIN® (доксорубіцин), морфоліндоксорубіцин, ціанморфоліндоксорубіцин, 2-піроліндоксорубіцин і дезоксидоксорубіцин), епірубіцин, езорубіцин, ідарубіцин, марцеломіцин, мітоміцини, наприклад, мітоміцин С, мікофенолову кислоту, ногаламіцин, оливоміцини, пепломіцин, порфіроміцин, пуроміцин, квеламіцин, родорубіцин, стрептонігрин, стрептозоцин, туберцидин, убенімекс, зиностатин, зорубіцин; антиметаболіти, наприклад, метотрексат і 5-фторурацил (5-ФУ); аналоги фолієвої кислоти, наприклад, деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; аналоги пурину, наприклад, флударабін, 6-меркаптопурин, тіамніприн, тіогуанін; аналоги піримідину, наприклад, анцітабін, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабін, дидезоксиуридин, доксифлуридин, еноцітабін, флоксуридин; андрогени, наприклад, калустерон, дромостанолону пропіонат, епітіостанол, мепітіостан, тестолактон; антиадриналові засоби, наприклад, аміноглютетимід, мітотан, трилостан; наповнювач фолієвої кислоти, наприклад, фролінову кислоту; ацеглатон; альдофосфаміду глікозид; амінолевулінову кислоту; енілурацил; амсакрин; бестрабуцил; бісантрен; едатраксат; дефофамін; демеколцин; діазиквон; елформітин; еліптинію ацетат; епотилон; етоглюцид; нітрат галію; гідроксисечовину; лентинан; лонідаїнін; майтансіноїди, наприклад, майтансин і ансамітоцини; мітогуазон; мітоксантрон; мопіданмол; нітраерин; пентостатин; фенамет; пірарубіцин; лозоксантрон; подофілінову кислоту; 2-етилгідразид; прокарбазин; полісахаридний комплекс PSK® (JHS Natural Products, Юджин, штат Орегон, США); разоксан; ризоксин; сизофуран; спірогерманій; тенуазонієву кислоту; триазиквон; 2,2',2''-трихлортриетиламін; трихотецени (зокрема, токсин Т-2, веракурин А, роридин А і ангуїдин); уретан; віндезин; дакарбазин; маномустин, мітобронітол, мітолактол, піпоброман; гацитозин; арабінозид ("Ara-C"); циклофосфамід, тіотепа; таксоїди, наприклад, TAXOL® (паклітаксел; Bristol-Myers Squibb Oncology, Принстон, штат Нью-Джерсі, США), ABRAXANE® (без кремофору), сполуки паклітакселу на основі наночасток, сконструйованих з використанням альбуміну (American Pharmaceutical Partners, Шаумберг, штат Іллінойс, США) і TAXOTERE® (доксетаксел; Rhone-Poulenc Rorer, Антоні, Франція); хлорамбуцил; GEMZAR® (гемцитабін), 6-тіогуанін; меркаптопурин, метотрексат; аналоги платини, наприклад, цисплатин і карбоплатин; вінбластин; етопозид (VP-16); іфосфамід; мітоксантрон; вінкрисдин; NAVELBINE® (вінорелбін); новантрон; теніпозид; едатрексат; дауноміцин, аміноптерин; капецитабін (XELODA®); ібандронат; CPT-11; інгібітор топоізомерази RFS 2000; дифторметилорнітин (DMFO); ретиноїди, наприклад, ретиноеву кислоту, і фармацевтично прийнятні солі, кислоти і похідні будь-якого з перерахованих вище.

[113] Крім того, визначення "хіміотерапевтичного агента" включає: (i) антигормональні препарати, які діють, регулюючи або інгібуючи дію гормонів на пухлині, наприклад, антиестрогени та селективні модулятори рецепторів естрогенів (CMPE), включаючи, наприклад, тамоксифен (включаючи NOLVADEX®; тамоксифену цитрат), ралоксифен, дролоксифен, 4-гідрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон і FARESTON® (тореміфіну цитрат); (ii) інгібітори ароматази, які інгібують фермент ароматазу, який регулює продукцію естрогенів у надниркових залозах, наприклад, 4(5)-імідазоли, аміноглютетимід, MEGASE® (мегестролу ацетат), AROMASIN® (екземестан; Pfizer), форместан, фадрозол, RIVISOR® (ворозол), FEMARA® (летрозол; Novartis) і ARIMIDEX® (анастрозол; Astrazeneca), (iii) антиандрогени, наприклад, флутамід, нілутамід, бікалутамід, лейпролід і гозерелін, а також троксацитабін (аналог цитозину 1,3-диоксоланнуклеозид); (iv) інгібітори протеїнкіназ; (v) інгібітори ліпідкіназ; (vi) антисмислові олігонуклеотиди, зокрема, олігонуклеотиди, які інгібують експресію генів сигнальних шляхів, які беруть участь в абераційній проліферації клітин, наприклад, PKC-альфа, Ralf і H-Ras; (vii) рибозими, наприклад, інгібітори експресії ФРЕС (наприклад, ANGIOZYME®) та інгібітори експресії HER2; (viii) вакцини, наприклад, вакцини для генної терапії, наприклад, ALLOVECTIN®, LEUVECTIN® і VAXID®; PROLEUKIN® rIL-2; інгібітор

топоізомерази 1, наприклад, LURTOTECAN®; ABARELIX® rmRH; (ix) антиангіогенні агенти, наприклад, бевацизумаб (AVASTIN®, Genentech); і (x) фармацевтично прийнятні солі, кислоти і похідні будь-якого з перерахованих вище. Інші антиангіогенні агенти включають інгібітори MMP-2 (металопротеїнази 2 матриксу), інгібітори MMP-9 (металопротеїнази 9 матриксу), інгібітори COX-II (циклооксигенази II) і інгібітори ФРЕС-рецепторної тирозинкінази. Приклади таких інгібіторів металопротеїназ матриксу, які можна використовувати в комбінації із сполуками/композиціями згідно з даним винаходом, описані у WO 96/33172, WO 96/27583, EP 818442, EP 1004578, WO 98/07697, WO 98/03516, WO 98/34918, WO 98/34915, WO 98/33768, WO 98/30566, EP 606,046, EP 931,788, WO 90/05719, WO 99/52910, WO 99/52889, WO 99/29667, WO 99/07675, EP 945864, патенті США №5863949, патенті США №5861510 і EP 780386, кожен із яких повністю включений у даний документ за допомогою посилання. Приклади інгібіторів ФРЕС-рецепторної тирозинкінази включають 4-(4-бром-2-фторанабон)-6-метокси-7-(1-метилпіперидин-4-ілметокси)хіназолін (ZD6474; Приклад 2 у WO 01/32651), 4-(4-фтор-2-метабондол-5-ілокси)-6-метокси-7-(3-піролідин-1-ілпропокси)-хіназолін (AZD2171; Приклад 240 в WO 00/47212), ваталаніб (PTK787, WO 98/35985) і SU11248 (сунітиніб, WO 01/60814), і такі сполуки, як сполуки, описані в публікаціях PCT під номерами WO 97/22596, WO 97/30035, WO 97/32856 і WO 98/13354).

[114] Інші приклади хіміотерапевтичних агентів, які можна використовувати в комбінації зі сполуками згідно з даним винаходом, включають інгібітори PI3K (фосфоінозитид-3-кінази), наприклад, описані в Yaguchi et al (2006) Jour. of the Nat. Cancer Inst. 98(8):545-556; патенті США №7173029; патенті США №7037915; патенті США №6608056; патенті США №6608053; патенті США №6838457; патенті США №6770641; патенті США №6653320; патенті США №6403588, WO 2006/046031; WO 2006/046035; WO 2006/046040; WO 2007/042806; WO 2007/042810; WO 2004/017950; US 2004/092561; WO 2004/007491; WO 2004/006916; WO 2003/037886; US 2003/149074; WO 2003/035618; WO 2003/034997; US 2003/158212; EP 1417976; US 2004/053946; JP 2001247477; JP 08175990; JP 08176070; патенті США №6703414; і WO 97/15658, повністю включених в даний документ за допомогою посилання. Конкретні приклади таких інгібіторів PI3K включають SF-1126 (інгібітор PI3K, Semafore Pharmaceuticals), BEZ-235 (інгібітор PI3K, Novartis), XL-147 (інгібітор PI3K, Exelixis, Inc.).

[115] Хіміотерапевтичні засоби також можуть включати будь-який із відтворених лікарських засобів або біоаналогів фірмових лікарських засобів, згаданих у даному документі, або їх удосконалених варіантів, у тому числі поліпшених сполук, проліків, засобів доставки (уповільненого вивільнення, біоадгезивне покриття, адресної доставки і т.д.) і дозованих лікарських форм.

[116] "Метаболіт" є продуктом, отриманим за рахунок метаболізму зазначеної сполуки, її похідного або її кон'югату, або її солі в організмі. Метаболіти сполуки, її похідного або її кон'югату можна ідентифікувати за допомогою звичайних методик, відомих у даній галузі техніки, і визначити їх активність за допомогою тестів, наприклад, описаних тут. Такі продукти можуть утворюватися, наприклад, у результаті окиснення, гідроксилювання, відновлення, гідролізу, амідування, дезамідування, етерифікації, деетерифікації, ферментативного розщеплення і т.п. введеної сполуки. Відповідно, даний винахід включає метаболіти сполук, їх похідних або їх кон'югату згідно з винаходом, включаючи сполуки, їх похідні або їх кон'югати, отримані способом, який включає здійснення контакту сполуки, її похідного або її кон'югату згідно з даним винаходом, із ссавцем протягом часу, достатнього для одержання її метаболічного продукту.

[117] Фраза "фармацевтично прийнятний" означає, що речовина або композиція повинні бути сумісні хімічно і/або токсикологічно з іншими інгредієнтами, які містяться у сполуці, і/або ссавцям, які піддаються лікуванню з використанням речовини або композиції.

[118] Термін "захисна група" або "блокувальна група" стосується замітника, звичайно використовуваного для блокування або захисту певної функціональної групи при взаємодії інших функціональних груп зі сполукою, її похідним або її кон'югатом. Наприклад, "амінозахисна група" або "аміноблокуюча група" є замітником, приєднаним до аміногрупи, який блокує або захищає функціональну аміногрупу у сполуці. Такі групи добре відомі в даній галузі техніки (див., наприклад, P. Wuts and T. Greene, 2007, Protective Groups in Organic Synthesis, Chapter 7, J. Wiley & Sons, NJ) і представлені карбаматами, наприклад, метил- і етилкарбаматом, ФМОС, заміщеними етилкарбаматами, карбаматами, які розщеплюються за допомогою 1,6-β-елімінування (також називані "які жертвують собою"), похідними сечовини, амідами, пептидами, алкільними та арильними похідними. Підходящі аміноблокуючі групи включають ацетил, трифторацетил, трет-бутоксикарбоніл (BOC), бензилоксикарбоніл (CBZ) і 9-флуоренілметиленоксикарбоніл (Fmoc). Загальний опис захисних груп і їх використання див. в

P. G.M. Wuts & T. W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, New York, 2007.

[119] Термін "група, яка відходить" стосується зарядженої або незарядженої групи, яка від'єднується під час заміни або заміщення. Такі групи, які відходять, добре відомі в даній галузі техніки і включають галогени, складні ефіри, алкокси, гідроксил, тозилати, трифлати, мезилати, нітрили, азид, карбамат, дисульфід, складні тіоефіри, прості тіоефіри і сполуки діазонію, але не обмежуються ними.

[120] Терміни "біфункціональний зшиваючий агент", "біфункціональний лінкер" або "зшиваючий агент" стосуються агентів, які модифікують, володіють двома реакційноздатними групами, одна з яких здатна взаємодіяти з агентом, який зв'язується із клітинами, а інша реагує із цитотоксичною сполукою, щоб приєднати зазначені дві молекули одна до одної. Такі біфункціональні зшиваючі агенти добре відомі в даній галузі техніки (див., наприклад, Isalm and Dent in Bioconjugation chapter 5, p218-363, Groves Dictionaries Inc. New York, 1999). Наприклад, біфункціональні зшиваючі агенти, які забезпечують приєднання за допомогою тіоефірного зв'язку, включають N-сукцинімідил-4-(N-малеїмідметил)-циклогексан-1-карбоксилат (SMCC) для впровадження малеїмідогруп, або N-сукцинімідил-4-(йодацетил)-амінобензоат (SIAB) для впровадження йодацетильних груп. Інші біфункціональні зшиваючі агенти, які впроваджують малеїмідні групи або галоацетильні групи в агент, який зв'язується із клітинами, добре відомі в даній галузі техніки (див. заявки на патент США 2008/0050310, 20050169933, доступні в Pierce Biotechnology Inc., п/с 117, Рокленд, штат Іллінойс 61105, США) і включають біс-малеїмідполіетиленгліколь (BMPEO),  $BM(PEO)_2$ ,  $BM(PEO)_3$ , N-( $\beta$ -малеїмідпропілокси)сукцинімідний ефір (BMPS), N-сукцинімідильний ефір  $\gamma$ -малеїмідмасляної кислоти (GMBS), N-гідроксисукцинімідний ефір  $\epsilon$ -малеїмідкапронової кислоти (EMCS), NHS 5-малеїмідвалеріанової кислоти, HBVS, N-сукцинімідил-4-(N-малеїмідметил)-циклогексан-1-карбокси-(6-амідокапроат), який є "довголанцюговим" аналогом SMCC (LC-SMCC), м-малеїмідбензоїл-N-гідроксисукцинімідний ефір (MBS), гідразид або сіль HCl і 4-(4-N-малеїмідфеніл)-масляної кислоти (MPBH), N-сукцинімідил-3-(бромацетамід)пропіонат (SBAP), N-сукцинімідилйодацетат (SIA), N-сукцинімідильний ефір  $\kappa$ -малеїмідундеканової кислоти (KMUA), N-сукцинімідил-4-( $p$ -малеїмідфеніл)-бутират (SMPB), сукцинімідил-6-( $\beta$ -малеїмідпропіонамід)гексаноат (SMPH), сукцинімідил-(4-вінілсульфоніл)бензоат (SVSB), дитіобіс-малеїмідетан (DTME), 1,4-біс-малеїмідбутан (BMB), 1,4-біс-малеїмідил-2,3-дигідроксибутан (BMDB), біс-малеїмідгексан (BMH), біс-малеїмідетан (BMOE), сульфосукцинімідил-4-(N-малеїмідметил)циклогексан-1-карбоксилат (сульфо-SMCC), сульфосукцинімідил(4-йодацетил)амінобензоат (сульфо-SIAB), м-малеїмідбензоїл-N-гідроксисульфосукцинімідний ефір (сульфо-MBS), N-( $\gamma$ -малеїмідбутирилокси)сульфосукцинімідний ефір (сульфо-GMBS), N-( $\epsilon$ -малеїмідкапроїлокси)сульфосукцинімідний ефір (сульфо-EMCS), N-( $\kappa$ -малеїмідундеканоїлокси)сульфосукцинімідний ефір (сульфо-KMUS) і сульфосукцинімідил-4-( $p$ -малеїмідфеніл)бутират (сульфо-SMPB), але не обмежуються ними.

[121] Гетеробіфункціональні зшиваючі агенти є біфункціональними зшиваючими агентами, які містять дві різні реакційноздатні групи. Гетеробіфункціональні зшиваючі агенти, які містять N-гідроксисукцинімідну групу (NHSгрупу), яка реагує з аміногрупами, та гідразинову групу, яка реагує з карбонільними групами, також можна використовувати для з'єднання цитотоксичних сполук, описаних тут, з агентом, який зв'язується із клітинами (наприклад, антитіла). Приклади таких комерційно доступних гетеробіфункціональних зшиваючих агентів включають гідразон сукцинімідил-6-гідразиннікотинамід ацетону (SANH), гідрохлорид сукцинімідил-4-гідразидтерефталату (SHTH) і гідрохлорид сукцинімідилгідразиннікотинамідату (SHNH). Кон'югати, які несуть кислотнolабільний зв'язок, також можна одержати з використанням гідразин-несучого похідного бензодіазепіну згідно із даним винаходом. Приклади біфункціональних зшиваючих агентів, які можна використовувати, включають сукцинімідил- $p$ -формілбензоат (SFB) і сукцинімідил- $p$ -формілфеноксиацетат (SFPA).

[122] Біфункціональні зшиваючі агенти забезпечують приєднання агента, який зв'язується із клітинами, із цитотоксичними сполуками за допомогою дисульфідних зв'язків, відомі в даній галузі техніки і включають N-сукцинімідил-3-(2-піридилдитіо)пропіонат (SPDP), N-сукцинімідил-4-(2-піридилдитіо)пентаноат (SPP), N-сукцинімідил-4-(2-піридилдитіо)бутаноат (SPDB), N-сукцинімідил-4-(2-піридилдитіо)2-сульфобутаноат (сульфо-SPDB) для впровадження дитіопіридилільних груп. Інші біфункціональні зшиваючі агенти, які можна використовувати для впровадження дисульфідних груп, відомі в даній галузі техніки і описані в патентах США 6913748, 6716821 і публікаціях патентів США 20090274713 і 20100129314, усі з яких включені в даний опис за допомогою посилання. В альтернативному випадку також можна

використовувати зшиваючі агенти, наприклад, 2-імінотіолан, гомоцистеїнтіолактон або S-ацетилянтарний ангідрид, які впроваджують тіолові групи.

[123] "Лінкер", "лінкерна група" або "зв'язуюча група", як визначено тут, стосується групи, яка з'єднує дві групи, наприклад, агент, який зв'язує клітини, і цитотоксичну сполуку, один з одним. Як правило, лінкер є практично інертним в умовах, коли дві групи, які з'єднуються ним, зв'язані між собою. Біфункціональний зшиваючий агент може включати дві реакційноздатні групи, по одній на кожному з кінців лінкерної групи, такої, що одна реакційноздатна група може спочатку взаємодіяти із цитотоксичною сполукою, забезпечуючи сполуку, яка несе лінкер і другу реакційноздатну групу, яка потім може взаємодіяти з агентом, який зв'язується із клітинами. В альтернативному випадку один кінець біфункціонального зшиваючого агента може спочатку взаємодіяти з агентом, який зв'язується із клітинами, який несе лінкерну групу і другу реакційноздатну групу, яка потім може взаємодіяти із цитотоксичною сполукою. Зв'язуюча група може містити хімічний зв'язок, який забезпечує вивільнення цитотоксичної групи, у конкретному положенні. Підходящі хімічні зв'язки добре відомі в даній галузі техніки і включають дисульфідні зв'язки, тіоефірні зв'язки, кислотолабільні зв'язки, фотолабільні зв'язки, пептидолабільні зв'язки та естеразолабільні зв'язки (див., наприклад, патенти США 5208020; 5475092; 6441163; 6716821; 6913748; 7276497; 7276499; 7368565; 7388026 і 7414073). Кращими є дисульфідні зв'язки, тіоефірні і пептидолабільні зв'язки. Інші лінкери, які можна використовувати у даному винаході, включають нерозщеплювані лінкери, наприклад, детально описані в публікації патенту США номер 20050169933, або заряджені лінкери, або гідрофільні лінкери, і описані в US 2009/0274713, US 2010/01293140 і WO 2009/134976, кожен з яких спеціально включений в даний документ шляхом посилання.

[124] В одному варіанті втілення зв'язуюча група з реакційноздатною групою, приєднаною до одного кінця, такою як реакційноздатний складний ефір, вибрана з наступних:

-O(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -O(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(CR<sub>26</sub>=CR<sub>27</sub>)<sub>m'</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -O(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(алкініл)<sub>n</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -O(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(піперазин)<sub>t</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -O(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(пірол)<sub>t</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -O(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>A''<sub>m''</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -S(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -S(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(CR<sub>26</sub>=CR<sub>27</sub>)<sub>m'</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -S(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(алкініл)<sub>n</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -S(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(піперазин)<sub>t</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -S(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(пірол)<sub>t</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -S(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>A''<sub>m''</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -NR<sub>33</sub>(C=O)<sub>p</sub>(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -NR<sub>33</sub>(C=O)<sub>p</sub>(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(CR<sub>26</sub>=CR<sub>27</sub>)<sub>m'</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''  
 (CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>  
 (CO)<sub>t</sub>X'',  
 -NR<sub>33</sub>(C=O)<sub>p</sub>(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(алкініл)<sub>n</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -NR<sub>33</sub>(C=O)<sub>p</sub>(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(піперазин)<sub>t</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>  
 (CO)<sub>t</sub>X'',  
 -NR<sub>33</sub>(C=O)<sub>p</sub>(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(пірол)<sub>t</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -NR<sub>33</sub>(C=O)<sub>p</sub>(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>A''<sub>m''</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>  
 (CO)<sub>t</sub>X'',  
 -(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(CR<sub>26</sub>=CR<sub>27</sub>)<sub>m'</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(алкініл)<sub>n</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(піперазин)<sub>t</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>A''<sub>m''</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(CR<sub>29</sub>=N-NR<sub>30</sub>)<sub>n'</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(CR<sub>29</sub>=N-NR<sub>30</sub>)<sub>n'</sub>(CR<sub>26</sub>=CR<sub>27</sub>)<sub>m'</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''  
 (CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(CR<sub>29</sub>=N-NR<sub>30</sub>)<sub>n'</sub>(алкініл)<sub>n</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''  
 (CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>(CO)<sub>t</sub>X'',  
 -(CR<sub>20</sub>R<sub>21</sub>)<sub>m</sub>(CR<sub>29</sub>=N-NR<sub>30</sub>)<sub>n'</sub>A''<sub>m''</sub>(CR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>)<sub>n</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>(CR<sub>40</sub>R<sub>41</sub>)<sub>p</sub>Y''(CR<sub>24</sub>R<sub>25</sub>)<sub>q</sub>  
 (CO)<sub>t</sub>X'',

де:

m, n, p, q, m', n', t 'являють собою цілі числа від 1 до 10, або необов'язково дорівнюють 0;

$t, m, n$  і  $p$  дорівнюють 0 або 1;

$X$  вибрана із  $OR_{36}$ ,  $SR_{37}$ ,  $NR_{38}$ ,  $R_{39}$ , де  $R_{36}$ ,  $R_{37}$ ,  $R_{38}$ ,  $R_{39}$  являють собою Н або лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 20 атомів вуглецю, і/або мономер поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n$ ,  $R_{37}$  необов'язково являє собою тіол-блокуючу групу, якщо  $t = 1$ ,  $COX$  утворює реакційноздатний складний ефір, вибраний із N-гідроксисукцинімідних ефірів, N-гідроксифталімідних ефірів, N-гідроксисульфосукцинімідних ефірів, пара-нітрофенілових ефірів, динітрофенілових ефірів, пентафторфенілових ефірів і їх похідних, причому указанні похідні полегшують утворення амідного зв'язку;

$Y$  відсутня або вибрана із О, S, S-S або  $NR_{32}$ , де  $R_{32}$  відповідає визначенню, наведеному вище для R; або

якщо  $Y$  не являє собою S-S і  $t = 0$ ,  $X$  вибраний із малеїмідогрупи, галогенацетильної групи або  $SR_{37}$ , де  $R_{37}$  відповідає вищевказаному визначенню;

$A$  являє собою амінокислоту, вибрану із гліцину, аланіну, лейцину, валіну, лізину, цитруліну і глутамату, або являє собою поліпептид, який містить від 2 до 20 амінокислот;

$R_{20}$ ,  $R_{21}$ ,  $R_{22}$ ,  $R_{23}$ ,  $R_{24}$ ,  $R_{25}$ ,  $R_{26}$  і  $R_{27}$  є однаковими або різними, і являють собою -Н або лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 5 атомів вуглецю;

$R_{29}$  і  $R_{30}$  є однаковими або різними, і являють собою -Н або алкіл, який містить від 1 до 5 атомів вуглецю;

$R_{33}$  являє собою -Н або лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 12 атомів вуглецю, мономер поліетиленгліколю  $R-(OCH_2CH_2)_n$ , або  $R_{33}$  являє собою  $-COR_{34}$ ,  $-CSR_{34}$ ,  $-SOR_{34}$ , або  $-SO_2R_{34}$ , де  $R_{34}$  являє собою Н або лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 20 атомів вуглецю, або мономер поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n$ ; і

одна із  $R_{40}$  і  $R_{41}$  являє собою необов'язково негативно або позитивно заряджену функціональну групу, а інша являє собою Н або алкіл, алкеніл, алкініл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю.

[125] Будь-яка із вищевказаних зв'язуючих груп може бути присутня у будь-якій зі сполук, сполук лікарська речовина-лінкер або кон'югатів згідно з винаходом, включаючи заміну зв'язуючих груп будь-якою з формул, описаних тут.

[126] Термін "амінокислота" стосується природної амінокислоти або неприродної амінокислоти, представленої  $NH_2-C(R^{aa}R^{aa'})-C(=O)OH$ , де кожна із  $R^{aa}$  і  $R^{aa'}$  незалежно являє собою Н, необов'язково заміщений лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, арил, гетероарил або гетероцикліл. Термін "амінокислота" також стосується відповідного залишку, коли з N- і/або C-кінця амінокислоти видалений один атом водню, наприклад,  $-NH-C(R^{aa}R^{aa'})-C(=O)O-$ .

[127] Термін "катион" стосується іону з позитивним зарядом. Катион може бути одновалентним (наприклад,  $Na^+$ ,  $K^+$  і т.д.), двовалентним (наприклад,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  і т.д.) або полівалентним (наприклад,  $Al^{3+}$  і т.д.). Переважно катион є одновалентним.

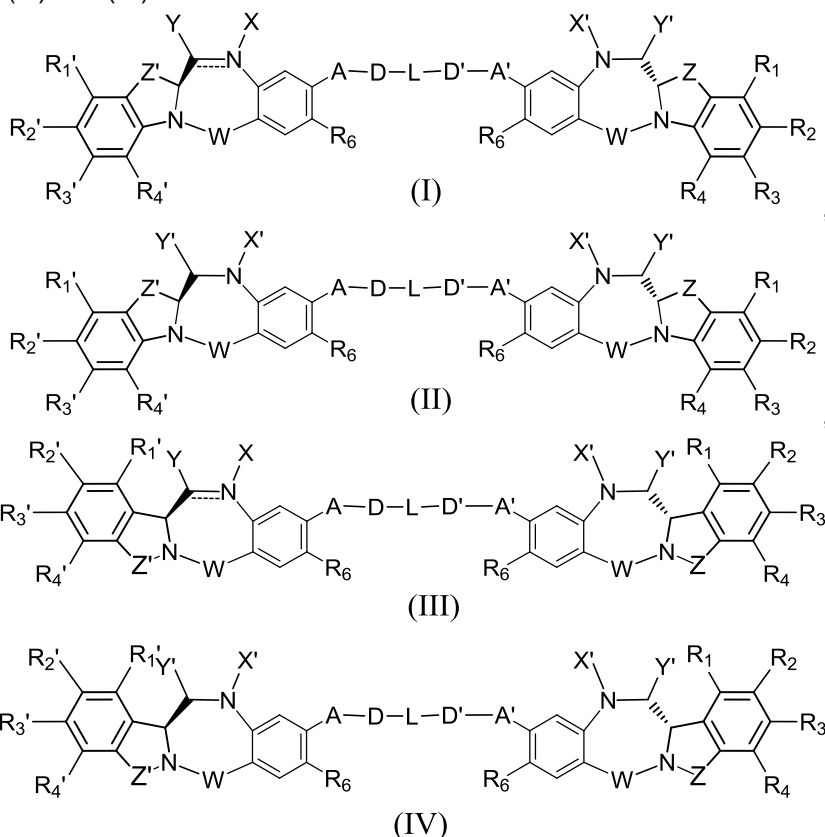
[128] Термін "терапевтично ефективна кількість" означає кількість активної сполуки або кон'югату, яка викликає бажану біологічну реакцію у суб'єкта. Така реакція включає полегшення симптомів захворювання або розладу, який підлягає лікуванню, запобігання, інгібування або затримку рецидиву симптому захворювання або самого захворювання, збільшення тривалості життя суб'єкта у порівнянні з відсутністю лікування або запобігання, інгібування або затримку прогресування симптому захворювання або самого захворювання. Визначення ефективної кількості перебуває в межах можливостей фахівців у даній галузі техніки, особливо у світлі наведеного тут докладного опису. Токсичність і терапевтичну ефективність сполуки І можна визначити за допомогою стандартних фармацевтичних процедур у культурах клітин і на експериментальних тваринах. Ефективна кількість сполуки або кон'югату згідно з даним винаходом або іншого терапевтичного агента, який підлягає введенню суб'єктові, залежить від стадії, категорії і стану множинної мієломи та характеристик суб'єкта, наприклад, загального стану здоров'я, віку, статі, маси тіла і здатності до перенесення ліків. Ефективна кількість сполуки або кон'югату згідно з даним винаходу або іншого терапевтичного агента, який підлягає введенню, також залежить від шляху введення і дозованої лікарської форми. Кількість та інтервал дозування можна регулювати індивідуально, забезпечуючи рівні активної сполуки у плазмі, достатні для підтримки бажаного терапевтичного ефекту.

Цитотоксичні сполуки

[129] Даний винахід спрямований на цитотоксичні сполуки, описані тут (наприклад, сполуки формул (I), (II), (III) і (IV)). В одному варіанті втілення цитотоксичні сполуки згідно з даним винаходом не включають будь-які сполуки, описані в US 2010/0203007 (повний зміст якої включений в даний документ за допомогою посилання), наприклад, сполуки, спеціально згадані

у винятках нижче.

- [130] У першому специфічному варіанті втілення даний винахід забезпечує цитотоксичну сполуку, яка включає зв'язуючу групу із приєднаною до неї реакційноздатною групою, здатну ковалентно приєднувати зазначену цитотоксичну сполуку до агента, який зв'язується із клітинами (СВА), причому зазначену цитотоксичну сполуку представлена будь-якою з наступних формул (I), (II), (III) або (IV):



або її фармацевтично прийнятною сіллю, де:

подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою одинарний зв'язок або подвійний зв'язок, за умови, що, коли вона являє собою подвійний зв'язок, X відсутня, а Y являє собою -H або лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, а коли вона являє собою одинарний зв'язок, X являє собою -H, зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою або аміноблокуючу групу; переважно подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою подвійний зв'язок;

Y являє собою -H або, групу, яка відходить, вибрану із -OR, -OCOR', -OCOOR', -OCONR'R'', -NR'R'', -NR'COR'', -NR'NR'R'', необов'язково заміщений 5- або 6-членний азот-вмісний гетероцикл (наприклад, піперидин, тетрагідропірол, піразол, морфолін і т.д.), гуанідиній, представлений -NR'(C=NH)NR'R'', амінокислоту або пептид, представлений -NRCOP', причому P' являє собою амінокислоту або поліпептид, який містить від 2 до 20 амінокислотних залишків, -SR, -SOR', -SO<sub>2</sub>M, -SO<sub>3</sub>M, -OSO<sub>3</sub>M, галоген, ціаногрупу та азидну групу, причому M являє собою -H або катіон, наприклад, Na<sup>+</sup> або K<sup>+</sup>. Переважно M являє собою -H або Na<sup>+</sup>; переважно Y являє собою -SO<sub>3</sub>M, -OH, -OMe, -OEt або -NHOH. Більш переважно Y являє собою -SO<sub>3</sub>M або -OH; або

Y являє собою сульфат (HSO<sub>3</sub>, HSO<sub>2</sub> або сіль HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>3</sub><sup>2-</sup> або HSO<sub>2</sub><sup>-</sup>, утворену катіоном), метабісульфіт (H<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), моно-, ди-, три- і тетрагідрофосфат (PO<sub>3</sub>SH<sub>3</sub>, PO<sub>2</sub>S<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, POS<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, PS<sub>4</sub>H<sub>2</sub> або сіль PO<sub>3</sub>S<sup>3-</sup>, PO<sub>2</sub>S<sub>2</sub><sup>3-</sup>, POS<sub>3</sub><sup>3-</sup> або PS<sub>4</sub><sup>3-</sup>, утворену катіоном), складний ефір тіофосфату (R<sup>i</sup>O)<sub>2</sub>PS(OR<sup>i</sup>), R<sup>i</sup>S-, R<sup>i</sup>SO, R<sup>i</sup>SO<sub>2</sub>, R<sup>i</sup>SO<sub>3</sub>, тіосульфат (HS<sub>2</sub>O<sub>3</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), дитіоніт (HS<sub>2</sub>O<sub>4</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), фосфордитіоат (P(=S)(OR<sup>k</sup>)(S)(OH) або його сіль, утворену катіоном), гідроксамову кислоту (R<sup>k</sup>C(=O)NOH або сіль, утворену катіоном), формальдегідсульфоксидат (HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup> або сіль HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup>, утворену катіоном, наприклад, HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup>Na<sup>+</sup>) або їх суміш, де R<sup>i</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, і заміщений щонайменше одним замісником, вибраним із -N(R<sup>j</sup>)<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>H, -SO<sub>3</sub>H і -PO<sub>3</sub>H; R<sup>j</sup> необов'язково може бути додатково заміщена замісником для алкілу, описаним тут; R<sup>j</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю; R<sup>k</sup> являє собою лінійний, розгалужений або

циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, арил, гетероцикліл або гетероарил; переважно Y являє собою аддукт бісульфіту, гідросульфиту або метабісульфіту або їх солей (наприклад, солі натрію);

5 R, в кожному випадку незалежно, вибрана із групи, яка складається із -H, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$ , необов'язково заміщеного арилу, який містить від 6 до 18 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню і сірки, або необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P;

10 R' і R'' є однаковими або різними і незалежно вибрані із -H, -OH, -OR, -NHR, -NR<sub>2</sub>, -COR, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$  і необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P;

15 R<sup>c</sup> являє собою -H або заміщений або незаміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, або зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою;

n являє собою ціле число від 1 до 24;

20 W вибрана із C=O, C=S, CH<sub>2</sub>BH, SO і SO<sub>2</sub>;

X вибрана із групи, яка складається із -H, -OH, аміноблокуючої групи, зв'язуючої групи з приєднаною до неї реакційноздатною групою, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$ , необов'язково заміщеного арилу, який 25 містить від 6 до 18 атомів вуглецю (наприклад, фенілу), необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню і сірки, і необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P. Переважно X' являє собою -H, -OH, -Me або зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою. 30 Більш переважно X' являє собою -H;

Y вибрана із групи, яка складається із -H, оксогрупи, зв'язуючої групи з приєднаною до неї реакційноздатною групою, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 6-18-членного арилу, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке 35 містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню і сірки, необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів. Переважно Y' вибрана із -H або оксогрупи. Більш переважно Y' являє собою -H.

Кожна із R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>1</sub>', R<sub>2</sub>', R<sub>3</sub>' і R<sub>4</sub>' незалежно вибрана із групи, яка складається із -H, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, 40 який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-R^c$ , галогену, гуанідинію  $[-NH(C=NH)NH_2]$ , -OR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, -NCO, -NR'COR'', -SR, сульфоксиду, представленого -SOR', сульфону, представленого -SO<sub>2</sub>R', сульфонату -SO<sub>3</sub>M<sup>+</sup>, сульфату -OSO<sub>3</sub>M<sup>+</sup>, сульфонаміду, представленого -SO<sub>2</sub>NR'R'', ціаногрупи, азидної групи, -COR', -OCOR', -CONR'R'' і зв'язуючої групи з приєднаною до неї реакційноздатною групою. Переважно одна із 45 R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>' і R<sub>3</sub>' являє собою зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою, а інші являють собою -H;

R<sub>6</sub> являє собою -H, -R, -OR, -SR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, галоген, зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою, -OR<sup>c</sup> або -SR<sup>c</sup>, де R<sup>c</sup> являє собою -H, лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю. Переважно R<sub>6</sub> являє собою -OMe або -SMe. Ще 50 більш переважно R<sub>6</sub> являє собою -OMe;

Z і Z', незалежно, вибрані із  $-(CH_2)_n-$ ,  $-(CH_2)_n-CR_7R_8-(CH_2)_{n_a}-$ ,  $-(CH_2)_n-NR_9-(CH_2)_{n_a}-$ ,  $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_{n_a}-$  і  $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_{n_a}-$ ;

n і n<sub>a</sub> є однаковими або різними і вибрані із 0, 1, 2 і 3;

55 R<sub>7</sub> і R<sub>8</sub> є однаковими або різними, і кожна із них, незалежно, вибрана із -H, -OH, -SH, -COOH, -NHR', мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-$ , амінокислоти, пептидної одиниці, яка несе від 2 до 6 амінокислот, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

60 R<sub>9</sub>, незалежно, вибрана із -H, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-$ ;

A і A' є однаковими або різними і незалежно вибрані із -O-, оксо (-C(=O)-), -CRR'O-, -CRR'-, -S-, -CRR'S-, -N(R<sub>5</sub>)- і -CRR'N(R<sub>5</sub>)-. Переважно A і A' є однаковими або різними і вибрані із -O- і -S-. Більш переважно A і A' являють собою -O-;

5 R<sub>5</sub>, в кожному випадку незалежно, являє собою -H або необов'язково заміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

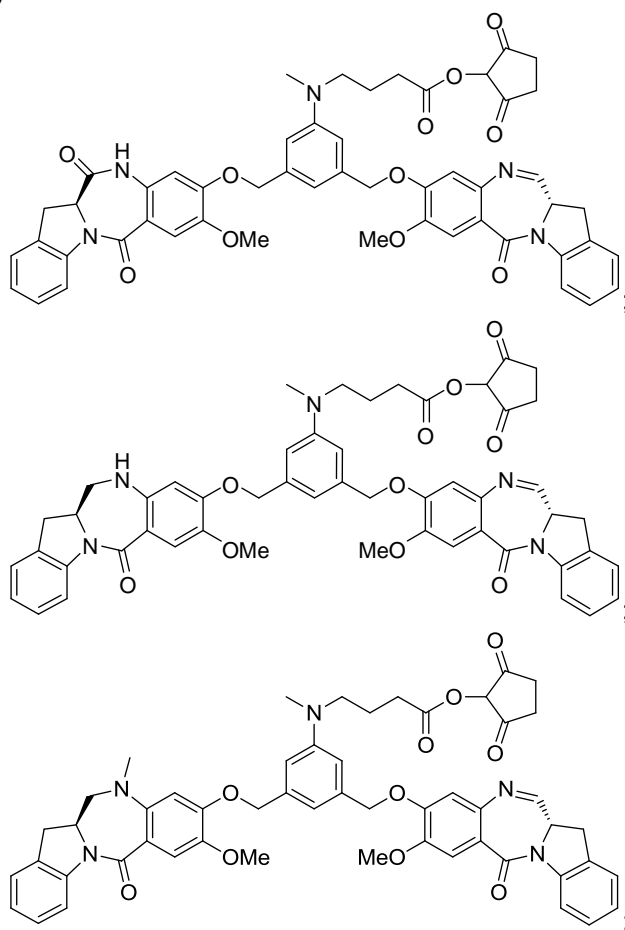
D і D' є однаковими або різними і незалежно відсутні або вибрані із групи, яка складається із амінокислоти, пептиду, який несе від 2 до 6 амінокислот, і мономера поліетиленгліколю (-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, де алкіл, алкеніл і алкініл необов'язково  
10 заміщені одним або більше (наприклад, 2, 3, 4, 5, 6 або більше) заміників, незалежно вибраних із групи, яка складається із галогену, -OR, -NR'COR'', -SR і -COR';

переважно D і D' є однаковими або різними і, незалежно, вибрані із лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю. Більш переважно D і D' являють собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів  
15 вуглецю. Ще більш переважно D і D' є однаковими або різними, і вибрані із лінійного алкілу, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю;

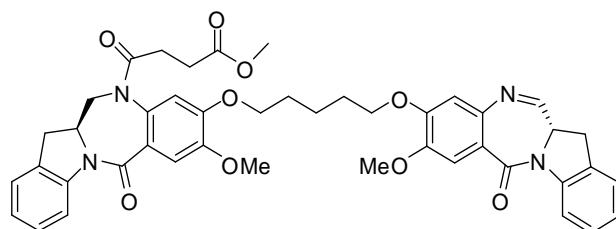
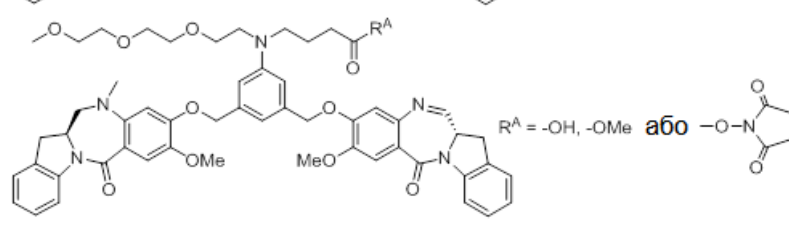
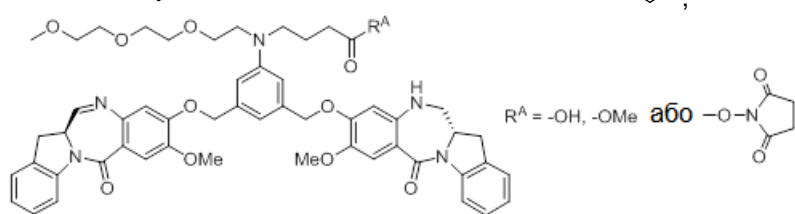
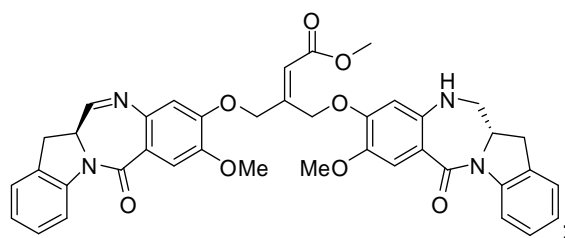
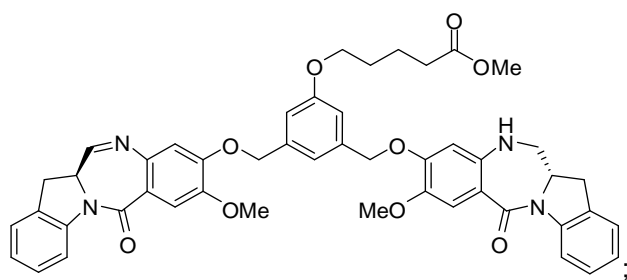
L відсутня, являє собою зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою, мономер поліетиленгліколю (-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, лінійний, розгалужений або циклічний алкіл або алкеніл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю (наприклад, 1-6 атомів вуглецю), фенільну  
20 групу, 3-18-членне гетероциклічне кільце або 5-18-членне гетероарильне кільце, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P, де алкіл або алкеніл необов'язково заміщені зв'язуючою групою з приєднаною до неї реакційноздатною групою, феніл або гетероциклічне або гетероарильне кільце можуть бути необов'язково заміщені, причому замітник може являти собою зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою.

25 [131] У деяких варіантах втілення X не є зв'язуючою групою із приєднаною до неї реакційноздатною групою. У деяких варіантах втілення подвійна лінія == між N і C являє собою одинарний зв'язок, Y не є -H.

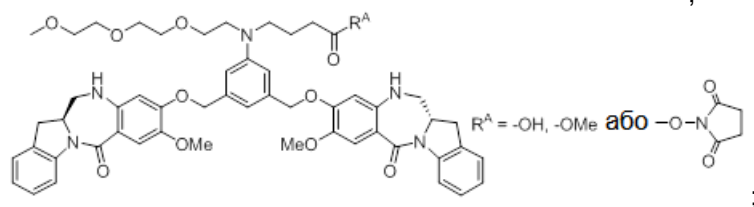
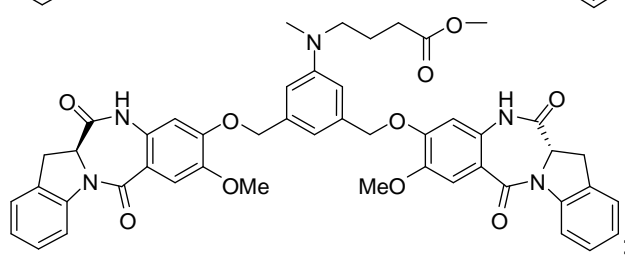
[132] У деяких варіантах втілення цитотоксичні сполуки згідно з даним винаходом не є будь-якою з наступних сполук:

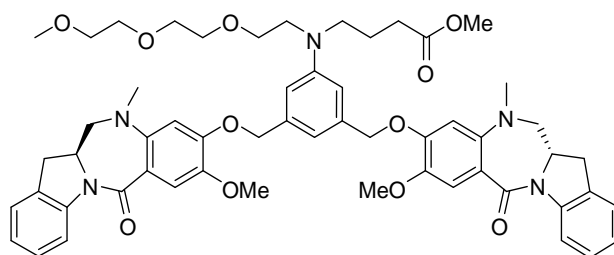






5





[133] У деяких варіантах втілення Y являє собою -H або групу, яка відходить, вибрану із -OR, -OCOR', -OCOOR', -OCONR'R'', -NR'R'', -NR'COR'', -NR'NR'R'', необов'язково заміщений 5- або 6-членний азот-вмісний гетероцикл (наприклад, піперидин, тетрагідропірол, піразол, морфолін і т.д.), гуанідиний, представлений -NR'(C=NH)NR'R'', амінокислоту або пептид, представлений -NRCOP', причому P' являє собою амінокислоту або поліпептид, який містить від 2 до 20 амінокислотних залишків, -SR, -SOR', -SO<sub>2</sub>M, -SO<sub>3</sub>M, -OSO<sub>3</sub>M, галоген, ціаногрупу та азидну групу. Переважно Y являє собою аддукт бісульфіту натрію, аддукт гідросульфиту натрію або аддукт метабісульфіту натрію. В деяких варіантах втілення Y не являє собою -H.

[134] У деяких варіантах втілення L відсутня або вибрана із необов'язково заміщеної фенольної групи і необов'язково заміщеної піридинільної групи, де фенольна і піридинільна група несе зв'язуючу групу із приєднаною до неї реакційноздатною групою, або L є аміногрупою, яка несе зв'язуючу групу із приєднаною до неї реакційноздатною групою (тобто -N(зв'язуюча група)-), або L являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл або алкеніл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю і який несе зв'язуючу групу із приєднаною до неї реакційноздатною групою.

[135] У другому специфічному варіанті втілення для цитотоксичних димерів (I), (II), (III) і (IV) змінні описані нижче:

подвійна лінія == між N і C являє собою подвійний зв'язок;

Y являє собою -H;

W являє собою C=O;

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>1</sub>', R<sub>2</sub>', R<sub>4</sub> і R<sub>4</sub>' являє собою -H;

одна із R<sub>3</sub> або R<sub>3</sub>' необов'язково являє собою зв'язуючу групу, а інша являє собою -H;

R<sub>6</sub> являє собою -OMe;

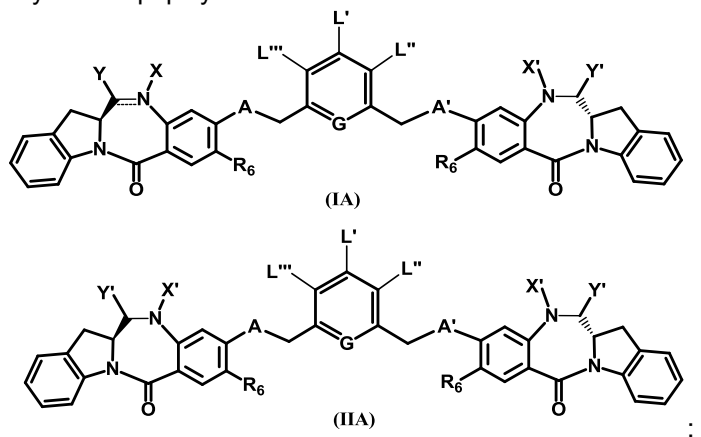
Z і Z' являють собою -CH<sub>2</sub>-;

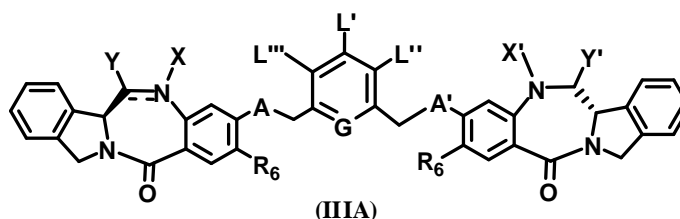
X являє собою -H;

Y' являє собою -H;

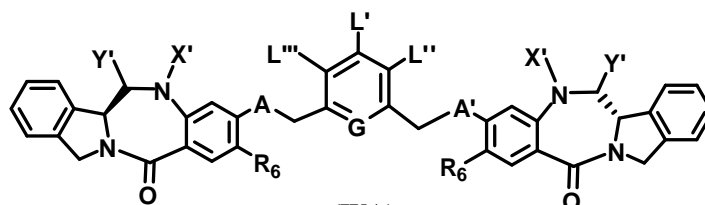
A і A' являють собою -O-; а інші змінні відповідають опису у першому специфічному варіанті втілення.

[136] У третьому специфічному варіанті втілення цитотоксичні димери формули (I), (II), (III) і (IV) представлені наступними формулами:





(IIIa)



(IVa)

де:

подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою одинарний зв'язок або подвійний зв'язок, за умови, що, коли вона являє собою подвійний зв'язок, X відсутня, а Y являє собою -H, а коли вона являє собою одинарний зв'язок, X вибрана із -H, зв'язуючої групи з приєднаною до неї реакційноздатною групою або аміноблокуючою групою (переважно X являє собою -H);

Y вибрана із -H, -OR, -OCOR', -SR, -NR'R'', -SO<sub>3</sub>M, -SO<sub>2</sub>M або -OSO<sub>3</sub>M, де M являє собою -H або катіон, наприклад, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>. Переважно Y вибрана із -OH, -OMe, -OEt, -NHOH або -SO<sub>3</sub>M. Ще більш переважно Y являє собою -OH або -SO<sub>3</sub>M, переважно M являє собою -H або Na<sup>+</sup>;

R являє собою -H, необов'язково заміщений лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, або ПЕГ-групу  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$ , де n являє собою ціле число від 1 до 24, а R<sup>c</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю;

R і R' є однаковими або різними і вибрані із -H, -OH, -OR, -NRR<sup>g</sup>, -COR, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного арилу, який містить від 6 до 18 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, вибраних із O, S, N і P, ПЕГ-групи  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$ , де n являє собою ціле число від 1 до 24, переважно n дорівнює 2, 4 або 8; а R<sup>g</sup> являє собою -H, необов'язково заміщений лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, або ПЕГ-групу  $(CH_2CH_2O)_n-R^c$ ;

X' вибрана із групи, яка складається із -H, -OH, заміщеного або незаміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, фенілу та аміноблокуючої групи. Переважно X' являє собою -H, -OH або -Me. Більш переважно X' являє собою -H;

Y' вибрана із групи, яка складається із -H, оксогрупи, заміщеного або незаміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю. Переважно Y' вибрана із -H або -Me. Більш переважно Y' являє собою -H;

R<sub>6</sub> являє собою -OR<sup>c</sup> або -SR<sup>c</sup>, де R<sup>c</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю. Переважно R<sub>6</sub> являє собою -OMe або -SMe. Ще більш переважно R<sub>6</sub> являє собою -OMe;

A і A' вибрані із -O- і -S-. Переважно A і A' являють собою -O-;

L', L'' і L''' є однаковими або різними і незалежно вибрані із -H, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-R^c$ , галогену, гуанідинію  $[-NH(C=NH)NH_2]$ , -OR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, -NR'COR'', -SR, сульфоксиду, представленого -SOR', сульфону, представленого -SO<sub>2</sub>R', сульфонату -SO<sub>3</sub>M<sup>+</sup>, сульфату -OSO<sub>3</sub><sup>+</sup>M<sup>+</sup>, сульфонаміді, представленого SO<sub>2</sub>NR'R'', ціаногрупи, азидної групи, -COR', -OCOR', -OCONR'R'' і зв'язуючої групи з приєднаною до неї реакційноздатною групою, за умови, що тільки одна із L', L'' і L''' являє собою зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою. Переважно L' являє собою зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою. Як альтернатива одна із L', L'' або L''' являє собою зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою, в той час як інші являють собою -H. Більш переважно L' являє собою зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою, а L'' і L''' являють собою -H;

G вибрана із -CH- або -N-; а інші змінні відповідають опису у першому специфічному варіанті

втілення.

[137] У деяких варіантах втілення X не є зв'язуючою групою із приєднаною до неї реакційноздатною групою. У деяких варіантах втілення подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою одинарний зв'язок, Y не являє собою -H.

5 [138] У деяких варіантах втілення A і A' обидві являють собою -O-, R<sub>6</sub> являє собою -OMe, а G являє собою -CH-.

[139] У четвертому специфічному варіанті втілення для цитотоксичних димерів формули (IA), (IIA), (IIIA) або (IVA) L' представлена формулою:

-W'-R<sup>x</sup>-V-R<sup>y</sup>-J,

де:

10 W і V є однаковими або різними, і кожна із них, незалежно, відсутня або вибрана із -CR<sup>e</sup>R<sup>e'</sup>-, -O-, -O-C(=O)-, -C(=O)-O-, -S-, -SO-, -SO<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-S-, -CH<sub>2</sub>O-, -CH<sub>2</sub>NR<sup>e</sup>-, -O-(C(=O)O)-, -O-(C(=O)N(R<sup>e</sup>)-, -N(R<sup>e</sup>)-, -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)-, -C(=O)-N(R<sup>e</sup>)-, -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)O-, -N(C(=O)R<sup>e</sup>)C(=O)-, -N(C(=O)R<sup>e</sup>)-, -(O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, -SS- або -C(=O)-, або амінокислоти, або пептиду, який містить від 2 до 8 амінокислот;

15 R<sup>x</sup> і R<sup>y</sup> є однаковими або різними, і кожна із них, незалежно, відсутня або являє собою необов'язково заміщений лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, арил, який містить від 6 до 10 атомів вуглецю, або 3-8-членне гетероциклічне кільце, яке несе від 1 до 3 гетероатомів, вибраних із O, N або S;

20 R<sup>e</sup> і R<sup>e'</sup> є однаковими або різними і вибрані із -H, лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, або -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-R<sup>k</sup>, де R<sup>k</sup> являє собою -H, лінійний, розгалужений, циклічний алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю, який необов'язково несе вторинну аміногрупу (наприклад, -NHR<sup>101</sup>) або третинну аміногрупу (-NR<sup>101</sup>R<sup>102</sup>) або 5- або 6-членний азот-вмісний гетероцикл, наприклад, піперидин або морфолін, де кожна із R<sup>101</sup> і R<sup>102</sup>, незалежно, являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю. Переважно кожна із R<sup>101</sup> і R<sup>102</sup>, незалежно, являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю;

n являє собою ціле число від 1 до 24; а

30 J включає реакційноздатну групу, зв'язану з нею, і вибрана із малеїміду, галоацетамідо, -SH, -SSR<sup>d</sup>, -CH<sub>2</sub>SH, -CH(Me)SH, -C(Me)<sub>2</sub>SH, -NHR<sup>c1</sup>, -CH<sub>2</sub>NHR<sup>c1</sup>, -NR<sup>c1</sup>NH<sub>2</sub>, -COOH і -COE, де -COE являє собою реакційноздатний складний ефір, вибраний із N-гідроксисукцинімідного ефіру, N-гідроксисульфосукцинімідного ефіру, нітрофенілового (наприклад, 2- або 4-нітрофенілового) ефіру, динітрофенілового (наприклад, 2,4-динітрофенілового) ефіру, сульфотетрафторфенілового (наприклад, 4-сульфо-2,3,5,6-тетрафторфенілового) ефіру і пентафторфенілового ефіру, не обмежуючись ними, а R<sup>c1</sup> являє собою -H або заміщений або незаміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, а

R<sup>d</sup> вибрана із фенілу, нітрофенілу (наприклад, 2- або 4-нітрофенілу), динітрофенілу (наприклад, 2- або 4-нітрофенілу), карбоксинітрофенілу (наприклад, 3-карбокси-4-нітрофенілу), піридилу або нітропіридилу (наприклад, 4-нітропіридилу).

[140] У деяких варіантах втілення J являє собою -SH, -SSR<sup>d</sup>, малеїмід або N-гідроксисукцинімідний ефір.

[141] У деяких варіантах втілення R<sup>e</sup> являє собою -H або -Me; R<sup>e'</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю, або -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-R<sup>k</sup>; n являє собою ціле число від 2 до 8; переважно R<sup>k</sup> являє собою -H, -Me або -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-NMe<sub>2</sub>, а інші змінні відповідають опису, наведеному вище в четвертому специфічному варіанті втілення.

[142] У деяких варіантах втілення V являє собою амінокислоту або пептид, який містить від 2 до 8 амінокислот. В деяких варіантах втілення V являє собою валін-цитрулін, gly-gly-gly або ala-leu-ala-leu.

50 [143] У деяких варіантах втілення

W' являє собою -O-, -N(R<sup>e</sup>)- або -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)-;

R<sup>e</sup> являє собою -H, лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, або -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-R<sup>k</sup>;

R<sup>x</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю;

55 V відсутня або являє собою -(O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, -C(=O)-NH-, -S-, -NH-C(=O)-;

R<sup>y</sup> відсутня або являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю; а

J являє собою -SH, -SSR<sup>d</sup> або -COE (переважно N-гідроксисукцинімідний ефір). Інші змінні відповідають опису в четвертому специфічному варіанті втілення.

60 У деяких варіантах втілення

W являє собою -O-, -N(R<sup>e</sup>)- або -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)-;

R<sup>e</sup> являє собою H, Me або -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-Me;

n являє собою ціле число від 2 до 6;

R<sup>x</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який несе від 1 до 6 атомів вуглецю;

5 V і R<sup>y</sup> відсутні; а

J являє собою -COE, переважно N-гідроксисукцинімідний ефір. Інші змінні відповідають опису в четвертому специфічному варіанті втілення.

[145] У п'ятому специфічному варіанті втілення L' представлена наступною формулою:

-W'-[CR<sub>1</sub><sup>''</sup>R<sub>2</sub><sup>''</sup>]<sub>a</sub>-V-[Cy]<sub>0-1</sub>-[CR<sub>3</sub><sup>''</sup>R<sub>4</sub><sup>''</sup>]<sub>b</sub>-COE,

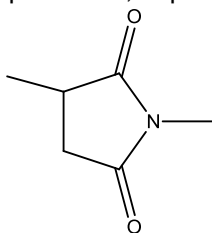
10 де:

кожна із R<sub>1</sub><sup>''</sup>, R<sub>2</sub><sup>''</sup> і R<sub>3</sub><sup>''</sup>, незалежно, являє собою -H або лінійний або розгалужений алкіл, який несе від 1 до 4 атомів вуглецю, переважно -Me;

R<sub>4</sub><sup>''</sup> являє собою -H, лінійний або розгалужений алкіл, який несе від 1 до 4 атомів вуглецю (переважно -Me), -SO<sub>3</sub>H або -SO<sub>3</sub>M<sup>+</sup>, де M<sup>+</sup> являє собою фармацевтично прийнятний катіон;

15 а являє собою ціле число від 0 до 5 (наприклад, від 0 до 2, 3, 4 або 5), а b - ціле число від 0 до 6 (наприклад, від 0 до 3, 4, 5 або 6); а

Sy являє собою необов'язково заміщене 5-членне гетероциклічне кільце, яке несе гетероатом N, переважно Sy являє собою



20

[146] У деяких варіантах втілення W' являє собою -N(R<sup>e</sup>)-.

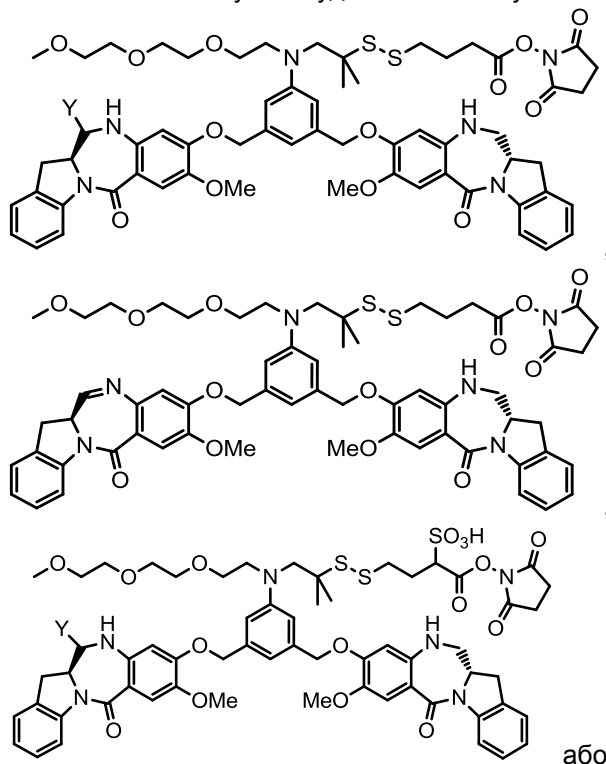
[147] У деяких варіантах втілення, наприклад, у четвертому і/або п'ятому специфічному варіанті втілення, R<sup>e</sup> являє собою -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>2-6</sub>- R<sup>k</sup>, де R<sup>k</sup> являє собою -H, лінійний, розгалужений, циклічний алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю.

25 [148] У деяких варіантах втілення, наприклад, у четвертому і/або п'ятому специфічному варіанті втілення, V являє собою -S- або -SS-.

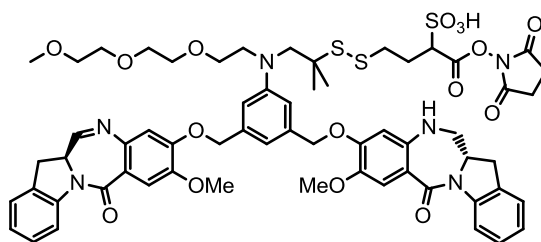
[149] У шостому специфічному варіанті втілення, як і в четвертому і/або п'ятому специфічному варіанті втілення, L' представлена наступною формулою:

-NR<sup>e</sup>-[CR<sub>1</sub><sup>''</sup>R<sub>2</sub><sup>''</sup>]<sub>a</sub>-S-[CR<sub>3</sub><sup>''</sup>R<sub>4</sub><sup>''</sup>]<sub>b</sub>-COE.

[150] У деяких варіантах втілення сполука є будь-якою з наступних:



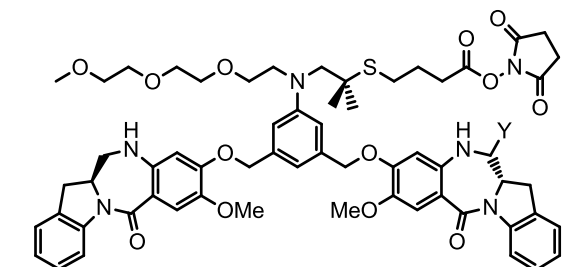
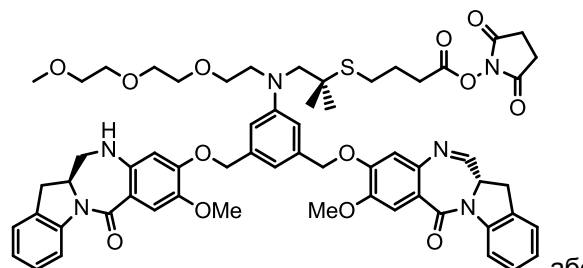
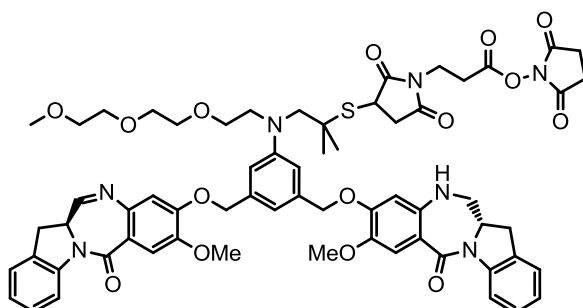
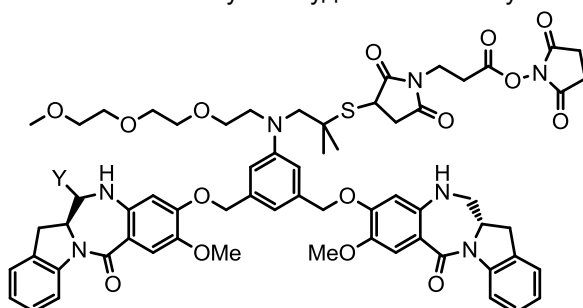
30



де Y є -H або -SO<sub>3</sub>M, а M є -H або фармацевтично прийнятним катіоном. У деяких варіантах втілення Y є -SO<sub>3</sub>M.

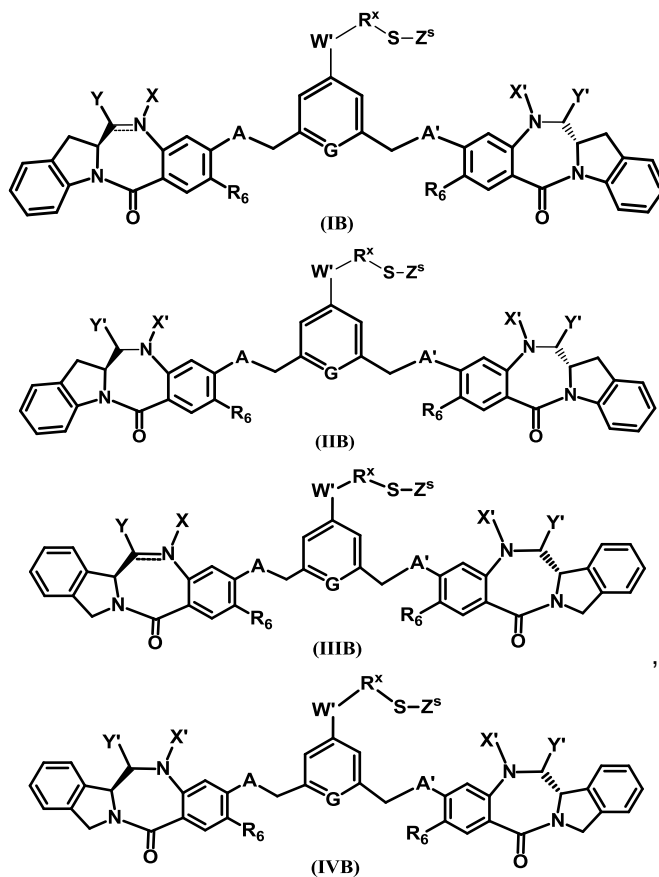
[151] У сьомому специфічному варіанті втілення, як і в четвертому і/або п'ятому специфічному варіанті втілення, L' представлена наступною формулою:  
- NR<sup>e</sup>-[CR<sub>1</sub>'R<sub>2</sub>']<sub>a</sub>-S-Cy-[CR<sub>3</sub>'R<sub>4</sub>']<sub>b</sub>-COE.

[152] У деяких варіантах втілення сполука є будь-якою з наступних:



де Y є -H або -SO<sub>3</sub>M, а M є -H або фармацевтично прийнятним катіоном. У деяких варіантах втілення Y є -SO<sub>3</sub>M.

[153] У восьмому специфічному варіанті втілення цитотоксичні димери формули (I), (II), (III) і (IV) представлені наступними формулами:



5

де:

$W'$  відсутня або вибрана із  $-O-$ ,  $-N(R^e)-$ ,  $-N(R^e)-C(=O)-$ ,  $-N(C(=O)R^e)-$ ,  $-S-$  або  $-CH_2-S-$ ,  $-CH_2NR^e-$

$R^x$  відсутня або вибрана із лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

10

$R^e$  являє собою  $-H$ , лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, або  $-(CH_2-CH_2-O)_n-R^k$ , де  $R^k$  являє собою  $-H$ , лінійний, розгалужений, циклічний алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю, який необов'язково несе вторинну аміногрупу (наприклад,  $-NHR^{101}$ ) або третинну аміногрупу ( $-NR^{101}R^{102}$ ), або 5- або 6-членний азот-вмісний гетероцикл, наприклад, піперидин або морфолін, де кожна із  $R^{101}$  і  $R^{102}$ ,

15

незалежно, являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю. Переважно кожна із  $R^{101}$  і  $R^{102}$ , незалежно, являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю;

$Z^s$  являє собою  $-H$ ,  $-SR^m$ ;

20

$R^m$  являє собою  $R^d$  або заміщений або незаміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, який несе реакційноздатний складний ефір, вибраний із  $N$ -гідроксисукцинімідних ефірів,  $N$ -гідроксифталімідних ефірів,  $N$ -гідроксисульфосукцинімідних ефірів, пара-нітрофенілових ефірів, динітрофенілових ефірів, пентафторфенілових ефірів;

$R^d$  вибрана із фенілу, нітрофенілу, динітрофенілу, карбоксинітрофенілу, піридилу або нітропіридилу; а

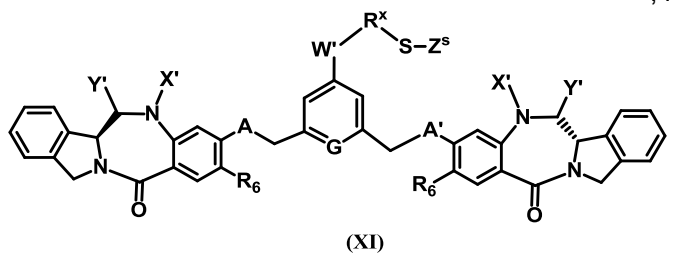
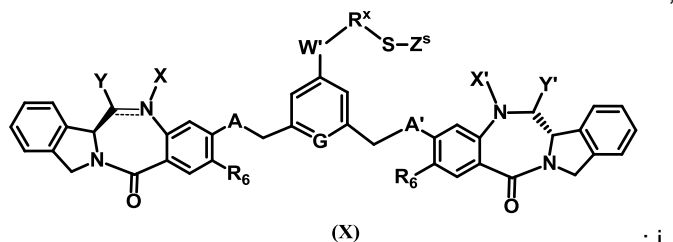
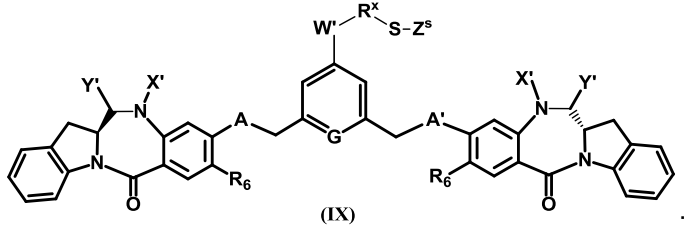
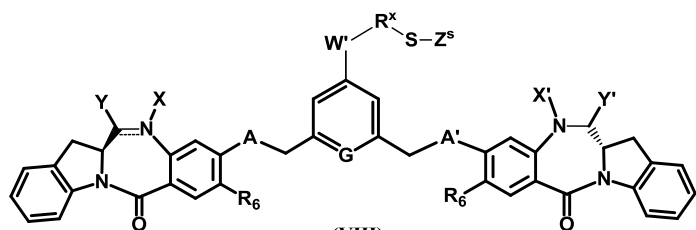
25

$n$  являє собою ціле число від 1 до 24, а інші змінні відповідають опису, наведеному вище в третьому специфічному варіанті втілення.

[154] Переважно  $R^k$  являє собою  $-H$  або  $-Me$ , а  $n$  є цілим числом від 2 до 8. Переважно  $R^x$  є лінійним або розгалуженим алкілом, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю, а інші змінні відповідають опису, наведеному вище в третьому, четвертому і/або п'ятому специфічному варіанті втілення.

30

[155] У дев'ятому специфічному варіанті втілення цитотоксичні димери формули (I), (II), (III) і (IV) представлені наступними формулами:



5

де:

подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою одинарний зв'язок або подвійний зв'язок, за умови, що, коли вона являє собою подвійний зв'язок, X відсутня, а Y являє собою -H, а коли вона являє собою одинарний зв'язок, X вибрана із -H, зв'язуючої групи з приєднаною до неї реакційноздатною групою або аміноблокуючою групою (переважно X являє собою -H або аміноблокуючу групу; більш переважно X являє собою -H);

10

Y вибрана із -H, -OR, -OCOR', -SR, -NR'R, "-SO<sub>3</sub>M, -SO<sub>2</sub>M або -OSO<sub>3</sub>M (наприклад, Y являє собою -OR, -OCOR', -SR, -NR'R, "-SO<sub>3</sub>M, -SO<sub>2</sub>M або -OSO<sub>3</sub>M), де M являє собою -H або катіон, наприклад, Na<sup>+</sup> або K<sup>+</sup>;

15

R являє собою -H, необов'язково заміщений лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, або ПЕГ-групу -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup>, де n являє собою ціле число від 1 до 24, а R<sup>c</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю;

20

R і R<sup>c</sup> є однаковими або різними і вибрані із -H, -OH, -OR, -NRR<sup>g</sup>, -COR, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного арилу, який містить від 6 до 18 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, вибраних із O, S, N і P, ПЕГ-групи -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup>, де n являє собою ціле число від 1 до 24, переважно n дорівнює 2, 4 або 8; а R<sup>g</sup> являє собою -H, необов'язково заміщений лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, або ПЕГ-групу (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup>;

25

X' вибрана із групи, яка складається із -H, -OH, заміщеного або незаміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, фенілу та аміноблокуючої групи;

30

Y' вибрана із групи, яка складається із -H, оксогрупи, заміщеного або незаміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

A і A' вибрані із -O- і -S-;



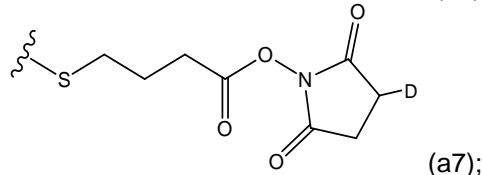
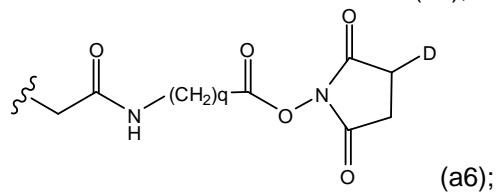
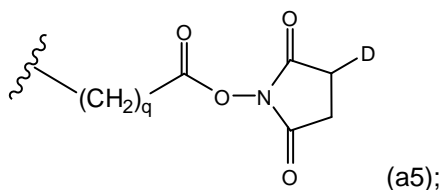
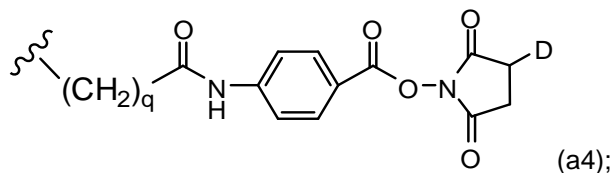
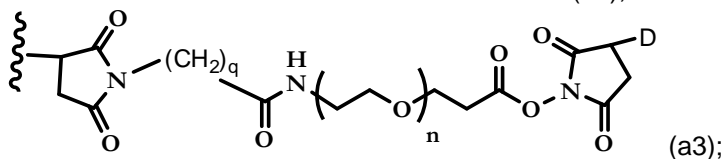
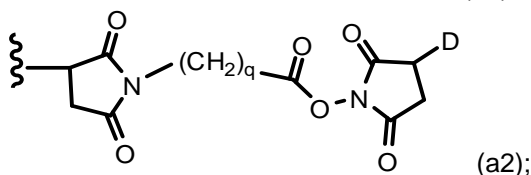
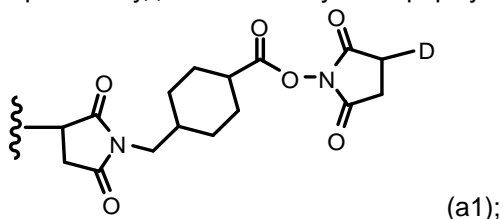
W' відсутня або вибрана із -O-, -N(R<sup>e</sup>)-, -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)-, -N(C(=O)R<sup>e</sup>)-, -S- або -CH<sub>2</sub>-S-, -CH<sub>2</sub>NR<sup>e</sup>-;

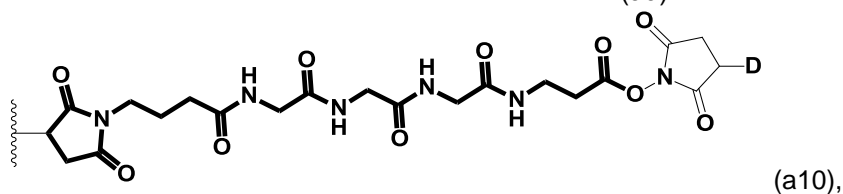
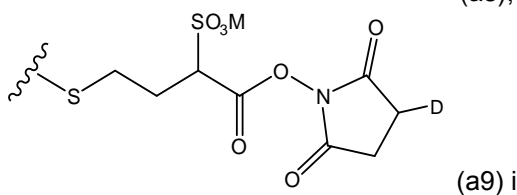
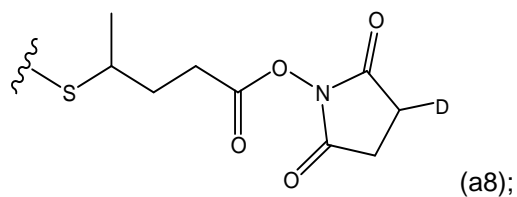
R<sup>x</sup> відсутня або вибрана із лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

5 R<sup>e</sup> являє собою -H, лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, або -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-R<sup>k</sup>, де R<sup>k</sup> являє собою -H, лінійний, розгалужений, циклічний алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю, який необов'язково несе вторинну аміногрупу (наприклад, -NHR<sup>101</sup>) або третинну аміногрупу (-NR<sup>101</sup>R<sup>102</sup>), або 5- або 6-членний азот-вмісний гетероцикл, наприклад, піперидин або морфолін, де кожна із R<sup>101</sup> і R<sup>102</sup>,  
10 незалежно, являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

G вибрана із -CH- або -N-;

Z<sup>s</sup> являє собою -H або вибрана із будь-якої із наступних формул:





де:

5

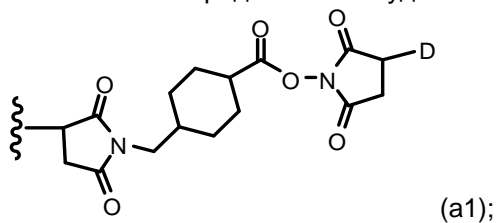
q являє собою ціле число від 1 до 5;

p являє собою ціле число від 2 до 6;

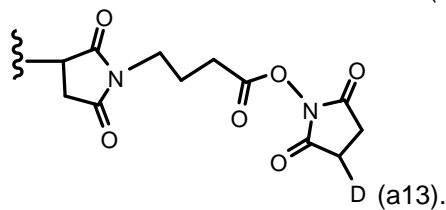
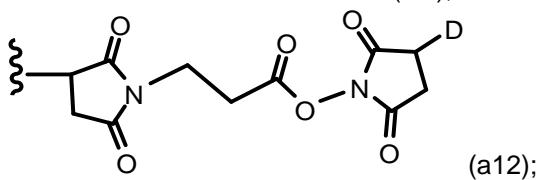
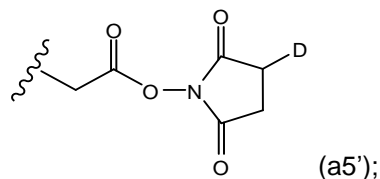
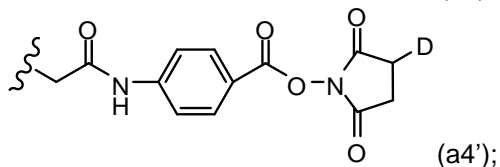
D являє собою -H або -SO<sub>3</sub>M;

M являє собою -H або катіон, наприклад, Na<sup>+</sup> або K<sup>+</sup>.

[156] У деяких варіантах втілення Z<sup>s</sup> представлена будь-якою з наступних формул:



10



15

[157] У деяких варіантах втілення W' являє собою -N(R<sup>e</sup>)-.

[158] У деяких варіантах втілення R<sup>e</sup> являє собою -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-R<sup>k</sup>, де R<sup>k</sup> являє собою -H, лінійний, розгалужений, циклічний алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю.

[159] У деяких варіантах втілення R<sup>k</sup> являє собою -H або -Me, n дорівнює 4, а q дорівнює 2.

[160] У деяких варіантах втілення R<sup>x</sup> є лінійним або розгалуженим алкілом, який містить від 1

до 6 атомів вуглецю.

[161] У деяких варіантах втілення  $R^x$  може являти собою  $-(CH_2)_p-(CR^fR^g)-$ , де кожна із  $R^f$  і  $R^g$ , незалежно, вибрана із Н або лінійного або розгалуженого алкілу, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю; а р дорівнює 0, 1, 2 або 3.

5 [162] У деяких варіантах втілення  $R^f$  і  $R^g$  є однаковими або різними, і вибрані із -Н і -Ме; а р дорівнює 1.

[163] У десятому специфічному варіанті втілення для сполук формули (VIII), (IX), (X) і (XI), описаних у дев'ятому специфічному варіанті втілення, змінні відповідають опису, наведеному нижче:

10 подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою одинарний зв'язок або подвійний зв'язок, за умови, що, коли вона являє собою подвійний зв'язок, X відсутня, а Y являє собою -H, а коли вона являє собою одинарний зв'язок, X являє собою -H; Y являє собою -H, -OH або  $-SO_3M$ ;

M являє собою -H або фармацевтично прийнятний катіон (наприклад,  $Na^+$ );

X' і Y' обидві являють собою -H;

15 A і A' обидві являють собою -O-;

$R_6$  являє собою -OMe; а

$R^x$  являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю.

[164] У спорідненому варіанті втілення Y являє собою -OH або  $-SO_3M$ .

20 [165] У ще одному варіанті втілення сполуки формули (VIII), (IX), (X) і (XI), описані в дев'ятому специфічному варіанті втілення, змінні відповідають опису, наведеному нижче:

W' являє собою -O-,  $-N(R^e)-$ ,  $-N(R^e)-C(=O)-$ ,  $-N(COR^e)-$ , -S- або  $-CH_2-S-$ ;

$R^x$  відсутня або вибрана із лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю;

25  $R^e$  являє собою -H, лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, або  $-(CH_2-CH_2-O)_n-R^k$ , де  $R^k$  являє собою -H, лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю, який необов'язково несе первинну, вторинну або третинну аміногрупу або 5- або 6-членний азот-вмісний гетероцикл, наприклад, піперидин або морфолін;

30 n являє собою ціле число від 1 до 24, а інші змінні відповідають опису, наведеному вище у дев'ятому специфічному варіанті втілення.

[166] Переважно  $R^k$  являє собою -H або -Me, а n являє собою ціле число від 2 до 8. Переважно  $R^x$  являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю.

35 [167] Переважно  $R^x$  являє собою  $-(CH_2)_p-(CR^fR^g)-$ , де кожна із  $R^f$  і  $R^g$ , незалежно, вибрана із Н або лінійного або розгалуженого алкілу, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю; р дорівнює 0, 1, 2 або 3. Більш переважно  $R^f$  і  $R^g$  є однаковими або різними і вибрані із -H і -Me, а р дорівнює 1.

[168] У ще одному кращому варіанті втілення лінкер представлений будь-якою формулою, вибраною з формул (a1), (a4), (a5), (a10) і (a11), показаних вище, а інші змінні відповідають опису, наведеному вище в десятому специфічному варіанті втілення.

40 [169] В одинадцятому специфічному варіанті втілення для сполук формули (IB), (IIB), (IIIB) і (IVB), описаних у восьмому специфічному варіанті втілення, змінні відповідають опису, наведеному нижче:

45 подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою одинарний зв'язок або подвійний зв'язок, за умови, що, коли вона являє собою подвійний зв'язок, X відсутня, а Y являє собою -H, а коли вона являє собою одинарний зв'язок, X являє собою -H; Y являє собою -H, -OH або  $-SO_3M$  (наприклад, Y являє собою -OH або  $-SO_3M$ );

M являє собою -H або  $Na^+$ ;

X' і Y' обидві являють собою -H;

A і A' обидві являють собою -O-;

50  $R_6$  являє собою -OMe;

$R^x$  являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю, а інші змінні відповідають опису, наведеному вище в третьому, четвертому або п'ятому специфічному варіанті втілення.

55 [170] Переважно  $R^x$  являє собою  $-(CH_2)_p-(CR^fR^g)-$ , де кожна із  $R^f$  і  $R^g$ , незалежно, вибрана із Н або лінійного або розгалуженого алкілу, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю; р дорівнює 0, 1, 2 або 3. Більш переважно  $R^f$  і  $R^g$  є однаковими або різними і вибрані із -H і -Me, а р дорівнює 1.

[171] У будь-якому з вищенаведених специфічних варіантів втілення (наприклад, у специфічних варіантах втілення з першого по 11-й), подвійна лінія  $\equiv$  між N і C може являти собою подвійний зв'язок.

60 [172] У будь-якому з вищенаведених специфічних варіантів втілення (наприклад, у

специфічних варіантах втілення з першого по 11-й), подвійна лінія  $\equiv$  між N і C може являти собою одинарний зв'язок, X є -H зв'язуючою групою із приєднаною до неї реакційноздатною групою або аміноблокуючою групою (наприклад, X є -H або аміноблокуючою групою); а Y вибрана із -H, -OR, -OCOR', -SR, -NR'R'', необов'язково заміщеного 5- або 6-членного азот-вмісного гетероциклу, -SO<sub>3</sub>M, -SO<sub>2</sub>M і сульфату -OSO<sub>3</sub>M (наприклад, Y являє собою -OR, -OCOR', -SR, -NR'R'', необов'язково заміщений 5- або 6-членний азот-вмісний гетероцикл, -SO<sub>3</sub>M, -SO<sub>2</sub>M і сульфат -OSO<sub>3</sub>M).

[173] У деяких варіантах втілення Y вибрана із -H, -SO<sub>3</sub>M, -OH, -OMe, -OEt або -NHOH (наприклад, Y являє собою -SO<sub>3</sub>M, -OH, -OMe, -OEt або -NHOH).

[174] У деяких варіантах втілення Y являє собою -H, -SO<sub>3</sub>M або -OH (наприклад, Y являє собою -SO<sub>3</sub>M або -OH).

[175] У деяких варіантах втілення M є -H, Na<sup>+</sup> або K<sup>+</sup>.

[176] У будь-якому з вищенаведених специфічних варіантів втілення (наприклад, у специфічних варіантах втілення з першого по 11-й) W, якщо присутня, являє собою C=O.

[177] У будь-якому з вищенаведених специфічних варіантів втілення (наприклад, у специфічних варіантах втілення з першого по 11-й) Z і Z', якщо присутні, являють собою -CH<sub>2</sub>.

[178] У будь-якому з вищенаведених специфічних варіантів втілення (наприклад, у специфічних варіантах втілення з першого по 11-й) X' вибрана із групи, яка складається із -H, -OH, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, фенілу, зв'язуючої групи із приєднаною до неї реакційноздатною групою і аміноблокуючою групи.

[179] У деяких варіантах втілення X' являє собою -H, -OH, -Me або зв'язуючу групу із приєднаною до неї реакційноздатною групою.

[180] У деяких варіантах втілення X' є -H.

[181] У будь-якому з вищенаведених специфічних варіантів втілення (наприклад, у специфічних варіантах втілення з першого по 11-й) Y' вибрана із групи, яка складається із -H, оксогрупи, заміщеного або незаміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю.

[182] У деяких варіантах втілення Y' являє собою -H або оксогрупу.

[183] У деяких варіантах втілення Y' являє собою -H.

[184] У будь-якому з вищенаведених специфічних варіантів втілення (наприклад, у специфічних варіантах втілення з першого по 11-й) A і A' є однаковими або різними і вибрані із O, S, NR<sub>5</sub> і оксо (C=O). A і A' можуть бути однаковими або різними і вибрані із -O- і -S-. Переважно як A, так і A' обидві являють собою -O-.

[185] У будь-якому з вищенаведених специфічних варіантів втілення (наприклад, у специфічних варіантах втілення з першого по 11-й), D і D', якщо присутні, є однаковими або різними і, незалежно, вибрані із мономера поліетиленгліколю (-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>, де n являє собою ціле число від 1 до 24, амінокислоти, пептиду, який несе від 2 до 6 амінокислот, або лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, де алкіл, алкеніл та алкініл необов'язково заміщені одним або більше заміників, незалежно вибраних із групи, яка складається із галогену, -OR, -NR'COR'', -SR і -COR'. Переважно D і D' являють собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю.

[186] У дванадцятому варіанті втілення цитотоксична сполука згідно з даним винаходом, відповідно до опису в першому, третьому і дев'ятому варіанті втілення, представлена наступним:

подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою подвійний зв'язок;

Y являє собою -H;

W являє собою C=O;

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>1</sub>', R<sub>2</sub>', R<sub>4</sub> і R<sub>4</sub>' являють собою -H;

одна із R<sub>3</sub> або R<sub>3</sub>' необов'язково являє собою зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою, а інша являє собою -H;

R<sub>6</sub> являє собою -OMe;

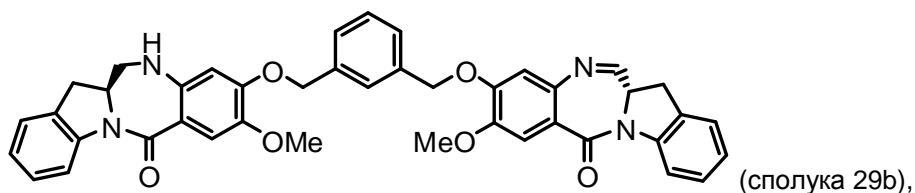
Z і Z' являють собою -CH<sub>2</sub>;

X являє собою -H;

Y' являє собою -H; а

A і A' являють собою -O-.

[187] У тринадцятому варіанті втілення цитотоксична сполука згідно з даним винаходом являє собою:



або її фармацевтично прийнятною сіллю.

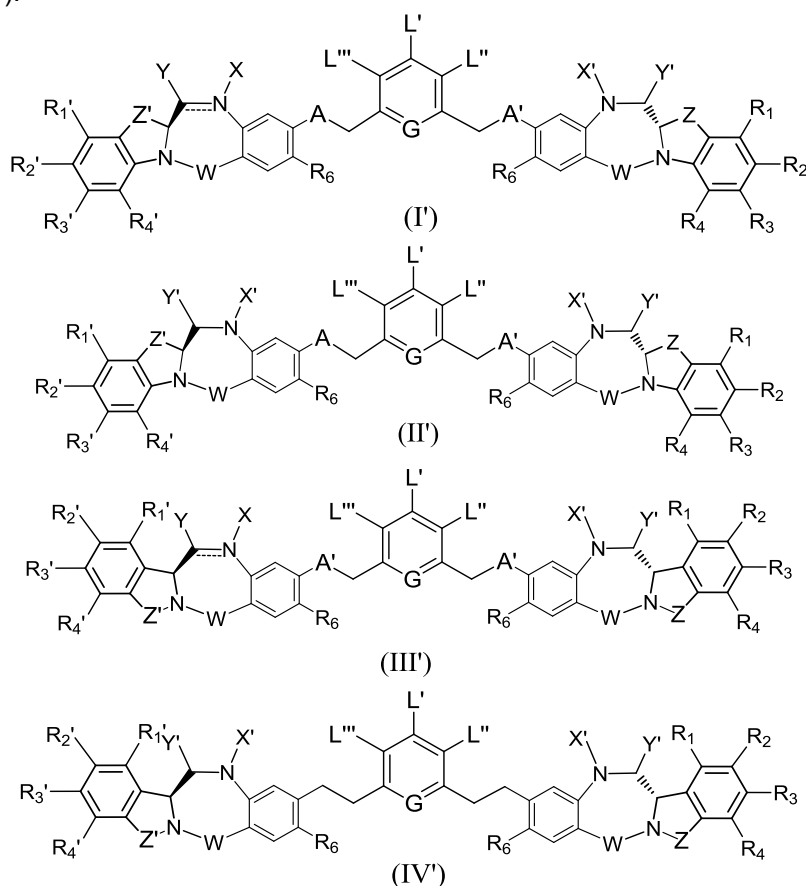
[188] В одному варіанті втілення сполуку 29b можна використовувати у способах згідно з даним винаходом, описаних тут. У кращому варіанті втілення сполуку 29b можна використовувати для лікування проліферативного розладу, наприклад, раку.

[189] У ще одному варіанті втілення сполуку 29b можна використовувати для скринінгу ліній клітин з метою ідентифікації ліній клітин, чутливих до бензодіазепінових сполук, наприклад, похідних бензодіазепіну, описаних тут.

Лікарські сполуки і сполуки лікарська речовина-лінкер

[190] Цитотоксичні сполуки, описані вище, включають зв'язуючу групу із приєднаною до неї реакційноздатною групою; зазначені сполуки можуть виникати в результаті взаємодії біфункціонального зшиваючого реагенту з "безлінкерними" сполуками з утворенням так званих сполук лікарська речовина-лінкер. У якості альтернативи лікарські сполуки, які в інших аспектах ідентичні сполукам лікарська речовина-лінкер, але не містять лінкера, також входять у рамки даного винаходу.

[191] Так, у деяких варіантах втілення даний винахід забезпечує цитотоксичну сполуку, яка не містить зв'язуючої групи, але, можливо, здатна взаємодіяти з біфункціональним зшиваючим агентом з утворенням сполуки згідно з винаходом, наприклад, будь-якої зі сполук згідно з вищеописаними специфічними варіантами втілення з 1-го по 12-й; або з утворенням кон'югату з агентом, який зв'язується із клітинами, згідно з винаходом (наприклад, кон'югату, описаного нижче). Типова безлінкерна цитотоксична сполука згідно з даним винаходом включає сполуку 29b відповідно до 13-го специфічного варіанту втілення, описаного вище. Безлінкерні цитотоксичні сполуки згідно з даним винаходом представлені будь-якою з наступних формул (I'), (II'), (III') або (IV'):



або її фармацевтично прийнятною сіллю, де:

подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою одинарний зв'язок або подвійний зв'язок, за умови,

що, коли вона являє собою подвійний зв'язок, X відсутня, а Y являє собою -H або лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, а коли вона являє собою одинарний зв'язок, X являє собою -H або аміноблокуючу групу; переважно подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою подвійний зв'язок;

5 Y являє собою -H або групу, яка відходить, вибрану із -OR, -OCOR', -OCOOR', -CONR'R'', -NR'R'', -NR'COR'', -NR'NR'R'', необов'язково заміщений 5- або 6-членний азот-вмісний гетероцикл (наприклад, піперидин, тетрагідропірол, піразол, морфолін і т.д.), гуанідиній, представлений -NR'(C=NH)NR'R'', амінокислоту або пептид, представлений -NRCOP', причому P' являє собою амінокислоту або поліпептид, який містить від 2 до 20 амінокислотних залишків, 10 -SR, -SOR', -SO<sub>2</sub>M, -SO<sub>3</sub>M, -OSO<sub>3</sub>M, галоген, ціаногрупу та азидну групу, причому M являє собою -H або катіон, наприклад, Na<sup>+</sup> або K<sup>+</sup>. Переважно M являє собою -H або Na<sup>+</sup>; переважно Y вибрана із -SO<sub>3</sub>M, -OH, -OMe, -OEt або -NHOH. Більш переважно Y являє собою -SO<sub>3</sub>M або -OH; або

15 Y являє собою сульфат (HSO<sub>3</sub>, HSO<sub>2</sub> або сіль HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>3</sub><sup>2-</sup> або HSO<sub>2</sub><sup>-</sup>, утворену катіоном), метабісульфіт (H<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), моно-, ди-, три- і тетратіофосфат (PO<sub>3</sub>SH<sub>3</sub>, PO<sub>2</sub>S<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, POS<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, PS<sub>4</sub>H<sub>2</sub> або сіль PO<sub>3</sub>S<sup>3-</sup>, PO<sub>2</sub>S<sub>2</sub><sup>3-</sup>, POS<sub>3</sub><sup>3-</sup> або PS<sub>4</sub><sup>3-</sup>, утворену катіоном), складний ефір тіофосфату (R<sup>i</sup>O)<sub>2</sub>PS(OR<sup>i</sup>), R<sup>i</sup>S-, R<sup>i</sup>SO, R<sup>i</sup>SO<sub>2</sub>, R<sup>i</sup>SO<sub>3</sub>, тіосульфат (HS<sub>2</sub>O<sub>3</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), дитіоніт (HS<sub>2</sub>O<sub>4</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), фосфордитіоат (P(=S)(OR<sup>k</sup>)(S)(OH) або його сіль, утворену катіоном), гідроксамову кислоту (R<sup>k</sup>C(=O)NOH або 20 сіль, утворену катіоном), формальдегідсульфоксилат (HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup> або сіль HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup>, утворену катіоном, наприклад, HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup>Na<sup>+</sup>) або їх суміш, де R<sup>i</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю і заміщений щонайменше одним замісником, вибраним із -N(R<sup>l</sup>)<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>H, -SO<sub>3</sub>H і -PO<sub>3</sub>H; R<sup>l</sup> необов'язково може бути додатково заміщений замісником для алкілу, описаним тут; R<sup>l</sup> являє собою лінійний або розгалужений 25 алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю; R<sup>k</sup> являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, арил, гетероцикліл або гетероарил; переважно Y являє собою аддукт бісульфіту, гідросульфиту або метабісульфіту або їх солей (наприклад, солі натрію);

R, в кожному випадку незалежно, вибрана із групи, яка складається із -H, необов'язково 30 заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup>, необов'язково заміщеного арилу, який містить від 6 до 18 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню і сірки, або необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного 35 кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P;

R' і R'' є однаковими або різними і, незалежно, вибрані із -H, -OH, -OR, -NHR, -NR<sub>2</sub>, -COR, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup> і 40 необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P;

R<sup>c</sup> являє собою -H або заміщений або незаміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю;

n являє собою ціле число від 1 до 24;

W вибрана із C=O, C=S, CH<sub>2</sub>BH, SO і SO<sub>2</sub>;

45 X' вибрана із групи, яка складається із -H, -OH, аміноблокуючої групи, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup>, необов'язково заміщеного арилу, який містить від 6 до 18 атомів вуглецю (наприклад, фенілу), необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, 50 незалежно вибраних із азоту, кисню і сірки, і необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P. Переважно X' являє собою -H, -OH або -Me. Більш переважно X' являє собою -H;

Y' вибрана із групи, яка складається із -H, оксогрупи, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів 55 вуглецю, необов'язково заміщеного 6-18-членного арилу, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню і сірки, необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів. Переважно Y' вибрана із -H або оксогрупи. Більш переважно Y' являє собою -H;

60 кожна із R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>1</sub>', R<sub>2</sub>', R<sub>3</sub>' і R<sub>4</sub>', незалежно, вибрана із групи, яка складається із -H,

необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-R^c$ , галогену, гуанідинію  $[-NH(C=NH)NH_2]$ ,  $-OR$ ,  $-NR'R''$ ,  $-NO_2$ ,  $-NCO$ ,  $-NR'COR''$ ,  $-SR$ , сульфоксиду, представленого  $-SOR'$ , сульфону, представленого  $-SO_2R'$ , сульфонату  $-SO_3M^+$ , сульфату  $-OSO_3M^+$ , сульфонаміду, представленого  $-SO_2NR'R''$ , ціаногрупи, азидної групи,  $-COR'$ ,  $-OCOR'$  і  $-OCONR'R''$ . Переважно 1, 2, 3 або всі із  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_2$  і  $R_3$  являють собою  $-H$ ;

$R_6$  являє собою  $-H$ ,  $-R$ ,  $-OR$ ,  $-SR$ ,  $-NR'R''$ ,  $-NO_2$ , галоген,  $-OR^c$  або  $-SR^c$ , де  $R^c$  являє собою  $-H$ , лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю. Переважно  $R_6$  являє собою  $-OMe$  або  $-SMe$ . Ще більш переважно  $R_6$  являє собою  $-OMe$ ;

$Z$  і  $Z'$ , незалежно, вибрані із  $-(CH_2)_n-$ ,  $-(CH_2)_n-CR_7R_8-(CH_2)_{na}-$ ,  $-(CH_2)_n-NR_9-(CH_2)_{na}-$ ,  $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_{na}-$  і  $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_{na}-$ ;

$n$  і  $na$  є однаковими або різними і вибрані із 0, 1, 2 і 3;

$R_7$  і  $R_8$  є однаковими або різними, і кожна із них, незалежно, вибрана із  $-H$ ,  $-OH$ ,  $-SH$ ,  $-COOH$ ,  $-NHR'$ , мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-$ , амінокислоти, пептидної одиниці, яка несе від 2 до 6 амінокислот, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

$R_9$ , незалежно, вибрана із  $-H$ , необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-$ ;

$A$  і  $A'$  є однаковими або різними і, незалежно, вибрані із  $-O-$ , оксо  $-(C(=O)-)$ ,  $-CRR'O-$ ,  $-CRR'-$ ,  $-S-$ ,  $-CRR'S-$ ,  $-N(R_5)-$  і  $-CRR'N(R_5)-$ . Переважно  $A$  і  $A'$  є однаковими або різними і вибрані із  $-O-$  і  $-S-$ . Більш переважно  $A$  і  $A'$  являють  $-O-$ ;

$R_5$ , в кожному випадку незалежно, являє собою  $-H$  або необов'язково заміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

$L'$ ,  $L''$  і  $L'''$  є однаковими або різними і, незалежно, вибрані із  $-H$ , галогену, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, галоалкілу, алкокси, галоалкокси,  $-NO_2$  або  $-CN$ ;

$G$  вибрана із  $-CH-$  або  $-N-$ .

[192] У деяких варіантах втілення подвійна лінія  $\equiv$  між  $N$  і  $C$  являє собою одинарний зв'язок,  $Y$  не є  $-H$ .

[193] У деяких варіантах втілення подвійна лінія  $\equiv$  між  $N$  і  $C$  являє собою одинарний зв'язок або подвійний зв'язок, за умови, що, коли вона є подвійним зв'язком,  $X$  відсутня і  $Y$  являє собою  $-H$ , а коли вона являє собою одинарний зв'язок,  $X$  вибрана із  $-H$  або аміноблокуючої групи (переважно  $X$  являє собою  $-H$ );  $W$  являє собою  $C=O$ ;  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_1'$ ,  $R_2'$ ,  $R_3'$  і  $R_4'$  являють собою  $-H$ ;  $Z$  і  $Z'$  являють собою  $-CH_2-$ ; як  $A$ , так і  $A'$  являють собою  $-O-$ ;  $W$  являє собою  $-(C=O)-$ ;  $G$  являє собою  $-CH-$ ;  $R_6$  являє собою  $-H$  або необов'язково заміщений  $C1-C10$  лінійний,  $C1-C10$  розгалужений або  $C3-C7$  циклічний алкіл,  $-O$ -алкіл або  $-O$ -галоалкіл, наприклад,  $-OMe$ ;  $X'$  вибрана із групи, яка складається із  $-H$ ,  $-OH$ , заміщеного або незаміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, фенілу та аміноблокуючої групи; а  $Y'$  вибрана із групи, яка складається із  $-H$ , оксогрупи, заміщеного або незаміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю.

[194] Переважно, якщо  $Y$  не являє собою  $-H$ ,  $Y$  вибрана із  $-OR$ ,  $-OCOR'$ ,  $-SR$ ,  $-NR'R''$ ,  $-SO_3M$ ,  $-SO_2M$  або  $-OSO_3M$ , де  $M$  являє собою  $-H$  або катіон, наприклад,  $Na^+$ ,  $K^+$ . Переважно  $Y$  вибрана із  $-H$ ,  $-OH$ ,  $-OMe$ ,  $-OEt$ ,  $-NHON$  або  $-SO_3M$  (наприклад,  $Y$  являє собою  $-OH$ ,  $-OMe$ ,  $-OEt$ ,  $-NHON$  або  $-SO_3M$ ). Ще більш переважно  $Y$  являє собою  $-H$ ,  $-OH$  або  $-SO_3M$  (наприклад,  $Y$  являє собою  $-OH$  або  $-SO_3M$ ), переважно  $M$  являє собою  $-H$  або  $Na^+$ .

[195] У деяких варіантах втілення подвійна лінія  $\equiv$  між  $N$  і  $C$  являє собою одинарний зв'язок або подвійний зв'язок, за умови, що, коли вона є подвійним зв'язком,  $X$  відсутня і  $Y$  є  $-H$ , а коли вона є одинарним зв'язком,  $X$  вибрана із  $-H$  або аміноблокуючої групи (переважно  $X$  являє собою  $-H$ );  $W$  являє собою  $C=O$ ;  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_1'$ ,  $R_2'$ ,  $R_3'$ ,  $R_4'$ ,  $X$  і  $Y$  являють собою  $-H$ ;  $Z$  і  $Z'$  являють собою  $-CH_2-$ ; як  $A$ , так і  $A'$  являє собою  $-O-$ ;  $W$  являє собою  $-(C=O)-$ ;  $G$  являє собою  $-CH-$ ;  $R_6$  являє собою  $-H$  або необов'язково заміщений  $C1-C10$  лінійний,  $C1-C10$  розгалужений або  $C3-C7$  циклічний алкіл,  $-O$ -алкіл або  $-O$ -галоалкіл, наприклад,  $-OMe$ .

[196] Біфункціональні зшиваючі агенти можуть бути будь-якими біфункціональними лінкерами, відомими в даній галузі техніки. Наприклад, біфункціональні лінкери, які можна використовувати для виготовлення сполук лікарська речовина-лінкер, є лінкерами, які утворюють дисульфідні зв'язки, прості тіоефірні зв'язки, кислотолабільні зв'язки, фотолабільні зв'язки, пептидазолабільні зв'язки та естеразолабільні зв'язки із цитотоксичними сполуками (див. наприклад, патенти США 5208020; 5475092; 6441163; 6716821; 6913748; 7276497;

7276499; 7368565; 7388026 і 7414073, включені в даний документ за допомогою посилання). Переважно біфункціональні зшиваючі агенти є агентами, які утворюють дисульфідні зв'язки, прості тіоефірні зв'язки і пептидазолабільні зв'язки із цитотоксичними сполуками. Інші біфункціональні зшиваючі агенти, які можна використовувати у даному винаході, включають

5 нерозщеплювані лінкери, наприклад, лінкери, описані в публікації патенту США № 2005/0169933, або заряджені лінкери або гідрофільні лінкери і описані в US 2009/0274713, US 2010/01293140 і WO 2009/134976, кожен із яких спеціально включений в даний документ шляхом посилання. Біфункціональні зшиваючі агенти, які можна використовувати для виготовлення сполук (лікарська речовина-лінкер) згідно з даним винаходом, також включають сполуки, описані в

10 Thermo Scientific Pierce Crosslinking Technical Handbook, зміст якої повністю включений в даний документ за допомогою посилання.

Синтез цитотоксичних сполук

[197] Типові способи одержання цитотоксичних димерних сполук згідно з даним винаходом показані на Фіг. 1-11. Димери одержали шляхом взаємодії мономера з лінкерними сполуками, які володіють двома групами, які відходять, наприклад, атомом галогену, трифлатом, мезилатом або тозилатом, наприклад, описаними для синтезу 1с на Фіг. 1. Синтез типових димерів, які несуть тіольну або дисульфідну групу для забезпечення приєднання до агента, який зв'язується із клітинами за допомогою відновлюваних або невідновлюваних зв'язків, показаний на Фіг. 1-5, 7, 8 і 10. На Фіг. 1 лінкер, який містить коротку поліетиленгліколеву групу та алкілдисульфід, отриманий за допомогою відновлювального амінування 1а. Перетворення 1b на відповідний мезилат і приєднання до мономера IBD (індолбензодіазепіну) дозволило одержати димер 1с, який відновлювали до моноіміну, перетворювали на вільну тіольну групу і приєднували до 2 з одержанням сполуки 1g згідно з даним винаходом. На Фіг. 3 одержували і приєднували модифіковану форму мономера IBD з одержанням димера згідно з даним

20 винаходом, у якому відновлений імін перетворювали на лінкер. На Фіг. 4 описаний димер, який володіє короткою поліетиленгліколевою групою і аміддисульфідом, який відновлювали до тіолу 4с і перетворювали на реакційноздатний складний ефір. На Фіг. 5 описаний синтез піридилдисульфід-вмісного лінкера 5е, який перетворювали на моноіміновий тіол 5і згідно з даним винаходом перед перетворенням на реакційноздатний складний ефір. Синтез типових димерів, які володіють лінкерами, здатними взаємодіяти з агентами, які зв'язуються із клітинами, отриманих шляхом перетворення метилових ефірів на відповідні реакційноздатні ефіри групи, яка відходить, наприклад, але не обмежуючись цим, N-гідроксисукцинімідні ефіри, N-гідроксифталімідні ефіри, N-гідроксисульфосукцинімідні ефіри, пара-нітрофенілові ефіри, пентафторфенілові ефіри, показаний на Фіг. 6, 9 і 11.

[198] Типові способи одержання цитотоксичних димерних сполук згідно з даним винаходом, які підходять для одноетапного кон'югування з агентом, який зв'язується із клітинами, показані на Фіг. 1 і 12-19. У всіх зазначених прикладах димер, який містить тіольну групу, піддають взаємодії з біфункціональним зшиваючим реагентом, який володіє реакційноздатною групою, наприклад, але не обмежуючись цим, тіопіридилом, малеїдом, йодидом, бромідом або тозилатом, з одного боку, і реакційноздатним замінником, який підходить для взаємодії з агентом, який зв'язується із клітинами, наприклад, але не обмежуючись цим, N-гідроксисукцинімідними ефірами, N-гідроксифталімідними ефірами, N-гідроксисульфосукцинімідними ефірами, паранітрофеніловими ефірами, пентафторфеніловими ефірами.

[199] Альтернативні способи синтезу для одержання типових цитотоксичних димерних сполук згідно з даним винаходом показані на Фіг. 20-21. На Фіг. 20 синтез моновідновлювального димера (тобто, який містить одну іміногрупу) здійснюють згідно зі способом двоетапного приєднання, при якому відновлену форму мономера спочатку приєднують до лінкера з наступним приєднанням до мономера IBD, або одержують димер, використовуючи при приєднанні до реакційноздатного лінкера суміш як відновленого мономера, так і мономера IBD. У той час як дивідновлювальний димер потенційно є побічним продуктом другого шляху синтезу, описаного вище, на Фіг. 21 показаний більш прямий шлях, при якому відновлений мономер безпосередньо приєднаний до обох груп лінкера.

Агенти, які зв'язуються із клітинами

[200] Ефективність кон'югатів згідно з винаходом як терапевтичних агентів залежить від ретельного добору відповідного агента, який зв'язується із клітинами. Агенти, які зв'язуються із клітинами, можуть бути агентами будь-якого типу, відомого в цей час, або досліджуваними агентами, і включають пептиди та непептидні сполуки. У загальному випадку вони можуть бути антитілами (зокрема, моноклональними антитілами), лімфокінами, гормонами, факторами

60 росту, вітамінами (наприклад, фолатом і т.д., здатним зв'язуватися з рецептором поверхні



клітин, наприклад, рецептором фолату), молекулами-переносниками поживних речовин (наприклад, трансферином) або будь-якою іншою молекулою або речовиною, яка зв'язується із клітинами.

[201] У деяких варіантах втілення агенти, які зв'язуються із клітинами, є білками або поліпептидами, або сполуками, які включають білки або поліпептиди. Переважно білки або поліпептиди включають один або більше залишків Lys з  $\text{NH}_2$ -групами бічного ланцюга. У якості альтернативи або доповнення білки або поліпептиди включають один або більше залишків Cys. -SH-групи бічного ланцюга залишків Cys можуть бути інтактними або можуть перебувати у складі дисульфідного зв'язку, який можна відновити. Переважно відновлення дисульфідного(их) зв'язку(ів) не виявляє істотного негативного впливу на функцію зв'язування із клітинами білків або поліпептидів (наприклад, у випадку антитіла або його антиген-зв'язуючого фрагмента відновлення дисульфідних зв'язків не приводить до істотного посилення дисоціації легких ланцюгів/важких ланцюгів).

[202] - $\text{NH}_2$ -групи бічного ланцюга Lys і/або -SH-групи бічного ланцюга Cys можуть бути ковалентно з'єднані з лінкерами, які, у свою чергу, з'єднані з димерними сполуками згідно з винаходом, тим самим здійснюючи кон'югування агентів, які зв'язуються із клітинами, з димерними сполуками згідно з винаходом. Кожні білкові агенти, які зв'язуються із клітинами, можуть містити декілька - $\text{NH}_2$ -груп бічних ланцюгів Lys і/або -SH-груп бічного ланцюга Cys, доступних для зв'язування сполуки згідно з винаходом за допомогою біфункціональних зшиваючих агентів.

[203] Зокрема, приклади агентів, які зв'язуються із клітинами, які можна використовувати, включають:

поліклональні антитіла;

моноклональні антитіла;

фрагменти антитіл, наприклад, Fab, Fab' і  $\text{F(ab')}_2$ , Fv, мінітіла, діатіла, тритіла, тетратіла (Parham, J. Immunol. 131:2895-2902 (1983); Spring et al. J. Immunol. 113:470-478 (1974); Nisonoff et al. Arch. Biochem. Biophys. 89:230-244 (1960), Kim et al., Mol. Cancer Ther., 7: 2486-2497 (2008), Carter, Nature Revs., 6: 343-357 (2006));

інтерферони (наприклад  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ );

лімфокіни, наприклад, IL-2, IL-3, IL-4, IL-6;

гормони, наприклад, інсулін, TRH (тиреотропін-рилізінг-гормон), МСГ (меланотропін), стероїдні гормони, наприклад, андрогени та естрогени;

фактори росту і колонієстимулюючі фактори, наприклад, ЕФР, ТФР-альфа, FGF, ФРЕС, ГКСФ, МКСФ і ГМ-КСФ (Burgess, Immunology Today 5:155-158 (1984));

трансферин (O'Keefe et al. J. Biol. Chem. 260:932-937 (1985));

вітаміни, наприклад, фолат;

Білкові каркасні структури на основі консенсусної послідовності повторів фібронектину III типу (FN3) (також відомих як Centyrins; див. публікацію патенту США 2010/0255056, включену в даний документ за допомогою посилання);

Сконструйовані білки з анкіриновим повтором (DARPin; заявки на патент США під номерами 20040132028; 20090082274; 20110118146; 20110224100, включені в даний документ за допомогою посилання), C. Zahnd et al. 2010, Cancer Res., 70; 1595-1605, включена в даний документ за допомогою посилання); і

Каркасні білки домена фібронектину (аднектини: заявки на патент США під номерами 20070082365; 20080139791, включені в даний документ за допомогою посилання).

[204] Методики моноклональних антитіл забезпечують продукцію надзвичайно специфічних агентів, які зв'язуються із клітинами, у вигляді специфічних моноклональних антитіл. Зокрема, добре відомі в даній галузі техніки методики створення моноклональних антитіл, які продукуються шляхом імунізації мишей, пацюків, хом'яків або будь-якого іншого ссавця антигеном, який цікавить, наприклад, інтактною клітиною-мішенню, антигенами, виділеними із клітини-мішені, цільним вірусом, ослабленим цільним вірусом і вірусними білками, наприклад, білками оболонки вірусу. Крім того, можна використовувати сенсibilізовані клітини людини. Ще одним способом створення моноклональних антитіл є використання фагових бібліотек scFv (одноланцюгових варіабельних областей), зокрема, scFv людини (див., наприклад, Griffiths et al., патенти США під номерами 5885793 і 5969108; McCafferty et al., WO 92/01047; Liming et al., WO 99/06587). Крім того, можна використовувати антитіла з модифікованою поверхнею, описані в патенті США № 5639641, а також химерні та гуманізовані антитіла. Вибір підходящого агента, який зв'язується із клітинами, залежить від конкретної популяції клітин, яка є потенційною мішенню, однак у цілому кращими є моноклональні антитіла людини, якщо доступне відповідне антитіло.

[205] Наприклад, моноклональне антитіло MY9 є IgG1-антитілом миші, яке специфічно зв'язується з антигеном CD33 {J.D. Griffin et al 8 Leukemia Res., 521 (1984)} і може використовуватися, якщо клітини-мішені експресують CD33, як при гострому мієлобластному лейкозі (ГМЛ). Агент, який зв'язує клітини, може бути будь-якою сполукою, здатною зв'язувати

клітину специфічним або неспецифічним чином. Як правило, зазначені агенти можуть бути антитілами (зокрема, моноклональними антитілами і фрагментами антитіл), інтерферонами, лімфокинами, гормонами, факторами росту, вітамінами, транспортними молекулами поживних речовин (наприклад, трансферин) або будь-якою іншою молекулою або речовиною, яка зв'язується із клітинами.

[206] Якщо агент, який зв'язується із клітинами, є антитілом, він зв'язується з антигеном, який є поліпептидом і може бути трансмембранною молекулою (наприклад, рецептором) або лігандом, наприклад, фактором росту. Типові антигени включають такі молекули як ренін; гормон росту, включаючи гормон росту людини і бичачий гормон росту; рилізінг-фактор гормона росту; паратиреоїдний гормон; тиреотропний гормон; ліпопротейні; альфа-1-антитрипсин; А-ланцюг інсуліну; В-ланцюг інсуліну; проінсулін; фолікулостимулюючий гормон; кальцитонін; лютеїнізуючий гормон; глюкагон; фактори згортання крові, наприклад, фактор vтс, фактор IX, тканинний фактор (TF) і фактор Віллебранда; антикоагулянти, наприклад, протейні С; передсердний натрійуретичний фактор; сурфактант легенів; активатор плазміногену, наприклад, урокіназа сечі людини або тканинний активатор плазміногену (t-PA); бомбезин; тромбін; гемопоетичний фактор росту; фактори некрозу пухлин-альфа і -бета; енкефаліназа; RANTES (хемокін, який експресується і виділяється Т-клітинами при активації); макрофагальний білок запалення людини (MIP-1-альфа); сироватковий альбумін, наприклад, людський сироватковий альбумін; мюллерова інгібуюча субстанція; А-ланцюг релаксину; В-ланцюг релаксину; прорелаксин; пептид, пов'язаний з гонадотропіном миші; мікробний білок, наприклад, бета-лактамаза; ДНКаза; IgE; антиген, асоційований із цитотоксичними Т-лімфоцитами (CTLA), наприклад, CTLA-4; інгібін; активін; фактор росту ендотелію судин (ФРЕС); рецептори гормонів або факторів росту; білок А або D; ревматоїдні фактори; нейротрофічний фактор, наприклад, нейротрофічний фактор кісток (BDNF), нейротрофін-3, -4, -5 або -6 (NT-3, NT4, NT-5 або NT-6) або фактор росту нервів, наприклад, NGF-β; тромбоцитарний фактор росту (PDGF); фактор росту фібробластів, наприклад, aFGF і bFGF; рецептор 2 фактора росту фібробластів (FGFR2); епідермальний фактор росту (ЕФР); трансформуючий ростовий фактор (ТРФ), наприклад, ТРФ-альфа і ТРФ-бета, включаючи ТРФ-β1, ТРФ-β2, ТРФ-β3, ТРФ-β4 або ТРФ-β5; інсуліноподібний фактор росту-I і -II (ІФР-I і ІФР-II); дез(1-3)-ІФР-I (ІФР-I головного мозку); білки, які зв'язують інсуліноподібний фактор росту, меланотрансферин, ЕpCAM, GD3, FLT3, PSMA, PSCA, MUC1, MUC16, STEAP, CEA, TENB2, рецептори ЕpнА, рецептори ЕpнВ, рецептор фолату, FOLR1, мезотелін, cрipto, альфа, бета<sub>6</sub>, інтегрини, ФРЕС, VEGFR, EGFR, рецептор трансферину, IRTA1, IRTA2, IRTA3, IRTA4, IRTA5; CD-білки, такі як CD2, CD3, CD4, CD5, CD6, CD8, CD11, CD14, CD19, CD20, CD21, CD22, CD25, CD26, CD28, CD30, CD33, CD36, CD37, CD38, CD40, CD44, CD52, CD55, CD56, CD59, CD70, CD79, CD80, CD81, CD103, CD105, CD134, CD137, CD138, CD152, або антитіло, яке зв'язується з одним або більше пухлиноасоційованих антигенів або рецепторів поверхні клітин, описані в публікації патенту США № 20080171040 або публікації патенту США № 20080305044 і повністю включені за допомогою посилання; еритропоетин; остеоіндуктивні фактори; імунотоксини; кістковий морфогенетичний білок (КМБ); інтерферон, наприклад, інтерферон-альфа, -бета і -гама; колонієстимулюючі фактори (КСФ), наприклад, МКСФ, ГМ-КСФ і ГКСФ; інтерлейкіни (IL), наприклад, від IL-1 до IL-10; супероксиддисмутаза; Т-клітинні рецептори; поверхневі білки мембран; стимулятор гемолізу (DAF-фактор); вірусний антиген, наприклад, фрагмент оболонки ВІЛ; транспортні білки; "хомінг"-рецептори; адресини; регуляторні білки; інтегрини, наприклад, CD11a, CD11b, CD11c, CD18, ICAM, VLA-4 і VCAM; пухлиноасоційований антиген, наприклад, рецептор HER2, HER3 або HER4; ендоглін, c-Met, c-kit, 1GF1R, PSGR, NGEP, PSMA, PSCA, LGR5, B7H4 і фрагменти будь-якого з перерахованих вище поліпептидів.

[207] Крім того, ГМ-КСФ, який зв'язується з мієлоїдними клітинами, можна використовувати як агент, який зв'язує хворі клітини при гострому мієлолейкозі. IL-2, який зв'язується з активованими Т-клітинами, можна використовувати для профілактики відторгнення трансплантату, для лікування і профілактики реакції трансплантат проти хазяїна, а також для лікування гострого Т-клітинного лейкозу. МСГ, який зв'язується з меланоцитами, можна використовувати для лікування меланоми, як і антитіла проти меланоми. Фолієву кислоту можна використовувати для спрямованого впливу на рецептор фолату, який експресується пухлинами яєчників та іншими пухлинами. Епідермальний фактор росту можна використовувати для спрямованого впливу на види плоскоклітинного раку, наприклад, раку легенів і голови, і шиї.

Соматостатин можна використовувати для спрямованого впливу на нейробластоми та інші типи пухлин.

[208] Рак молочної залози і яєчок може бути мішенню естрогену (або аналогів естрогену) або андрогену (або аналогів андрогену), відповідно, використовуваних як агенти, які зв'язуються із клітинами.

[209] В одному варіанті втілення агент, який зв'язується із клітинами, є гуманізованими моноклональними антитілами. У ще одному варіанті втілення агент, який зв'язується із клітинами, є huMy9-6 або іншими спорідненими антитілами, описаними в патентах США під номерами 7342110 і 7557189 (включених у даний опис за допомогою посилання). У ще одному варіанті втілення агент, який зв'язується із клітинами, є антитілом проти рецептора фолату, описаним у попередніх заявках США під номерами 61/307797, 61/346595, 61/413172 і заявці на патент США № 13/033723 (опублікованій як US 2012-0009181 A1). Зміст усіх зазначених заявок повністю включений в даний документ за допомогою посилання.

[210] У деяких варіантах втілення агент, який зв'язується із клітинами, може бути моноклональним антитілом або його антиген-зв'язуючими фрагментами, критичними для зв'язування антигена з антитілом, описаних тут, наприклад, huMy9-6 або споріднених з ним антитіл, описаних у патентах США під номерами 7342110 і 7557189 (включених у даний документ за допомогою посилання). Зазначені похідні антитіл можуть містити практично однакові або ідентичні (1) CDR 3-області легкого ланцюга і/або важкого ланцюга; (2) CDR1, CDR2 і CDR 3-області легкого ланцюга і/або важкого ланцюга; або (3) області легкого ланцюга і/або важкого ланцюга у порівнянні з антитілом, описаним тут. Послідовності в межах цих областей можуть містити консервативні амінокислотні заміни, у тому числі заміни всередині CDR-областей. Переважно, щоб було не більше 1, 2, 3, 4 або 5 консервативних заміни. У деяких варіантах втілення похідні антитіл містять область легкого ланцюга і/або область важкого ланцюга, щонайменше на 90%, 95%, 99% або 100% ідентичні антитілу, описаному тут. Зазначені похідні антитіл можуть мати практично аналогічну специфічність зв'язування і/або спорідненість до антигена-мішені у порівнянні з антитілом, описаним тут. Переважно значення  $K_d$  і/або  $K_{off}$  похідних антитіл перебувають у межах 10-кратних (вище або нижче), 5-кратних (вище або нижче), 3-кратних (вище або нижче), або 2-кратних (вище або нижче) значень для антитіл, описаних тут. Зазначені похідні антитіл можуть бути повністю людськими антитілами або гуманізованими антитілами, або химерними антитілами. Похідні антитіл можна одержати будь-яким зі способів, відомих у даній галузі техніки.

[211] В одному варіанті втілення антитіло проти рецептора є гуманізованим антитілом або його антиген-зв'язуючим фрагментом, який специфічно зв'язує рецептор 1 фолату людини, причому зазначене антитіло включає: (а) CDR1 важкого ланцюга, яка включає GYFMN (SEQ ID NO:1); CDR2 важкого ланцюга, яка включає RIHPYDGDTFYNQXaa<sub>1</sub>FXaa<sub>2</sub>Xaa<sub>3</sub> (SEQ ID NO:2); і CDR3 важкого ланцюга, яка включає YDGSRAMDY (SEQ ID NO:3) і (б) CDR1 легкого ланцюга, яка включає KASQSVSFAGTSLMH (SEQ ID NO:4), CDR2 легкого ланцюга, яка включає RASNLEA (SEQ ID NO:5); і CDR3 легкого ланцюга, яка включає QQSREYPYT (SEQ ID NO:6); де Xaa<sub>1</sub> вибрана із K, Q, H і R; Xaa<sub>2</sub> вибрана із Q, H, N і R; а Xaa<sub>3</sub> вибрана із G, E, T, S, A і V. Переважно послідовність CDR2 важкого ланцюга включає RIHPYDGDTFYNQKFQG (SEQ ID NO:7).

[212] В ще одному варіанті втілення антитіло проти рецептора фолату є гуманізованим антитілом або його антиген-зв'язуючим фрагментом, який специфічно зв'язує рецептор 1 фолату людини, який включає важкий ланцюг, який має амінокислотну послідовність: QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYFMNWWVKQSPGQSLEWIGRIHPYDGDTFYNQKFQG KATLTVDKSSNTAHMELLSLTSEDFAVYYCTRYDGSRAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:8).

[2013] У ще одному варіанті втілення антитіло проти рецептора фолату є гуманізованим антитілом або його антиген-зв'язуючим фрагментом, який кодується плазмідною ДНК, депонованою в ATCC 7 квітня 2010 року, яка має номери депонування ATCC PTA-10772 і PTA-10773 або 10774.

[214] У ще одному варіанті втілення антитіло проти рецептора фолату є гуманізованим антитілом або його антиген-зв'язуючим фрагментом, який специфічно зв'язує рецептор 1 фолату людини, який включає легкий ланцюг, який має амінокислотну послідовність DIVLTQSPSLAVSLGQPAISCKASQSVSFAGTSLMHWYHQKPGQQPRLLIYRASNLEAGVPDRFSG

SGSKTDFTLNISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV  
 CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ  
 GLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:9); або  
 DIVLTQSPLSLAVSLGQPAISCKASQSVSFAGTSLMHWHYHQPQGGQPRLLIYRASNLEAGVPDRFSG  
 5 SGSKTDFTLTISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV  
 CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ  
 GLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:10).

[215] У ще одному варіанті втілення антитіло проти рецептора фолату є гуманізованим антитілом або його антиген-зв'язуючим фрагментом, який специфічно зв'язує рецептор 1 фолату людини, який включає важкий ланцюг, який має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:8, і легкий ланцюг, який має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:9 або SEQ ID NO:10. Переважно антитіло включає важкий ланцюг, який має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:8, і легкий ланцюг, який має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:10 (hu FOLR1).

[216] У ще одному варіанті втілення антитіло проти рецептора фолату є гуманізованим антитілом або його антиген-зв'язуючим фрагментом, який кодується плазмідною ДНК, депонованою в ATCC 7 квітня 2010 року, яка має номери депонування ATCC PTA-10772 і PTA-10773 або 10774.

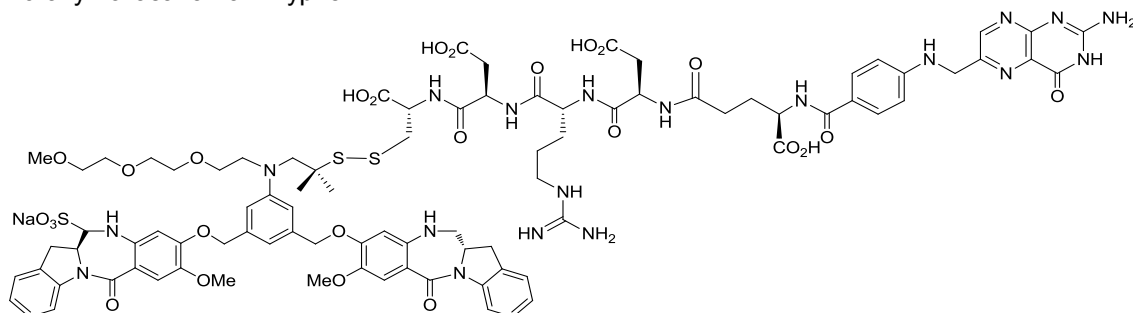
[217] У ще одному варіанті втілення антитіло проти рецептора фолату є гуманізованим антитілом або його антиген-зв'язуючим фрагментом, який включає варіабельний домен важкого ланцюга, щонайменше приблизно на 90%, 95%, 99% або 100% ідентичний QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYFMNWVKQSPGQSLEWIGRIHPYDGDFTFYNQKFQG KATLTVDKSSNTAHMELLSLTSEDFAVYYCTRYDGSRAMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:11), і варіабельний домен легкого ланцюга, щонайменше приблизно на 90%, 95%, 99% або 100% ідентичний

DIVLTQSPLSLAVSLGQPAISCKASQSVSFAGTSLMHWHYHQPQGGQPRLLIYRASNLEAGVPDRFSG  
 25 SGSKTDFTLNISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGGKLEIKR (SEQ ID NO:12); або  
 DIVLTQSPLSLAVSLGQPAISCKASQSVSFAGTSLMHWHYHQPQGGQPRLLIYRASNLEAGVPDRFSG  
 SGSKTDFTLTISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGGKLEIKR (SEQ ID NO:13).

Кон'югати "агент, який зв'язується із клітинами - лікарська речовина"

[218] Даний винахід також забезпечує кон'югати агент, який зв'язується із клітинами /лікарська речовина, які включають агент, який зв'язується із клітинами, приєднаний до однієї або більше цитотоксичних сполук згідно з даним винаходом за допомогою різних лінкерів, включаючи дисульфідні лінкери, прості тіоефірні лінкери, лінкери на основі амідних зв'язків, пептидазолабільні лінкери, кислотолабільні лінкери, естеразолабільні лінкери, не обмежуючись ними.

[219] Типові кон'югати згідно з винаходом являють собою кон'югати антитіло/цитотоксична сполука, фрагмент антитіла/цитотоксична сполука, епідермальний фактор росту (ЕФР)/цитотоксична сполука, меланотропін (МСГ)/цитотоксична сполука, тиреотропін (ТТГ)/цитотоксична сполука, соматостатин/цитотоксична сполука, фолат/цитотоксична сполука, естроген/цитотоксична сполука, аналог естрогену/цитотоксична сполука, андроген/цитотоксична сполука та аналог андрогену/цитотоксична сполука. Типовий кон'югат фолат/цитотоксична сполука, який містить необов'язковий аддукт  $-SO_3^-Na^+$  при імінному зв'язку одного із двох мономерів лікарської речовини, зображений нижче. Типова схема синтезу зазначеного кон'югату показана на Фігурі 54.



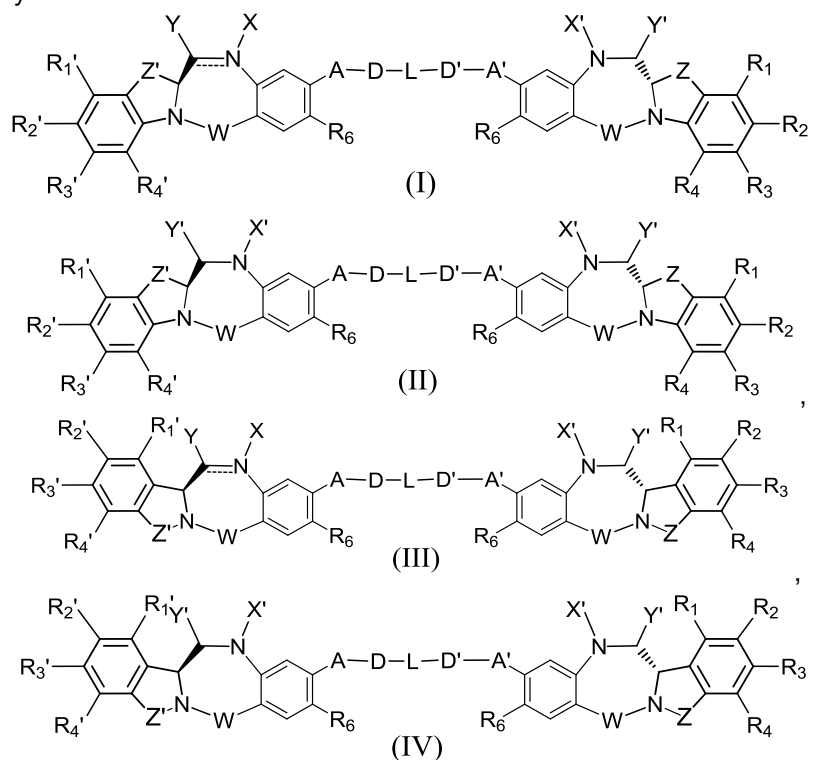
кон'югат фолат/цитотоксична сполука.

[220] У кращому варіанті втілення даний винахід забезпечує кон'югати, які включають індолінбензодіазепінову димерну сполуку (наприклад, сполуки формул (I)-(IV), (IA)-(IVA) і (IB)-(IVB)) і агент, який зв'язується із клітинами, з'єднані за допомогою ковалентного зв'язку. Лінкер може розщеплюватися в області пухлини/небажаних проліферуючих клітин, доставляючи цитотоксичний агент до його мішені різними шляхами. Лінкер може розщеплюватися,

наприклад, за низького pH (гідразон), у відновлювальному середовищі (дисульфід), шляхом протеолізу (амідний/пептидний зв'язок) або шляхом ферментативної реакції (естеразної/глікозидазної).

[221] У кращому аспекті типові цитотоксичні кон'югати згідно з винаходом є кон'югатами антитіло/індолінбензодіазепінова димерна сполука, фрагмент антитіла/індолінбензодіазепінова димерна сполука, епідермальний фактор росту (ЕФР)/індолінбензодіазепінова димерна сполука, меланотропін (МСГ)/індолінбензодіазепінова димерна сполука, тиреотропін (ТТГ)/індолінбензодіазепінова димерна сполука, соматостатин/індолінбензодіазепінова димерна сполука, фолат/індолінбензодіазепінова димерна сполука, естроген/індолінбензодіазепінова димерна сполука, аналог естрогену/індолінбензодіазепінова димерна сполука, інгібітор простатоспецифічного мембранного антигена (PSMA)/індолінбензодіазепінова димерна сполука, інгібітор матриптази/індолінбензодіазепінова димерна сполука, сконструйовані білки з анкіриновими повторами (DARPin)/індолінбензодіазепінова димерна сполука, андроген/індолінбензодіазепінова димерна сполука та аналог андрогену/індолінбензодіазепінова димерна сполука.

[222] Так, у чотирнадцятому специфічному варіанті втілення даний винахід забезпечує кон'югат, який включає: цитотоксичну сполуку і агент, який зв'язується із клітинами (СВА), причому зазначена цитотоксична сполука включає зв'язуючу групу, яка ковалентно приєднує цитотоксичну сполуку до СВА, і зазначена цитотоксична сполука представлена будь-якою з наступних формул:



або її фармацевтично прийнятною сіллю, де:

подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою одинарний зв'язок або подвійний зв'язок, за умови, що, коли вона являє собою подвійний зв'язок, X відсутня, а Y являє собою -H або лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, а коли вона являє собою одинарний зв'язок, X являє собою -H, зв'язуючу групу або аміноблокуючу групу;

Y являє собою -H або групу, яка відходить, вибрану із -OR, -OCOR', -OCOOR', -OCONR'R'', -NR'R'', -NR'COR'', -NR'NR'R'', необов'язково заміщений 5- або 6-членний азот-вмісний гетероцикл (наприклад, піперидин, тетрагідропірол, піразол, морфолін), гуанідиній, представлений -NR'(C=NH)NR'R'', амінокислоту або пептид, представлений -NRCOP', причому P' являє собою амінокислоту або поліпептид, який містить від 2 до 20 амінокислотних залишків, -SR, -SOR', -SO<sub>2</sub>M, -SO<sub>3</sub>M, -OSO<sub>3</sub>M, галоген, ціаногрупу та азидну групу; або

Y являє собою сульфат (HSO<sub>3</sub>, HSO<sub>2</sub> або сіль HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>3</sub><sup>2-</sup> або HSO<sub>2</sub><sup>-</sup>, утворену катіоном), метабісульфіт (H<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), моно-, ди-, три- і тетрагідрофосфат (PO<sub>3</sub>SH<sub>3</sub>, PO<sub>2</sub>S<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, POS<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, PS<sub>4</sub>H<sub>2</sub> або сіль PO<sub>3</sub>S<sup>3-</sup>, PO<sub>2</sub>S<sub>2</sub><sup>3-</sup>, POS<sub>3</sub><sup>3-</sup> або PS<sub>4</sub><sup>3-</sup>, утворену катіоном), складний ефір тіофосфату (R<sup>i</sup>O)<sub>2</sub>PS(OR<sup>i</sup>), R<sup>i</sup>S-, R<sup>i</sup>SO, R<sup>i</sup>SO<sub>2</sub>, R<sup>i</sup>SO<sub>3</sub>, тіосульфат (HS<sub>2</sub>O<sub>3</sub> або сіль

$S_2O_3^{2-}$ , утворену катіоном), дитіоніт ( $HS_2O_4$  або сіль  $S_2O_4^{2-}$ , утворену катіоном), фосфордитіоат ( $P(=S)(OR^k)(S)(OH)$  або його сіль, утворену катіоном), гідроксамову кислоту ( $R^kC(=O)NOH$  або сіль, утворену катіоном), формальдегідсульфоксилат ( $HOCH_2SO_2^-$  або сіль  $HOCH_2SO_2^+$ , утворену катіоном, наприклад,  $HOCH_2SO_2^+Na^+$ ) або їх суміш, де  $R^i$  являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю і заміщений щонайменше одним замісником, вибраним із  $-N(R^j)_2$ ,  $-CO_2H$ ,  $-SO_3H$  і  $-PO_3H$ ;  $R^i$  необов'язково може бути додатково заміщений замісником для алкілу, описаним тут;  $R^j$  являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю;  $R^k$  являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, арил, гетероцикліл або гетероарил; переважно  $Y$  являє собою аддукт бісульфіту, гідросульфиту або метабісульфіту або їх солей (наприклад, солі натрію);

$M$  являє собою  $-H$  або катіон;

$R$ , в кожному випадку незалежно, вибрана із групи, яка складається із  $-H$ , необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$ , необов'язково заміщеного арилу, який містить від 6 до 18 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню і сірки, або необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із  $O$ ,  $S$ ,  $N$  і  $P$ ;

кожна із  $R'$  і  $R''$ , незалежно, вибрана із  $-H$ ,  $-OH$ ,  $-OR$ ,  $-NHR$ ,  $-NR_2$ ,  $-COR$ , необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$  і необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із  $O$ ,  $S$ ,  $N$  і  $P$ ;

$R^c$  являє собою  $-H$  або заміщений або незаміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, або зв'язуючу групу;

$n$  являє собою ціле число від 1 до 24;

$W$  вибрана із  $C=O$ ,  $C=S$ ,  $CH_2BH$ ,  $SO$  і  $SO_2$ ;

$X$  вибрана із  $-H$ , аміноблокуючої групи, зв'язуючої групи, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$ , необов'язково заміщеного арилу, який містить від 6 до 18 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню і сірки, і необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із  $O$ ,  $S$ ,  $N$  і  $P$ ;

$Y$  вибрана із  $-H$ , оксогрупи, зв'язуючої групи, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 6-18-членного арилу, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню і сірки, необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів;

кожна із  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_1'$ ,  $R_2'$ ,  $R_3'$  і  $R_4'$ , незалежно, вибрана із групи, яка складається із  $-H$ , необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-R^c$ , галогену, гуанідинію  $[-NH(C=NH)NH_2]$ ,  $-OR$ ,  $-NR'R''$ ,  $-NO_2$ ,  $-NCO$ ,  $-NR'COR''$ ,  $-SR$ , сульфоксиду, представленого  $-SOR'$ , сульфону, представленого  $-SO_2R'$ , сульфонату  $-SO_3^+M^+$ , сульфату  $-OSO_3^+M^+$ , сульфонаміду, представленого  $-SO_2NR'R''$ , ціаногрупи, азидної групи,  $-COR'$ ,  $-OCOR'$ ,  $-OCONR'R''$  і зв'язуючої групи;

$R_6$  являє собою  $-H$ ,  $-R$ ,  $-OR$ ,  $-SR$ ,  $-NR'R''$ ,  $-NO_2$ , галоген або зв'язуючу групу;

$Z$  і  $Z'$ , незалежно, вибрані із  $-(CH_2)_n^-$ ,  $-(CH_2)_n-CR_7R_8-(CH_2)_{na}^-$ ,  $-(CH_2)_n-NR_9-(CH_2)_{na}^-$ ,  $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_{na}^-$  і  $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_{na}^-$ ;

$n$  і  $na$  є однаковими або різними і вибрані із 0, 1, 2 і 3;

$R_7$  і  $R_8$  є однаковими або різними, і кожна із них, незалежно, вибрана із  $-H$ ,  $-OH$ ,  $-SH$ ,  $-COOH$ ,  $-NHR'$ , мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n^-$ , амінокислоти, пептидної одиниці, яка несе від 2 до 6 амінокислот, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

$R_9$ , незалежно, вибрана із  $-H$ , необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n^-$ ;

$A$  і  $A'$  є однаковими або різними і, незалежно, вибрані із  $-O-$ , оксо  $-(C(=O)-)$ ,  $-CRR'O-$ ,  $-CRR'-$ ,

-S-, -CRR'S-, -NR<sub>5</sub>- і -CRR'N(R<sub>5</sub>)-;

R<sub>5</sub>, в кожному випадку незалежно, являє собою -H або необов'язково заміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

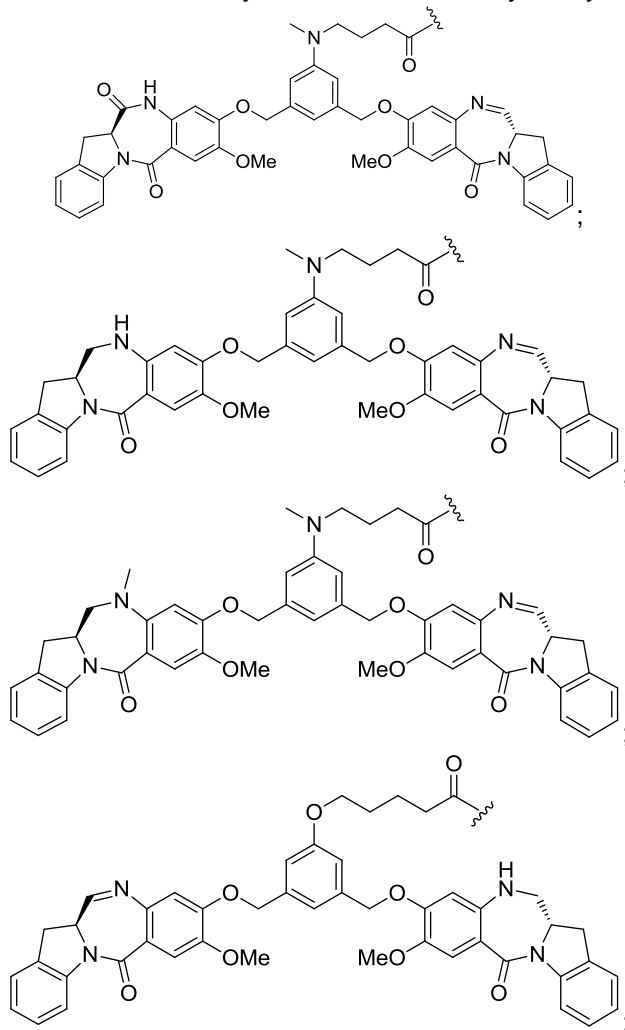
D і D' є однаковими або різними і, незалежно, відсутні або вибрані із групи, яка складається із необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, амінокислоти, пептиду, який несе від 2 до 6 амінокислот, і мономера поліетиленгліколю (-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-;

L відсутня, являє собою зв'язуючу групу, мономер поліетиленгліколю (-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, лінійний, розгалужений або циклічний алкіл або алкеніл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, фенільну групу, 3-18-членне гетероциклічне кільце або 5-18-членне гетероарильне кільце, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P, де алкіл або алкеніл необов'язково заміщені зв'язуючою групою; феніл або гетероциклічне або гетероарильне кільце можуть бути необов'язково заміщені, причому замітник може являти собою зв'язуючу групу.

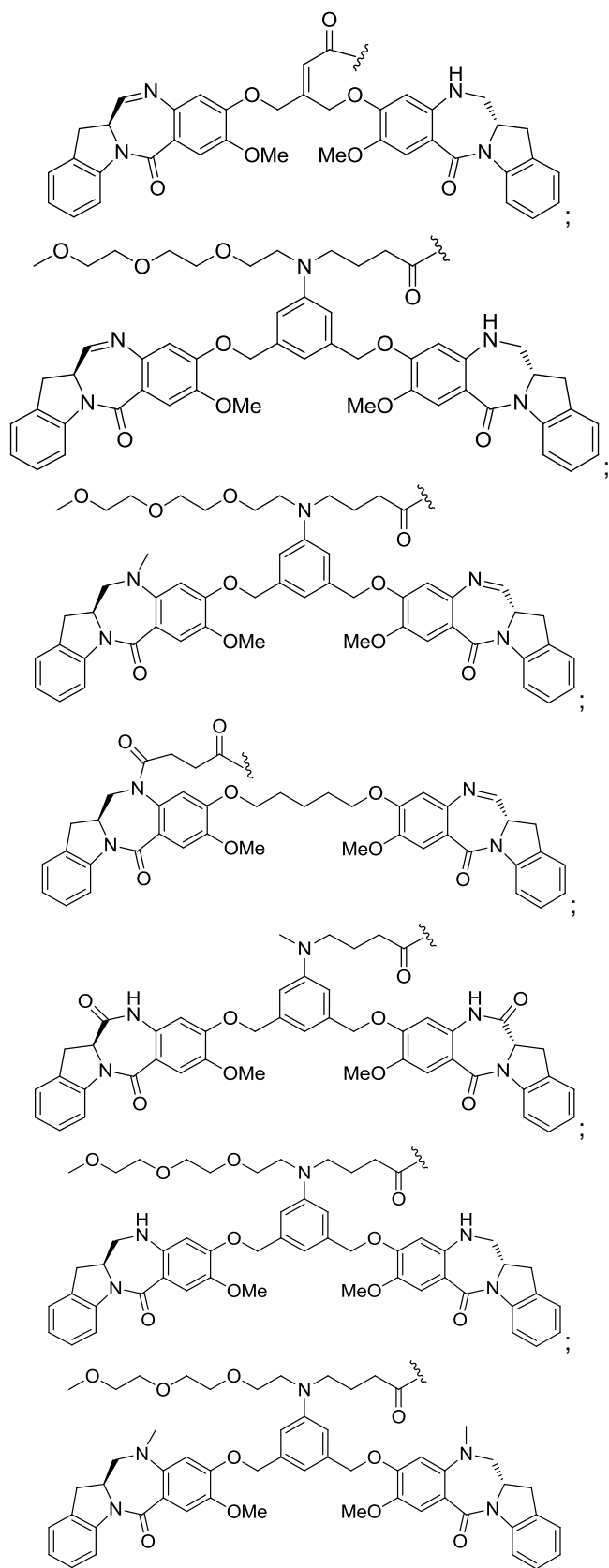
[223] У деяких варіантах втілення X не є зв'язуючою групою. У деяких варіантах втілення подвійна лінія == між N і C являє собою одинарний зв'язок, Y не є -H.

[224] У деяких варіантах втілення Y являє собою групу, яка відходить, вибрану із -OR, -OCOR', -OCOOR', -CONR'R'', -NR'R'', -NR'COR'', -NR'NR'R'', необов'язково заміщений 5- або 6-членний азот-вмісний гетероцикл (наприклад, піперидин, тетрагідропірол, піразол, морфолін і т.д.), гуанідиній, представлений -NR'(C=NH)NR'R'', амінокислоту або пептид, представлений -NRCOP', причому P являє собою амінокислоту або поліпептид, який містить від 2 до 20 амінокислотних залишків, -SR, -SOR', -SO<sub>2</sub>M, -SO<sub>3</sub>M, -OSO<sub>3</sub>M, галоген, ціаногрупу та азидну групу.

[225] У деяких варіантах втілення сполука не являє собою будь-яку з наступних сполук:



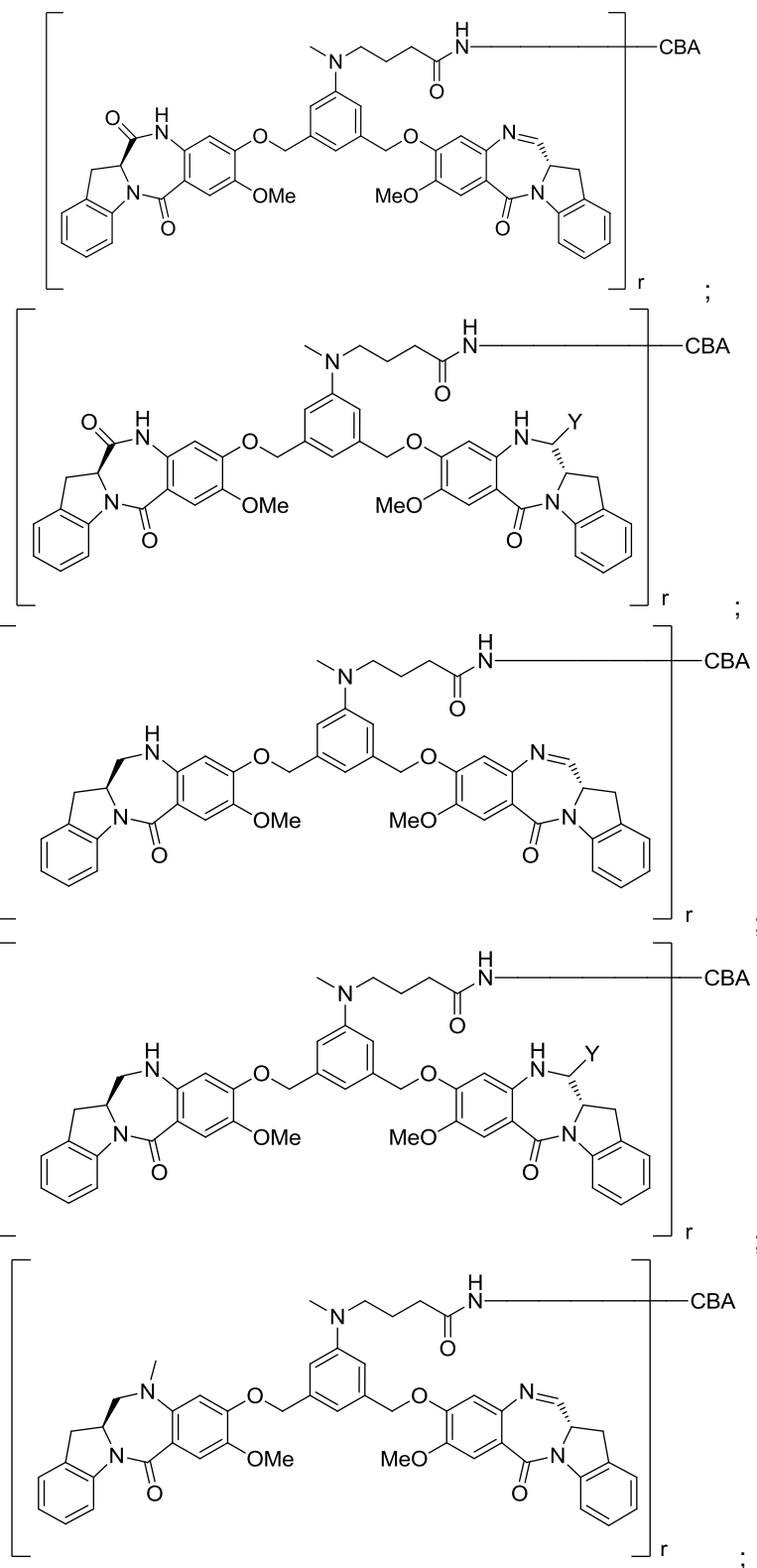
25

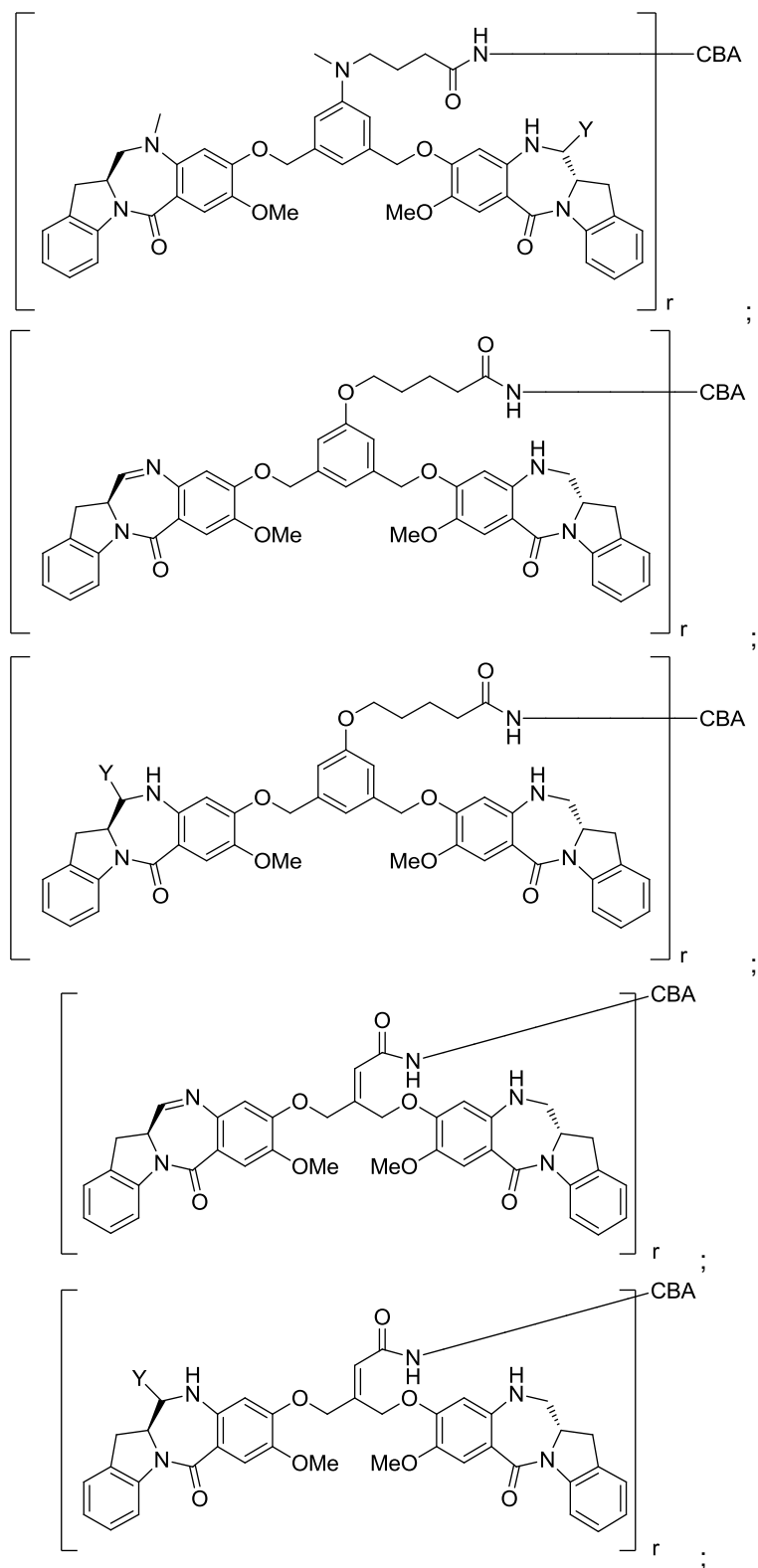


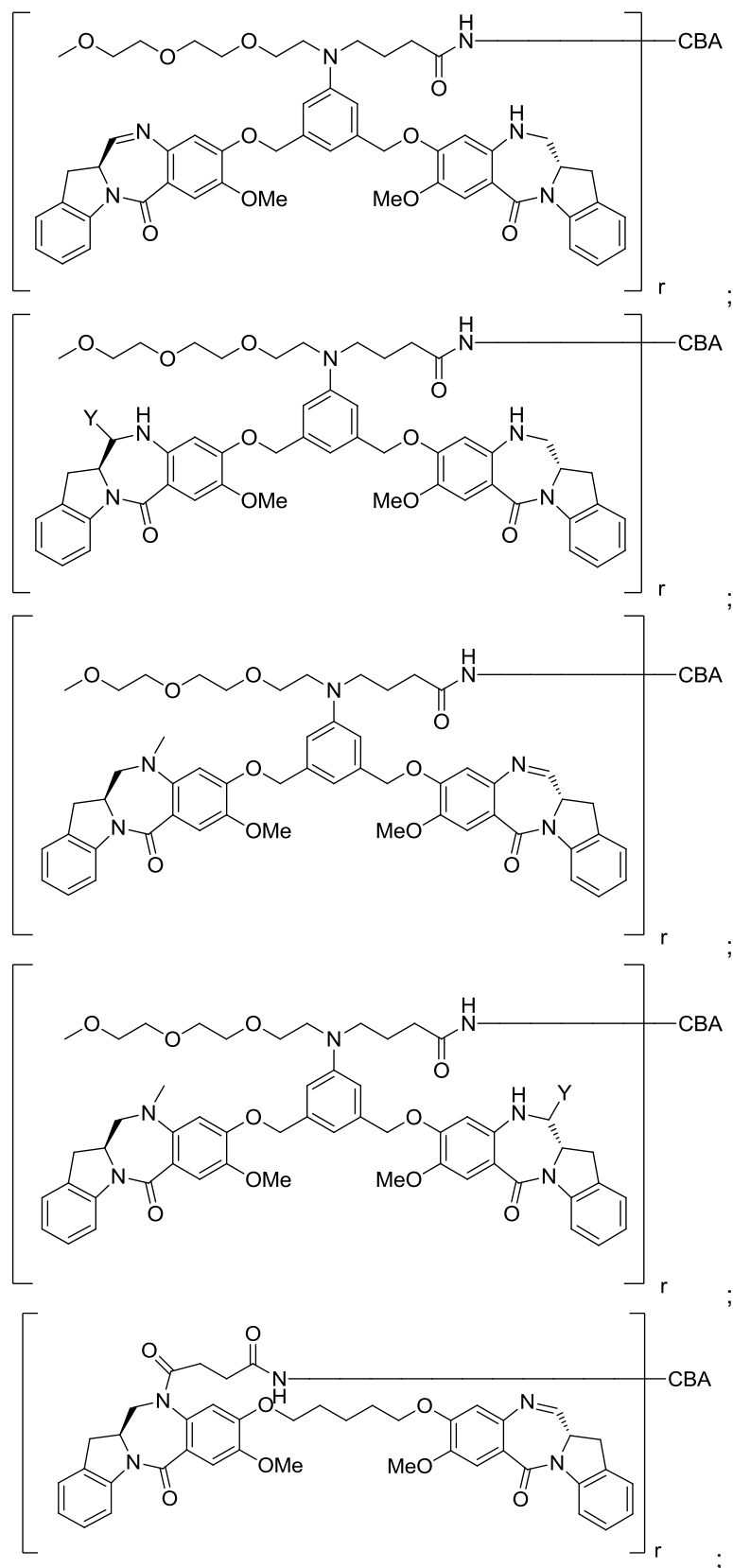
5

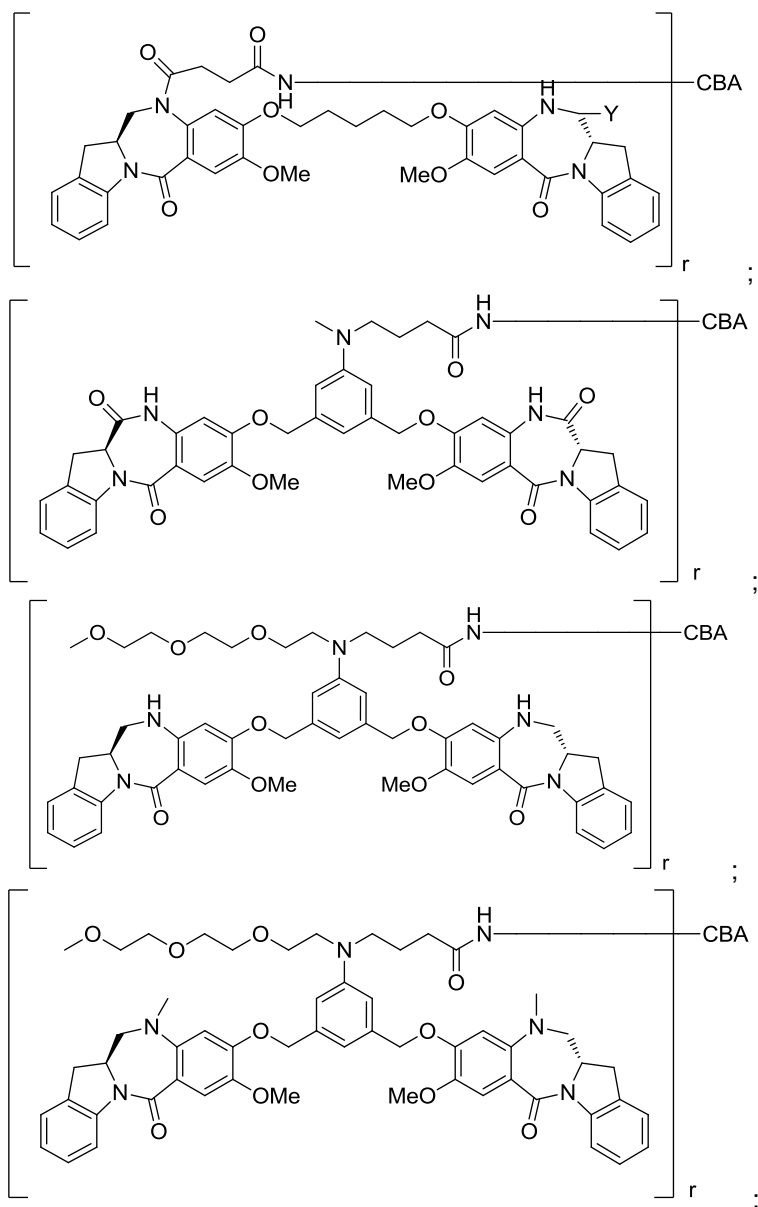
[226] У деяких варіантах втілення кон'югати згідно з винаходом включають:









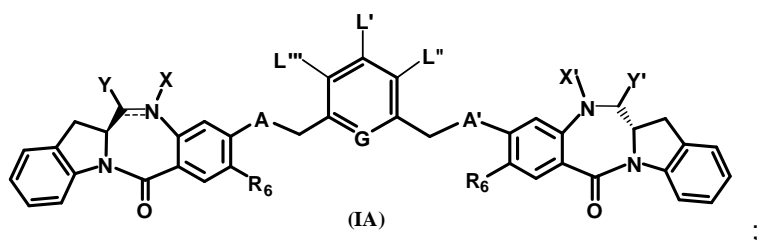


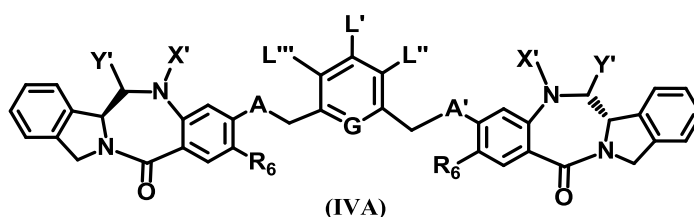
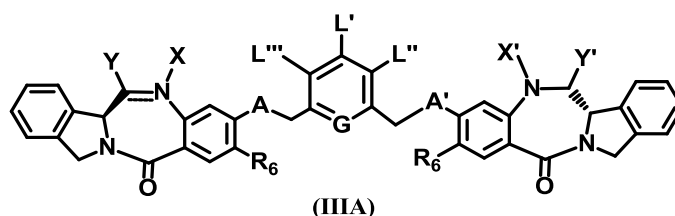
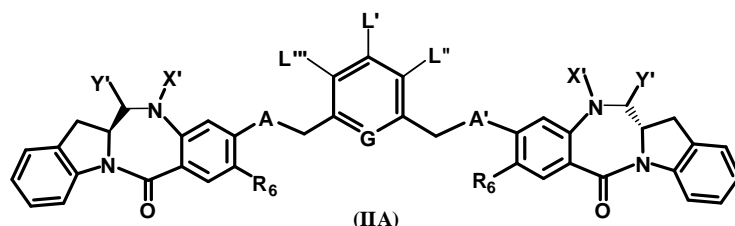
5 де:

СВА являє собою агент, який зв'язується з клітинами, r являє собою ціле число від 1 до 10, Y являє собою -H, аддукт бісульфіту, гідросульфиту або метабісульфіту або їх солей, або -SO<sub>3</sub>M, а M являє собою -H або фармацевтично прийнятний катіон.

10 [227] У деяких варіантах втілення L відсутня або вибрана із необов'язково заміщеної фенільної групи і необов'язково заміщеної піридинної групи, де фенільна і піридинна група несе зв'язуючу групу, або L є аміногрупою, яка несе зв'язуючу групу (тобто -N(зв'язуюча група)-), або L є лінійним, розгалуженим або циклічним алкілом або алкенілом, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю і несе зв'язуючу групу.

15 [228] У п'ятнадцятому специфічному варіанті втілення сполука представлена будь-якою з наступних формул:





де:

5 L', L'' і L''' є однаковими або різними і незалежно вибрані із -H, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-R^C$ , галогену, гуанідинію  $[-NH(C=NH)NH_2]$ , -OR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, -NR'COR'', -SR, сульфоксиду, представленого -SOR', сульфону, представленого -SO<sub>2</sub>R', сульфонату -SO<sub>3</sub>M, сульфату -OSO<sub>3</sub>M, сульфонамід, представленого -SO<sub>2</sub>NR'R'', ціаногрупи, азидної групи, -COR', -OCOR', -OCONR'R'' і зв'язуючої групи, за умови, що тільки одна із L', L'' і L''' являє собою зв'язуючу групу; а

G вибрана із -CH- або -N-. Інші групи відповідають опису, наведеному вище в чотирнадцятому специфічному варіанті втілення.

[229] У деяких варіантах втілення одна із L', L'' або L''' є зв'язуючою групою, а інші є -H. Переважно L' є зв'язуючою групою, а L'' і L''' є -H.

[230] У деяких варіантах втілення A і A' обидві є -O-, R<sub>6</sub> є -OMe, а G є -CH-.

[231] У шістнадцятому специфічному варіанті втілення L' представлена наступною формулою:

-W'-R<sup>x</sup>-V-R<sup>y</sup>-J,

де:

20 W і V є однаковими або різними, і кожна із них, незалежно, відсутня або вибрана із -CR<sup>e</sup>R<sup>e'</sup>-, -O-, -O-C(=O)-, -C(=O)-O-, -S-, -SO-, -SO<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-S-, -CH<sub>2</sub>O-, -CH<sub>2</sub>NR<sup>e</sup>-, -O-(C(=O)O)-, -O-(C(=O)N(R<sup>e</sup>)-), -N(R<sup>e</sup>)-, -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)-, -C(=O)-N(R<sup>e</sup>)-, -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)O-, -N(C(=O)R<sup>e</sup>)C(=O)-, -N(C(=O)R<sup>e</sup>)-, -(O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, -SS- або -C(=O)-, або амінокислоти, або пептиду, який містить від 2 до 8 амінокислот;

R<sup>x</sup> і R<sup>y</sup> є однаковими або різними, і кожна із них, незалежно, відсутня або являє собою необов'язково заміщений лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, арил, який містить від 6 до 10 атомів вуглецю, або 3-8-членне гетероциклічне кільце, яке несе від 1 до 3 гетероатомів, вибраних із O, N або S;

30 R<sup>e</sup> і R<sup>e'</sup> є однаковими або різними і вибрані із -H, лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, або -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-R<sup>k</sup>, де R<sup>k</sup> являє собою -H, лінійний, розгалужений, циклічний алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю, який необов'язково несе вторинну аміногрупу (наприклад, -NHR<sup>101</sup>) або третинну аміногрупу (-NR<sup>101</sup>R<sup>102</sup>) або 5- або 6-членний азот-вмісний гетероцикл, наприклад, піперидин або морфолін, де кожна із R<sup>101</sup> і R<sup>102</sup>, незалежно, являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю; переважно кожна R<sup>101</sup> і R<sup>102</sup>, незалежно, являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю;

n являє собою ціле число від 1 до 24; а

40 J ковалентно зв'язана з CBA і вибрана із сукциніміду, ацетамідо, -S-, -SS-, -CH<sub>2</sub>S-, -CH(Me)S-, -C(Me)<sub>2</sub>S-, -NR<sup>c1</sup>-, -CH<sub>2</sub>NR<sup>c1</sup>-, -NR<sup>c1</sup>N- і -C(=O)-, де R<sup>c1</sup> являє собою -H або заміщений або

незаміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю.

[232] У деяких варіантах втілення J являє собою -S-, -SS-, сукцинімід або -C(=O)-.

[233] У деяких варіантах втілення R<sup>e</sup> являє собою -H або -Me; R<sup>e</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю, або -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-R<sup>k</sup>; n являє собою ціле число від 2 до 8; R<sup>k</sup> являє собою -H, -Me або -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-NMe<sub>2</sub>, а інші змінні відповідають опису, наведеному вище в п'ятнадцятому специфічному варіанті втілення.

[234] У деяких варіантах втілення V є амінокислотою або пептидом, який містить від 2 до 8 амінокислот.

[235] У деяких варіантах втілення V являє собою валін-цитрулін, gly-gly-gly або ala-leu-ala-leu.

[236] У деяких варіантах втілення

W являє собою -O-, -N(R<sup>e</sup>)- або -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)-;

R<sup>e</sup> являє собою H, лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, або -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-R<sup>k</sup>;

[237] R<sup>k</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю;

V відсутня або являє собою -(O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, -C(=O)-NH-, -S-, -NH-C(=O)-;

R<sup>y</sup> відсутня або являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю; а

J являє собою -S-, -SS- або -C(=O)-, а інші групи відповідають визначенню в шістнадцятому специфічному варіанті втілення.

[237] У деяких варіантах втілення

W являє собою -O-, -N(R<sup>e</sup>)- або -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)-;

R<sup>e</sup> являє собою -H, -Me або -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-Me;

n являє собою ціле число від 2 до 6;

[238] R<sup>x</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який несе від 1 до 6 атомів вуглецю;

V і R<sup>y</sup> відсутні; а

J являє собою -C(=O)-. Інші групи відповідають визначенню в шістнадцятому специфічному варіанті втілення.

[238] У сімнадцятому специфічному варіанті втілення L' із шістнадцятого специфічного варіанту втілення представлена наступною формулою:

-W'-[CR<sub>1</sub>'R<sub>2</sub>']<sub>a</sub>-V-[Cy]<sub>0-1</sub>-[CR<sub>3</sub>'R<sub>4</sub>']<sub>b</sub>-C(=O)-,

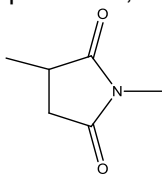
де:

кожна із R<sub>1</sub>', R<sub>2</sub>' і R<sub>3</sub>', незалежно, являє собою -H або лінійний або розгалужений алкіл, який несе від 1 до 4 атомів вуглецю, переважно -Me;

[239] R<sub>4</sub>' являє собою -H, лінійний або розгалужений алкіл, який несе від 1 до 4 атомів вуглецю (переважно -Me), -SO<sub>3</sub>H або -SO<sub>3</sub>M<sup>+</sup>, де M<sup>+</sup> являє собою фармацевтично прийнятний катіон;

а являє собою цілі числа від 0 до 5 (наприклад, від 0 до 2, 3, 4 або 5), а b - ціле число від 0 до 6 (наприклад, від 0 до 3, 4, 5 або 6); а

[240] Су являє собою необов'язково заміщене 5-членне гетероциклічне кільце, яке несе гетероатом N, переважно Су являє собою



[239] У деяких варіантах втілення, наприклад, у шістнадцятому або сімнадцятому специфічному варіанті втілення, W' являє собою -N(R<sup>e</sup>)-.

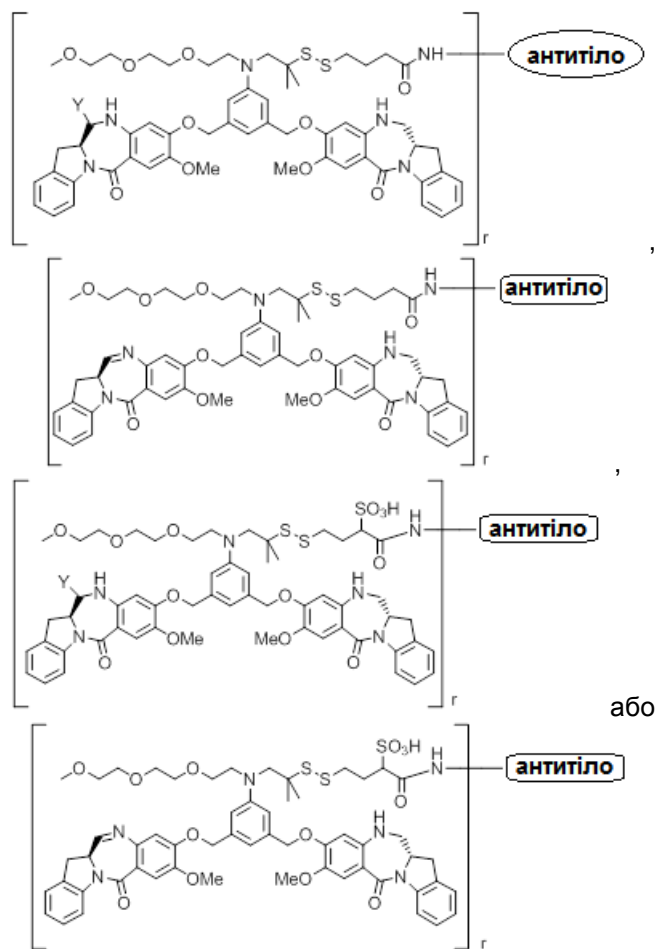
[240] У деяких варіантах втілення, наприклад, у шістнадцятому або сімнадцятому специфічному варіанті втілення, R<sup>e</sup> являє собою -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>2-6</sub>-R<sup>k</sup>, де R<sup>k</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю.

[241] У деяких варіантах втілення, наприклад, у шістнадцятому або сімнадцятому специфічному варіанті втілення, V являє собою -S- або -SS-.

[242] У вісімнадцятому специфічному варіанті втілення L' із шістнадцятого або сімнадцятого специфічного варіанту втілення представлена наступною формулою:

-NR<sup>e</sup>-[CR<sub>1</sub>'R<sub>2</sub>']<sub>a</sub>-S-[CR<sub>3</sub>'R<sub>4</sub>']<sub>b</sub>-C(=O)-.

[243] У деяких варіантах втілення, наприклад, у шістнадцятому-вісімнадцятому специфічних варіантах втілення, кон'югат являє собою:



або

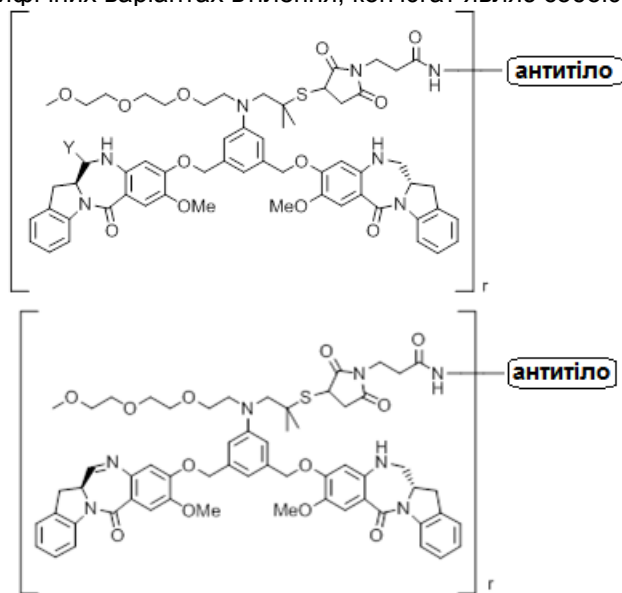
5 де  $r$  є цілим числом від 1 до 10,  $Y$  є  $-H$  або  $-SO_3M$  (наприклад,  $Y$  є  $-SO_3M$ ), а  $M$  є  $-H$  або фармацевтично прийнятним катіоном.

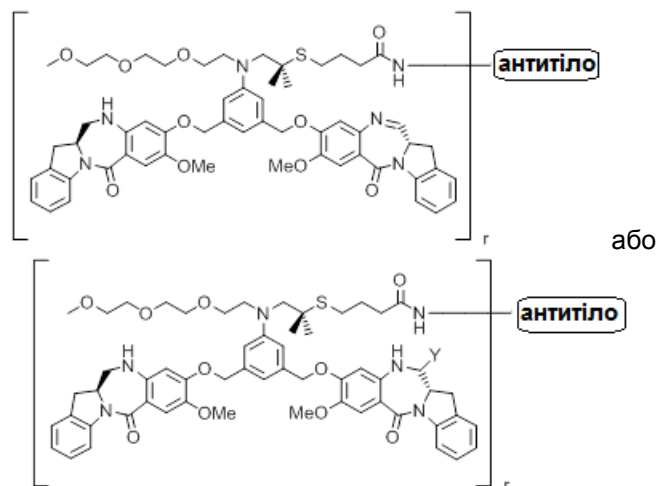
[244] У деяких варіантах втілення, наприклад, у шістнадцятому-вісімнадцятому специфічних варіантах втілення, антитіло являє собою huMu9-6.

10 [245] У дев'ятнадцятому специфічному варіанті втілення  $L'$  із шістнадцятого або сімнадцятого специфічного варіанту втілення представлена наступною формулою:

-  $NR^E-[CR_1''R_2'']_a-S-Cy-[CR_3''R_4'']_b-C(=O)-$ .

[246] У деяких варіантах втілення, наприклад, у шістнадцятому, сімнадцятому і дев'ятнадцятому специфічних варіантах втілення, кон'югат являє собою:

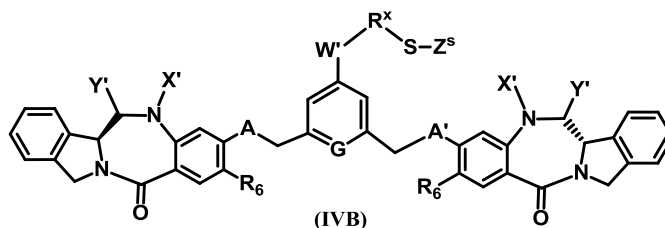
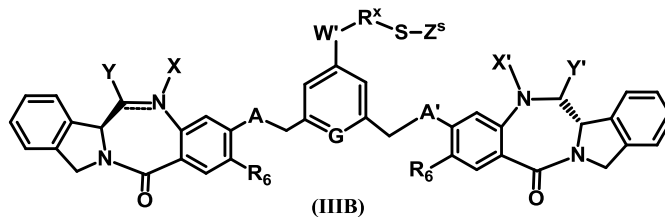
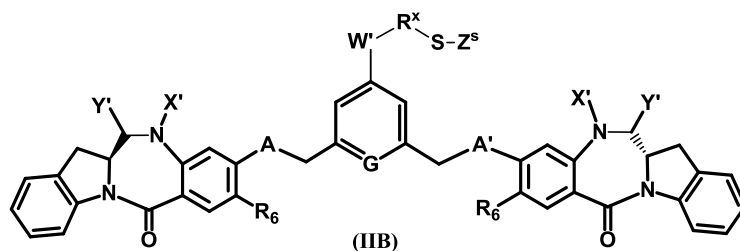
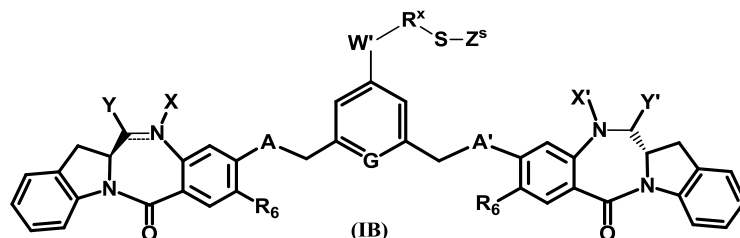




де  $r$  є цілим числом від 1 до 10,  $Y$  є  $-H$  або  $-SO_3M$  (наприклад,  $Y$  є  $-SO_3M$ ), а  $M$  є  $-H$  або фармацевтично прийнятним катіоном.

5 [247] У деяких варіантах втілення, наприклад, у шістнадцятому, сімнадцятому і дев'ятнадцятому специфічних варіантах втілення, антитіло являє собою huMy9-6.

[248] У двадцятому специфічному варіанті втілення сполука представлена наступною формулою:



де:

$W'$  відсутня або вибрана із  $-O-$ ,  $-N(R^e)-$ ,  $-N(R^e)-C(=O)-$ ,  $-N(C(=O)R^e)-$ ,  $-S-$ ,  $-CH_2-S-$  або  $-CH_2NR^e-$

15 ;  $R^x$  відсутня або вибрана із лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

$R^e$  являє собою  $-H$ , лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який



містить від 1 до 10 атомів вуглецю, або  $-(CH_2-CH_2-O)_n-R^k$ , де  $R^k$  являє собою -H, лінійний, розгалужений, циклічний алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю, який необов'язково несе вторинну аміногрупу (наприклад,  $-NHR^{101}$ ) або третинну аміногрупу ( $-NR^{101}R^{102}$ ) або 5- або 6-членний азот-вмісний гетероцикл, наприклад, піперидин або морфолін, де кожна із  $R^{101}$  і  $R^{102}$ , незалежно, являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

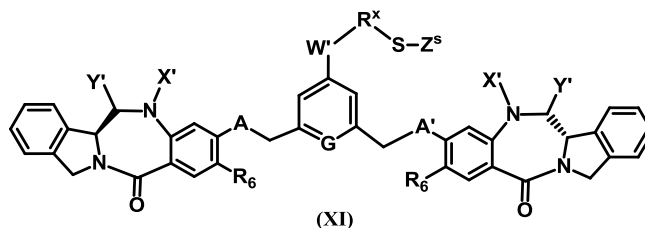
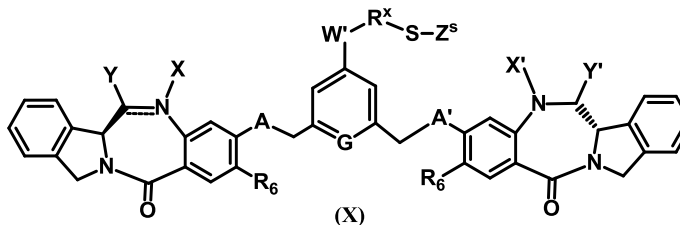
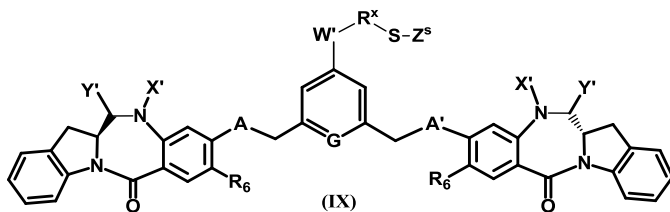
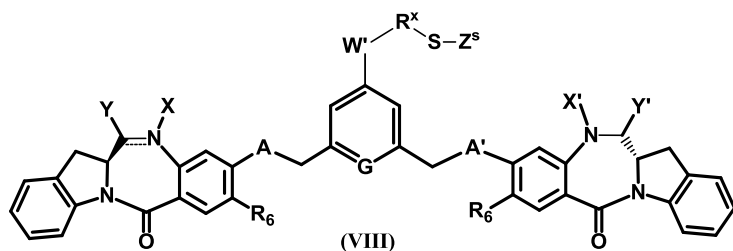
$Z^s$  приєднана до CBA і являє собою вуглець-вуглецевий зв'язок або  $-SR^m$ ;

$R^m$  являє собою  $R^d$  або заміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, який несе реакційноздатний складний ефір, вибраний із N-гідроксисукцинімідних ефірів, N-гідроксифталімідних ефірів, N-гідроксисульфосукцинімідних ефірів, пара-нітрофенілових ефірів, динітрофенілових ефірів і пентафторфенілових ефірів;

$R^d$  вибрана із фенілу, нітрофенілу, динітрофенілу, карбоксинітрофенілу, піридилу або нітропіридилу; а

n являє собою ціле число від 1 до 24, а інші змінні відповідають опису, наведеному вище в восьмому або п'ятнадцятому специфічному варіанті втілення.

[249] У двадцять першому специфічному варіанті втілення сполука представлена наступною формулою:



де:

$W'$  відсутня або вибрана із -O-,  $-N(R^e)$ -,  $-N(R^e)-C(=O)$ -,  $-N(C(=O)R^e)$ -, -S-,  $-CH_2-S$ - або  $-CH_2NR^e$ ;

$R^x$  відсутня або вибрана із лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

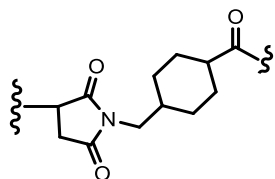
$R^e$  являє собою -H, лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, або  $-(CH_2-CH_2-O)_n-R^k$ , де  $R^k$  являє собою -H, лінійний, розгалужений, циклічний алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю, який необов'язково несе вторинну аміногрупу (наприклад,  $-NHR^{101}$ ) або третинну аміногрупу ( $-NR^{101}R^{102}$ ), або 5- або 6-членний азот-вмісний гетероцикл, наприклад, піперидин або морфолін, де кожна із  $R^{101}$  і  $R^{102}$ ,

незалежно, являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

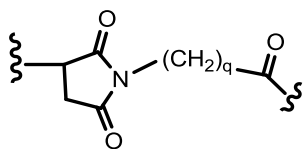
n являє собою ціле число від 2 до 6;

Z<sup>s</sup> приєднана до СВА і вибрана із:

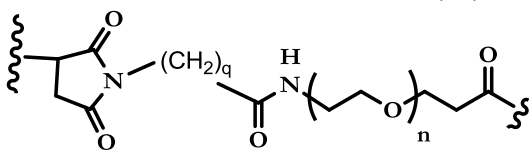
5 вуглець-вуглецевого зв'язку;



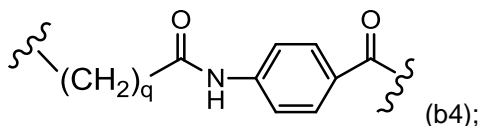
(b1);



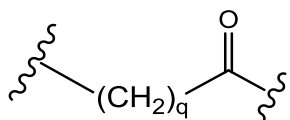
(b2);



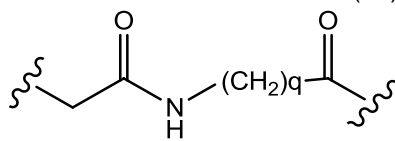
(b3);



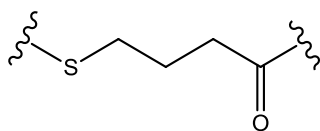
(b4);



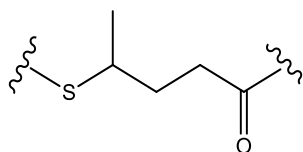
(b5);



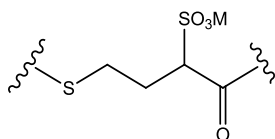
(b6);



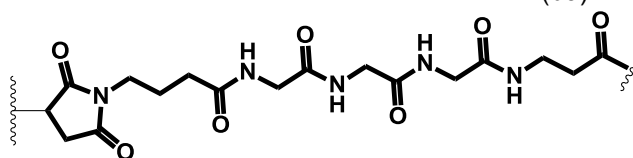
(b7);



(b8);



(b9) i



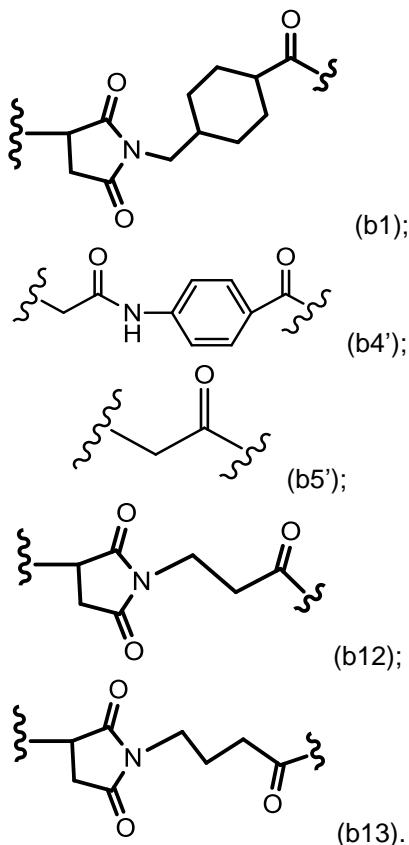
(b10),

де:

q є цілим числом від 1 до 5; а

M є -H або катіоном, наприклад, Na<sup>+</sup> або K<sup>+</sup>.

[250] У деяких варіантах втілення Z<sup>s</sup> представлена будь-якою з наступних формул:



5

[251] У деяких варіантах втілення  $W'$  являє собою  $-N(R^e)-$ .

[252] У деяких варіантах втілення  $R^e$  являє собою  $-(CH_2-CH_2-O)_n-R^k$ , де  $R^k$  являє собою -H, лінійний, розгалужений, циклічний алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю.

[253] У деяких варіантах втілення  $R^k$  є -H або -Me, n дорівнює 4, а q дорівнює 2.

10 [254] У деяких варіантах втілення  $R^x$  є лінійним або розгалуженим алкілом, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю.

[255] У деяких варіантах втілення  $R^x$  являє собою  $-(CH_2)_p-(CR^fR^g)-$ , де кожна із  $R^f$  і  $R^g$ , незалежно, вибрана із H або лінійного або розгалуженого алкілу, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю; а p дорівнює 0, 1, 2 або 3.

15 [256] У деяких варіантах втілення  $R^f$  і  $R^g$  є однаковими або різними і вибрані із -H і -Me; а p дорівнює 1.

[257] У двадцять другому специфічному варіанті втілення для кон'югату формули (VIII), (IX), (X) і (XI), описаного у двадцять першому специфічному варіанті втілення, змінні відповідають опису, наведеному нижче:

20 подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою одинарний зв'язок або подвійний зв'язок, за умови, що, коли вона являє собою подвійний зв'язок, X відсутня, а Y являє собою -H, а коли вона являє собою одинарний зв'язок, X являє собою -H; Y являє собою -H, -OH або  $-SO_3M$  (наприклад, Y являє собою -OH або  $-SO_3M$ );

M являє собою -H або фармацевтично прийнятний катіон (наприклад,  $Na^+$ );

25  $X'$  і  $Y'$  обидві являють собою -H;

A і A' обидві являють собою -O-;

$R_6$  являє собою -OMe; а

$R^k$  являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю.

30 [258] У двадцять третьому специфічному варіанті втілення для сполук формули (IB), (IIB), (IIIB) і (IVB), описаних у двадцятьому специфічному варіанті втілення, змінні відповідають опису, наведеному нижче:

подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою одинарний зв'язок або подвійний зв'язок, за умови, що, коли вона являє собою подвійний зв'язок, X відсутня, а Y являє собою -H, а коли вона являє собою одинарний зв'язок, X являє собою -H; Y являє собою -H, -OH або  $-SO_3M$  (наприклад, Y являє собою -OH або  $-SO_3M$ );

35 M являє собою -H або  $Na^+$ ;

$X'$  і  $Y'$  обидві являють собою -H;

A і A' обидві являють собою -O-;

$R_6$  являє собою -OMe;

$R^x$  являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю.

[259] Переважно  $R^x$  являє собою  $-(CH_2)_p-(CR^fR^g)-$ , де кожна із  $R^f$  і  $R^g$ , незалежно, вибрана із -H або лінійного або розгалуженого алкілу, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю;  $p$  дорівнює 0, 1, 2 або 3. Більш переважно  $R^f$  і  $R^g$  є однаковими або різними і вибрані із -H і -Me, а  $p$  дорівнює 1.

[260] У будь-якому з вищенаведених специфічних варіантів втілення, наприклад, у специфічних варіантах втілення із чотирнадцятого по двадцять третій, подвійна лінія  $\equiv$  між N і C може являти собою подвійний зв'язок.

[261] У будь-якому з вищенаведених специфічних варіантів втілення, наприклад, у специфічних варіантах втілення із чотирнадцятого по двадцять третій, подвійна лінія  $\equiv$  між N і C може являти собою одинарний зв'язок, X являє собою -H, зв'язуючу групу або аміноблокуючу групу (наприклад, X являє собою -H), а Y являє собою -H або вибрана із -OR, -OCOR', -SR, -NR'R'', необов'язково заміщеного 5- або 6-членного азот-вмісного гетероциклу, -SO<sub>3</sub>M, -SO<sub>2</sub>M і сульфату -OSO<sub>3</sub>M. В деяких варіантах втілення Y не являє собою -H.

[262] У деяких варіантах втілення Y вибрана із -H, -SO<sub>3</sub>M, -OH, -OMe, -OEt або -NHOH (наприклад, Y являє собою -SO<sub>3</sub>M, -OH, -OMe, -OEt або -NHOH).

[263] У деяких варіантах втілення Y являє собою -H, -SO<sub>3</sub>M або -OH (наприклад, Y являє собою -SO<sub>3</sub>M або -OH).

[264] У деяких варіантах втілення M є -H, Na<sup>+</sup> або K<sup>+</sup>.

[265] У будь-якому з вищеописаних специфічних варіантів втілення кон'югату згідно з даним винаходом, наприклад, у специфічних варіантах втілення із чотирнадцятого по двадцять третій, W, якщо присутня, являє собою C=O.

[266] У будь-якому з вищеописаних специфічних варіантів втілення кон'югату згідно з даним винаходом, наприклад, у специфічних варіантах втілення із чотирнадцятого по двадцять третій, Z і Z', якщо присутні, являють собою -CH<sub>2</sub>.

[267] У будь-якому з вищеописаних специфічних варіантів втілення кон'югату згідно з даним винаходом, наприклад, у специфічних варіантах втілення із чотирнадцятого по двадцять третій, X' вибрана із групи, яка складається із -H, -OH, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, фенілу, зв'язуючої групи і аміноблокуючої групи.

[268] У деяких варіантах втілення X' є -H, -OH, -Me або зв'язуючою групою.

[269] У деяких варіантах втілення X' є -H.

[270] У будь-якому з вищеописаних специфічних варіантів втілення кон'югату згідно з даним винаходом, наприклад, у специфічних варіантах втілення із чотирнадцятого по двадцять третій, Y' вибрана із групи, яка складається з -H, оксогрупи, заміщеного або незаміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю.

[271] У деяких варіантах втілення Y' являє собою -H або оксогрупу.

[272] У деяких варіантах втілення Y' являє собою -H.

[273] У будь-якому з вищеописаних специфічних варіантів втілення кон'югату згідно з даним винаходом, наприклад, у специфічних варіантах втілення із чотирнадцятого по двадцять третій, A і A' є однаковими або різними і вибрані із -O-, -S-, -N(R<sub>5</sub>)- і оксогрупи (C=O).

[274] У деяких варіантах втілення A і A' є однаковими або різними і вибрані із -O- і -S-.

[275] У деяких варіантах втілення A і A' являють собою -O-.

[276] У будь-якому з вищеописаних специфічних варіантів втілення кон'югату згідно з даним винаходом, наприклад, у специфічних варіантах втілення із чотирнадцятого по двадцять третій, D і D', якщо присутні, є однаковими або різними і, незалежно, вибрані з мономера поліетиленгліколю  $(-OCH_2CH_2)_n$ , де  $n$  є цілим числом від 1 до 24, амінокислоти, пептиду, який несе від 2 до 6 амінокислот, або лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, де алкіл, алкеніл і алкініл необов'язково заміщені одним або більше заміників, незалежно вибраних із групи, яка складається із галогену, -OR, -NR'COR'', -SR і -COR'.

[277] У деяких варіантах втілення D і D' є лінійним або розгалуженим алкілом, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю.

[278] У двадцять четвертому специфічному варіанті втілення кон'югат згідно з даним винаходом, відповідно до опису в чотирнадцятому, п'ятнадцятому або двадцять першому специфічному варіанті втілення, представлений у такий спосіб:

подвійна лінія  $\equiv$  між N і C являє собою подвійний зв'язок;

Y являє собою -H;

W являє собою C=O;

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>1</sub>', R<sub>2</sub>', R<sub>4</sub> і R<sub>4</sub>' являють собою -H;

одна із R<sub>3</sub> або R<sub>3</sub>' необов'язково являє собою зв'язуючу групу, а інша являє собою -H;

R<sub>6</sub> являє собою -OMe;

5 Z і Z' являє собою -CH<sub>2</sub>;

X являє собою -H;

Y' являє собою -H; а

A і A' являє собою -O-.

10 [279] У деяких варіантах втілення кон'югат згідно з будь-яким з описаних варіантів втілення, наприклад, специфічних варіантів втілення із чотирнадцятого по двадцять третій, може включати 1-10 цитотоксичних сполук, 2-9 цитотоксичних сполук, 3-8 цитотоксичних сполук, 4-7 цитотоксичних сполук або 5-6 цитотоксичних сполук, причому будь-яка цитотоксична сполука включає зв'язуючу групу, яка приєднує цитотоксичну сполуку до СВА, і всі цитотоксичні сполуки у складі кон'югату однакові.

15 [280] У будь-якому з варіантів втілення кон'югатів, наприклад, специфічних варіантах втілення із чотирнадцятого по двадцять третій, агент, який зв'язується із клітинами, може зв'язуватися із клітинами-мішенями, вибраними із пухлинних клітин, клітин, інфікованих вірусом, клітин, інфікованих мікроорганізмами, клітин, інфікованих паразитами, аутоімунних клітин, активованих клітин, мієлоїдних клітин, активованих Т-клітин, В-клітин або меланоцитів; клітин, які експресують CD4, CD6, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD37, CD38, CD40, CD44, CD56, 20 EpCAM, CanAg, CALLA або антигени Her-2, антигени Her-3; або клітин, які експресують рецептор інсуліноподібного фактора росту, рецептор епідермального фактора росту, рецептор фолату.

25 [281] У будь-якому з варіантів втілення кон'югатів, наприклад, специфічних варіантах втілення із чотирнадцятого по двадцять четвертий, агент, який зв'язується із клітинами, може бути антитілом, одноланцюговим антитілом, фрагментом антитіла, який специфічно зв'язується із клітиною-мішенню, моноклональним антитілом, одноланцюговим моноклональним антитілом або фрагментом моноклонального антитіла, який специфічно зв'язується із клітиною-мішенню, химерним антитілом, фрагментом химерного антитіла, який специфічно зв'язується із клітиною-мішенню, доменним антитілом, фрагментом доменного антитіла, який специфічно зв'язується із 30 клітиною-мішенню, лімфокином, гормоном, вітаміном, фактором росту, колонієстимулюючим фактором або молекулою транспорту поживних речовин.

[282] Антитіло може бути антитілом з модифікованою поверхнею, одноланцюговим антитілом з модифікованою поверхнею або фрагментом антитіла з модифікованою поверхнею.

35 [283] Антитіло може бути моноклональним антитілом, одноланцюговим моноклональним антитілом або фрагментом моноклонального антитіла.

[284] Антитіло може бути гуманізованим антитілом, гуманізованим одноланцюговим антитілом або фрагментом гуманізованого антитіла.

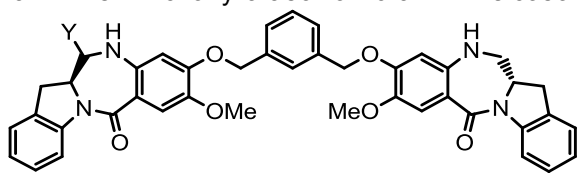
40 [285] Крім того, даний винахід забезпечує фармацевтичну композицію, яка включає будь-який із кон'югатів, описаних тут, і фармацевтично прийнятний носій.

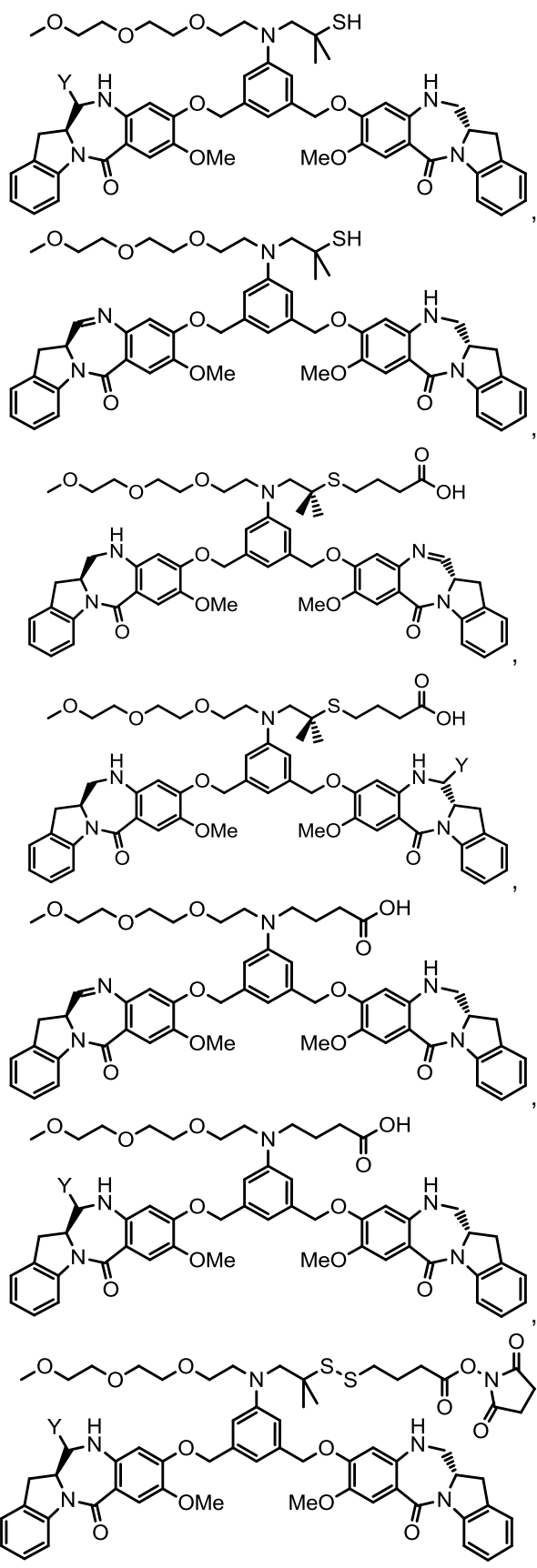
[286] Крім того, даний винахід забезпечує сполуку лікарська речовина-лінкер, яка включає будь-яку із розглянутих сполук, ковалентно приєднаних до біфункціонального лінкера.

45 [287] Даний винахід додатково забезпечує кон'югат, який включає будь-яку з розглянутих сполук або розглянутих сполук лікарська речовина-лінкер, приєднаних до агента, який зв'язується із клітинами.

50 [288] Крім того, винахід забезпечує спосіб інгібування аномального клітинного росту або лікування проліферативного розладу, аутоімунного розладу, деструктивного розладу кісток, інфекційного захворювання, вірусного захворювання, фіброзного захворювання, нейродегенеративного захворювання, панкреатиту або захворювання нирок у ссавця, який включає введення ссавцеві терапевтично ефективної кількості будь-якої зі сполук (з або без лінкерної групи) або кон'югату згідно з винаходом і, необов'язково, другого хіміотерапевтичного агента.

[289] У деяких варіантах втілення сполука або кон'югат являє собою:

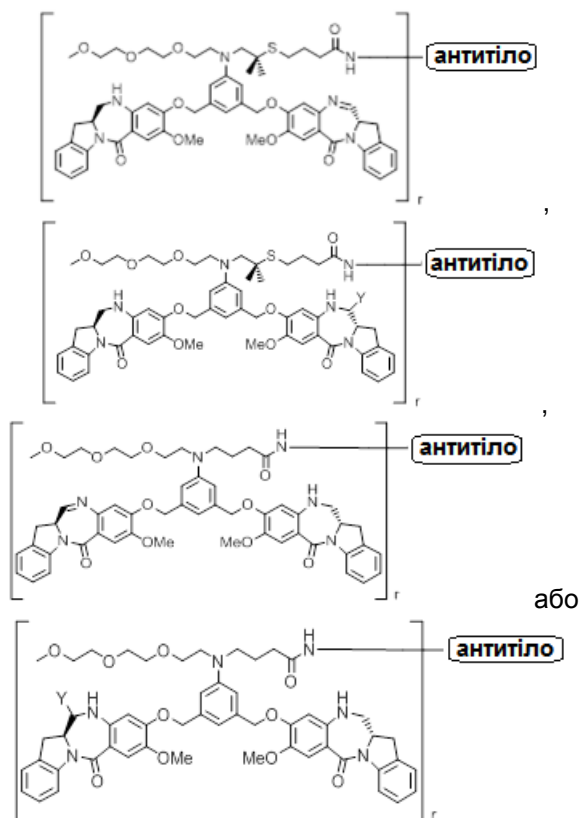












де  $r$  є цілим числом від 1 до 10,  $Y$  є  $-H$  або  $-SO_3M$  (наприклад,  $Y$  є  $-SO_3M$ ), а  $M$  є  $-H$  або фармацевтично прийнятним катіоном.

[290] У деяких варіантах втілення другий хіміотерапевтичний агент вводять ссавцеві послідовно або один за одним.

[291] У деяких варіантах втілення зазначений спосіб призначений для лікування стану, вибраного з раку, ревматоїдного артриту, розсіяного склерозу, реакції трансплантат проти хазяїна (РТПХ), відторгнення трансплантату, вовчаку, міозиту, інфекції та імунodefіциту.

[292] У деяких варіантах втілення спосіб або кон'югат призначений для лікування раку.

[293] У деяких варіантах втілення рак вибраний із раку молочної залози, раку товстої кишки, раку головного мозку, раку передміхурової залози, раку нирок, раку підшлункової залози, раку яєчників, раку голови і шиї, меланоми, раку ободової і прямої кишки, раку шлунку, плоскоклітинного раку, дрібноклітинного раку легенів, недрібноклітинного раку легенів, раку яєчок, карциноми із клітин Меркеля, гліобластоми, нейробластоми, злоякісних захворювань лімфатичних органів і гематологічних злоякісних новоутворів, включаючи лейкоз (гострий лімфобластний лейкоз (ГЛЛ), гострий мієлобластний лейкоз (ГМЛ), хронічний лімфоцитарний лейкоз (ХЛЛ), хронічний мієлолейкоз (ХМЛ), гострий моноцитарний лейкоз (АМОЛ), волосатоклітинний лейкоз (ВКЛ), Т-клітинний пролімфоцитарний лейкоз (Т-ПЛЛ), крупноклітинний гранулолімфоцитарний лейкоз, Т-клітинний лейкоз дорослих), лімфому (дрібноклітинну лімфоцитарну лімфому (SLL), ходжкінську лімфому (з нодулярним склерозом, змішаноклітинну, багату лімфоцитами, збіднену або незбіднену лімфоцитами та нодулярну ходжкінську лімфому з перевагою лімфоцитів), неходжкінські лімфоми (усіх підтипів), хронічний лімфоцитарний лейкоз/дрібноклітинну лімфоцитарну лімфому, В-клітинний пролімфоцитарний лейкоз, лімфоплазмоцитарну лімфому (наприклад, макроглобулінемію Вальденстрема), лімфому із клітин крайової зони селезінки, плазмоцитарні новоутворення (плазмаклітинну мієлому, плазмацитому, хвороби відкладання моноклональних імуноглобулінів, хвороби важких ланцюгів), екстранодальну В-клітинну лімфому із клітин крайової зони (MALT-лімфому), В-клітинну лімфому із клітин крайової зони лімфовузлів (NMZL), фолікулярну лімфому, лімфому із клітин мантийної зони, дифузійну крупноклітинну В-клітинну лімфому, крупноклітинну В-клітинну лімфому середостіння (тимусу), внутрішньосудинну крупноклітинну В-клітинну лімфому, первинну випітну лімфому, лімфому/лейкоз Беркіта, Т-клітинний пролімфоцитарний лейкоз, Т-клітинний крупноклітинний гранулолімфоцитарний лейкоз, агресивний НК-клітинний лейкоз, Т-клітинний лейкоз/лімфому дорослих, екстранодальну НК/Т-клітинну лімфому (назального типу), Т-клітинну лімфому ентеропатичного типу, печінково-селезінкову Т-клітинну лімфому, бластну

NK-клітинну лімфому, фунгоїдну гранулеми/синдром Сезарі, первинні шкірні CD 30-позитивні Т-клітинні лімфопроліферативні розлади, первинну шкірну анапластичну крупноклітинну лімфому, лімфоматоїдний папулез, ангіоімунобластну Т-клітинну лімфому, периферичну Т-клітинну лімфому (невизначену), анапластичну крупноклітинну лімфому), множинну мієлому (плазмаклітинну мієлому або хворобу Калера).

Одержання кон'югатів агент, який зв'язується із клітинами -лікарська речовина

[294] З метою приєднання цитотоксичної сполуки або її похідного згідно з даним винаходом до агента, який зв'язується із клітинами, цитотоксична сполука може включати зв'язуючу групу із приєднаною до неї реакційноздатною групою. В одному варіанті втілення біфункціональний зшиваючий реагент може спочатку взаємодіяти із цитотоксичною сполукою з одержанням сполуки, яка несе зв'язуючу групу з однією реакційноздатною групою, приєднаною до неї (тобто сполуки лікарська речовина-лінкер), яка потім може взаємодіяти з агентом, який зв'язується із клітинами. У якості альтернативи один кінець біфункціонального зшиваючого реагенту може взаємодіяти з першим агентом, який зв'язується із клітинами, з одержанням агента, який зв'язується із клітинами, який несе зв'язуючу групу з однією реакційноздатною групою, приєднаною до неї, який може взаємодіяти із цитотоксичною сполукою. Зв'язуюча група може містити хімічний зв'язок, який забезпечує вивільнення цитотоксичної групи, у конкретному положенні. Підходящі хімічні зв'язки добре відомі в даній галузі техніки і включають дисульфідні зв'язки, тіоефірні зв'язки, кислотолабільні зв'язки, фотоллабільні зв'язки, пептидазоллабільні зв'язки та естеразоллабільні зв'язки (див., наприклад, патенти США 5208020; 5475092; 6441163; 6716821; 6913748; 7276497; 7276499; 7368565; 7388026 і 7414073). Кращими є дисульфідні зв'язки, тіоефірні і пептидазоллабільні зв'язки. Інші лінкери, які можна використовувати у даному винаході, включають нерозщеплювані лінкери, наприклад, детально описані в публікації патенту США номер 2005/0169933, або заряджені лінкери або гідрофільні лінкери, і описані в US 2009/0274713, US 2010/01293140 і WO 2009/134976, кожен із яких спеціально включений в даний документ шляхом посилання.

[295] Сполуки формули (I)-(IV), (IA)-(IVA) і (IB)-(IVB) можна приєднувати через  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_1'$ ,  $R_2'$ ,  $R_3'$ ,  $R_4'$ ,  $L'$ ,  $L''$ ,  $L'''$  або  $X$  (якщо зазначені групи присутні). Кращими групами, які зв'язуються, із зазначених є  $R_2'$ ,  $R_3'$ ,  $R_4'$ ,  $L'$ ,  $L''$ ,  $L'''$ , а найбільш переважними групами, які зв'язуються, є  $R_2'$ ,  $R_3'$  і  $L'$ . Приклади зв'язуючих груп для сполук формули (I)-(IV), (IA)-(IVA) і (IB)-(IVB) описані вище.

[296] В одному варіанті втілення розчин антитіл у водному буфері можна інкубувати із молярним надлишком антитіло-модифікуючого агента, наприклад, N-сукцинімідил-3-(2-піридилдитіо)пропіонату (SPDP) або N-сукцинімідил-4-(2-піридилдитіо)бутаноату (SPDB), з метою впровадження дітіопіридилних груп. Потім модифіковане антитіло піддають взаємодії з тіол-вмісною цитотоксичною сполукою, наприклад, сполукою 2a, одержуючи кон'югат антитіло-індолінбензодіазепіновий димер, з'єднаний за допомогою дисульфідного зв'язку. Потім кон'югат агент, який зв'язується із клітинами - лікарська речовина можна очистити, використовуючи будь-які способи очищення, відомі в даній галузі техніки, наприклад, способи, описані в патенті США № 7811572 і публікації США № 2006/0182750, обоє з яких включені в даний документ за допомогою посилань. Наприклад, кон'югат агент, який зв'язується із клітинами /лікарська речовина можна очистити за допомогою тангенціальної проточної фільтрації, адсорбційної хроматографії, адсорбційної фільтрації, вибіркового осадження, неабсорбційної фільтрації або їх комбінації. Для очищення кон'югатів переважно використовують тангенціальну проточну фільтрацію (TFF, також відому як фільтрація в тангенціальному потоці, ультрафільтрація і діалізація) і/або смоли для адсорбційної хроматографії.

[297] У якості альтернативи антитіло можна інкубувати із молярним надлишком антитіло-модифікуючого агента, наприклад, 2-імінтіолану, тіолактону L-гомоцистеїну (або його похідних) або N-сукцинімідил-S-ацетилтіоацетату (SATA), з метою впровадження сульфгідрильних груп. Потім модифіковане антитіло піддають взаємодії з відповідним дисульфід-вмісним цитотоксичним агентом, одержуючи кон'югат антитіло-цитотоксичний агент, з'єднаний за допомогою дисульфідного зв'язку. Потім кон'югат антитіло-цитотоксичний агент можна очистити за допомогою вищеописаних способів. Агент, який зв'язується із клітинами, також можна піддавати спрямованій модифікації з метою впровадження тіолових груп, наприклад, цистеїн-модифіковані антитіла, описані в патентах США під номерами 7772485 і 7855275.

[298] У ще одному варіанті втілення розчин антитіл у водному буфері можна інкубувати із молярним надлишком антитіло-модифікуючого агента, наприклад, N-сукцинімідил-4-(N-малеїмідметил)-циклогексан-1-карбоксилату, з метою впровадження малеїмідогруп, або N-сукцинімідил-4-(йодацетил)-амінобензоату (SIAB), з метою впровадження йодацетильних груп. Потім модифіковане антитіло піддають взаємодії з тіол-вмісним цитотоксичним агентом,

одержуючи кон'югат антитіло-цитотоксичний агент, з'єднаний за допомогою простого тіоефірного зв'язку. Потім кон'югат антитіло-цитотоксичний агент можна очистити за допомогою вищеписаних способів.

[299] Кількість цитотоксичних молекул, зв'язаних на молекулу антитіла, можна визначити спектрофотометрично, вимірюючи відношення оптичної щільності за 280 нм і 330 нм. За допомогою способів, описаних тут, можна приєднати в середньому 1-10 цитотоксичних сполук/молекулу(и) антитіла. Краща середня кількість приєднаних цитотоксичних сполук на молекулу антитіла становить 2-5, а найбільш кращою кількістю є 2,5-4,0.

[300] Цитотоксичні агенти, які містять лінкери, які закінчуються N-гідроксисукцинімідоловою (NHS) складноефірною групою, наприклад, сполуки 1g і 10, можуть взаємодіяти з антитілом з одержанням кон'югатів, безпосередньо з'єднаних за допомогою амідного зв'язку, наприклад, huMy9-6-SPDB-1f або huMy9-6-BMPS-1f. Потім кон'югат антитіло-цитотоксичний агент можна очистити за допомогою гель-фільтрації будь-яким з вищеписаних способів.

[301] Типові способи одержання кон'югатів агент, який зв'язується із клітинами-лікарська речовина, згідно з даним винаходом, показані на Фіг. 22 і 23. Цитотоксичну димерну сполуку згідно з даним винаходом можна кон'югувати із агентом, який зв'язується із клітинами, шляхом одноетапного або двоетапного способу кон'югування. На Фіг. 22a і 22b описані типові приклади, у яких димерна сполука, яка містить лінкер, наприклад, N-гідроксисукцинімідний ефір, безпосередньо взаємодіє з агентом, який зв'язується із клітинами, з одержанням бажаного кон'югату. На Фіг. 22c димер, який зв'язується, 1g спочатку обробляли розчином бісульфату натрію, забезпечуючи одержання модифікованої димерної сполуки 26 перед додаванням антитіла з метою утворення кон'югату huMy9-6-SBDP-1f згідно з даним винаходом.

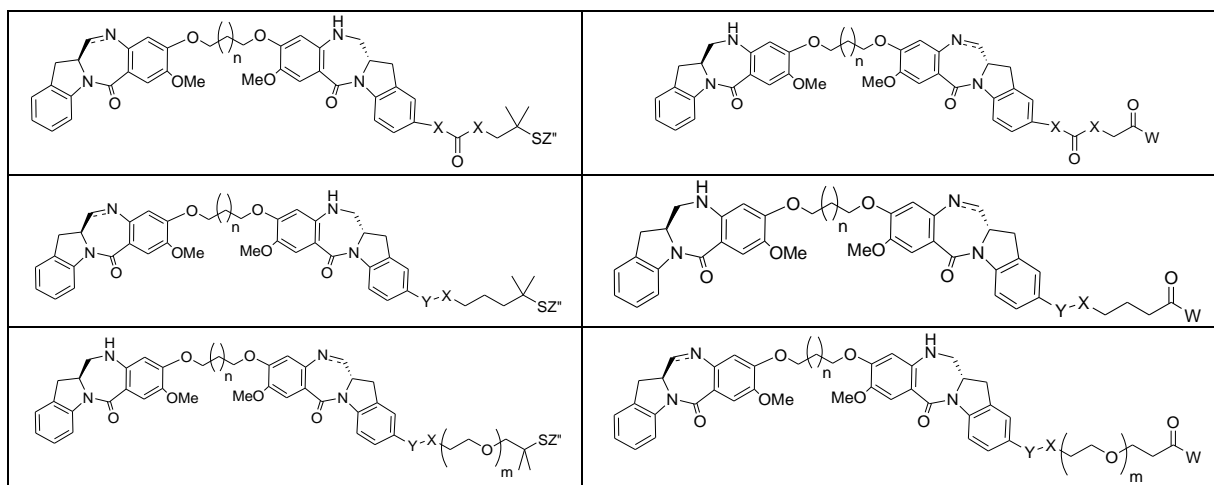
[302] Типовий приклад двоетапного способу кон'югування описаний на фіг. 23, де антитіло спочатку модифікували біфункціональним зшиваючим агентом, одержуючи антитіло, яке має бажану кількість лінкерів, які підходять для реакції з димерною сполукою, яка містить вільну тіолову групу. У зазначеному прикладі антитіло huMy9-6 спочатку модифікували SPDB, одержуючи антитіло з лінкерами, які містять дітіопіридилову групу. Потім модифіковане антитіло піддавали впливу вільного тіолу, наприклад, 2a, одержуючи необхідний кон'югат huMy9-6-SPDB-2a.

[303] Способи синтезу сполук лікарська речовина-лінкер і кон'югатів згідно з винаходом також описані в попередній патентній заявці США № 61/443092, поданій 15 лютого 2011 р., і заявці на винахід США, яка претендує на пріоритет дати їх подачі, і поданій в той же день заявці, яка розглядається в даний момент, за назвою "METHODS OF PREPARATION OF CONJUGATES", причому повний зміст зазначених заявок, включаючи всі креслення, формули, схеми синтезу, технічні характеристики і формули винаходу, включені в даний документ за допомогою посилань.

[304] Структури типових сполук і кон'югатів згідно з даним винаходом показані в Таблицях 1-8. Зазначені сполуки і кон'югати можна одержати у відповідності зі способами, описаними тут.

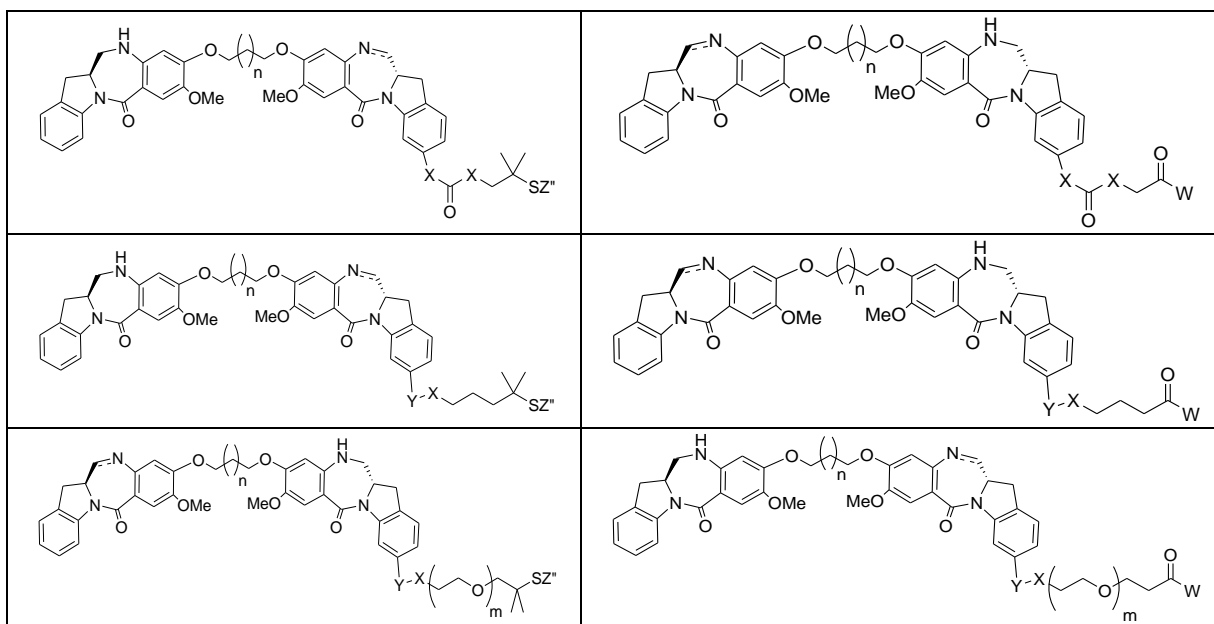
Таблиця 1

Структури типових сполук згідно з даним винаходом



40

Продовження таблиці 1



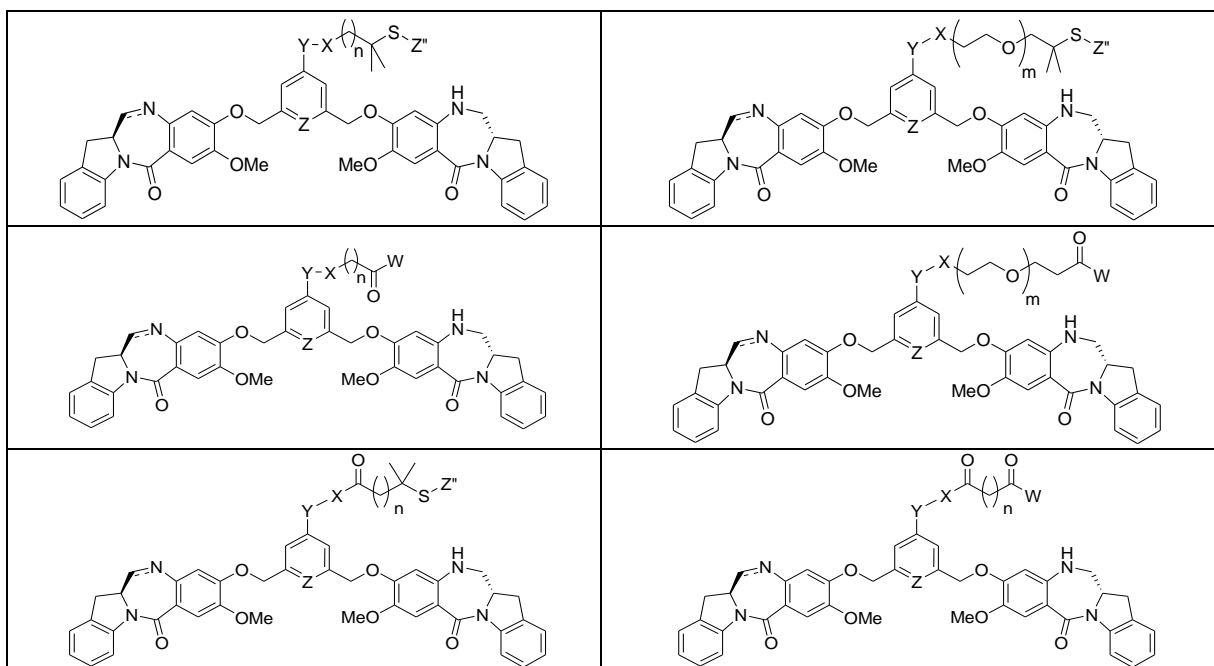
Примітки:

n = 1 або 3; m = 3 або 4

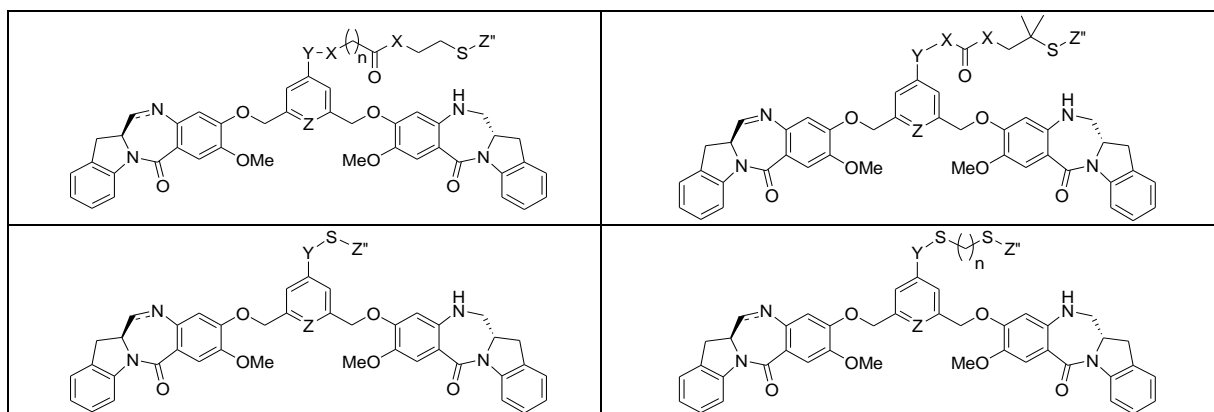
W = OH, OMe, ONHS, NHNH<sub>2</sub>, H, Me, Ph, пептидX = CH<sub>2</sub>, O, S, NH або NMeY = CH<sub>2</sub> або відсутняZ'' = H, Me, SMe, S(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>C(O)NHS або CH<sub>2</sub>C(O)NHS, або BMPS, або SMCC, або SPy, або SPy-NO<sub>2</sub>

Таблиця 2

Структури типових сполук згідно з даним винаходом (продовження)



Продовження таблиці 2



Примітка:

n = 1, 2 або 3

m = 3 або 4

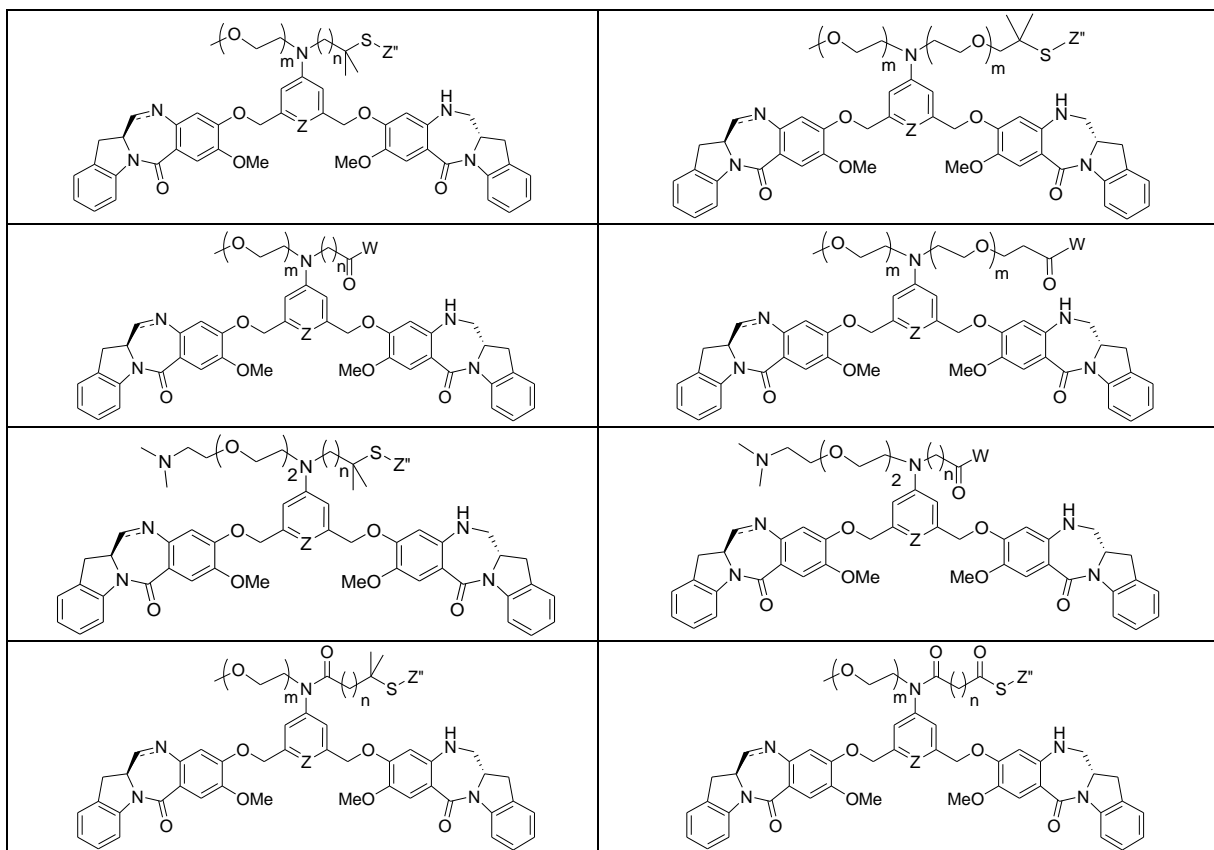
W = OH, OMe, ONHS, NHNH<sub>2</sub>, H, Me, Ph, пептидX = CH<sub>2</sub>, O, S, NH, NMeY = відсутня або CH<sub>2</sub>

Z = CH або N

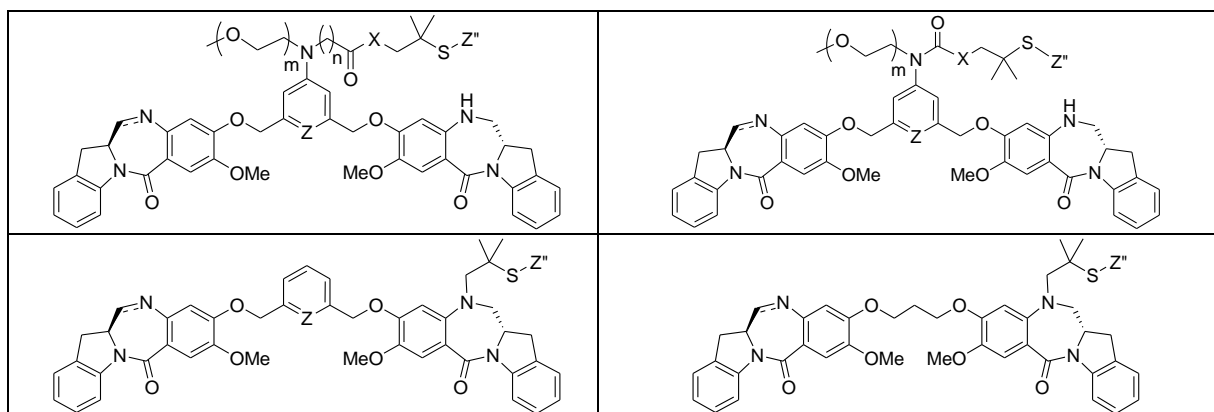
Z'' = H, Me, SMe, S(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>C(O)NHS або CH<sub>2</sub>C(O)NHS, або BMPS, або SMCC, або Spy, або SPy-NO<sub>2</sub>

Таблиця 3

Структури типових сполук згідно з даним винаходом (продовження)



Продовження таблиці 3



Примітка:

n = 1, 2 або 3

m = 3 або 4

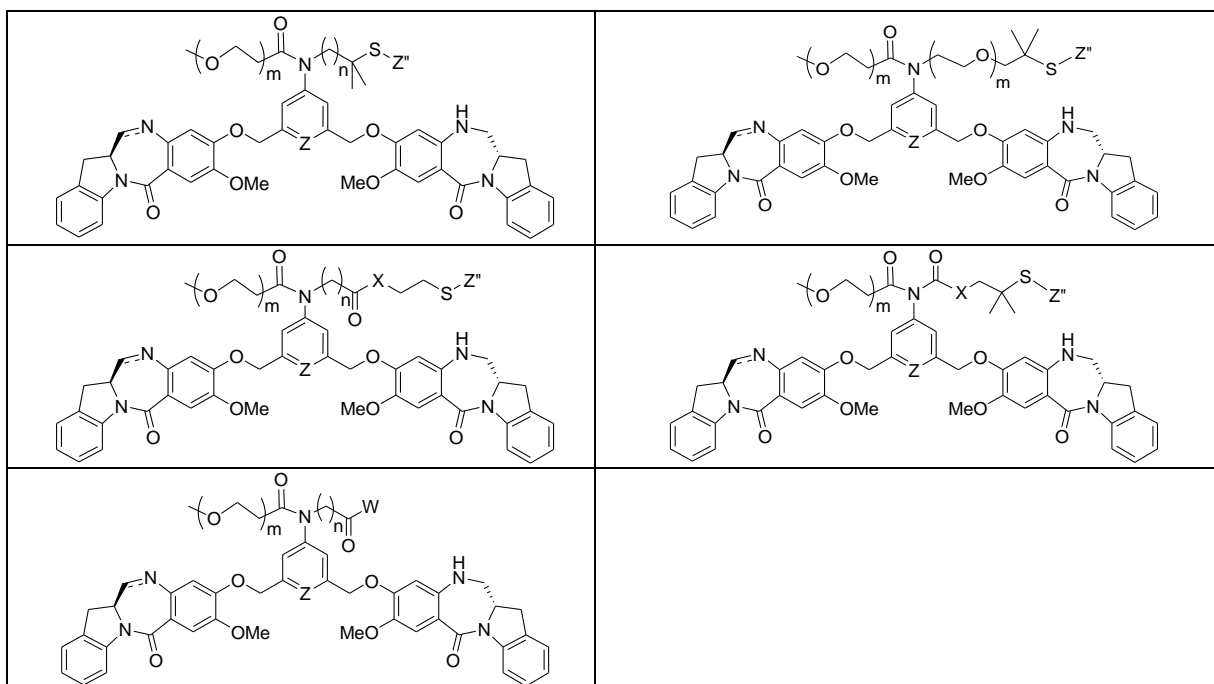
W = OH, OMe, ONHS, NHNH<sub>2</sub>, H, Me, Ph, пептидX = CH<sub>2</sub>, O, S, NH, NMe

Z = CH або N

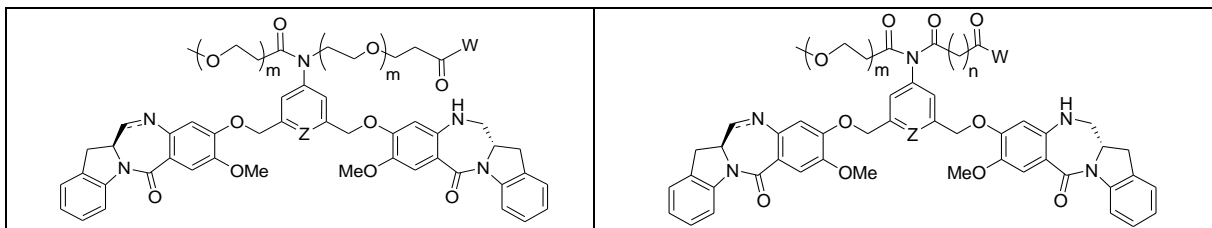
Z'' = H, Me, SMe, S(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>C(O)NHS або CH<sub>2</sub>C(O)NHS, або BMPS, або SMCC, або SPy, або SPy-NO<sub>2</sub>

Таблиця 4

Структури типових сполук згідно з даним винаходом (продовження)



Продовження таблиці 4



Примітка:

n = 1, 2 або 3

m = 3 або 4

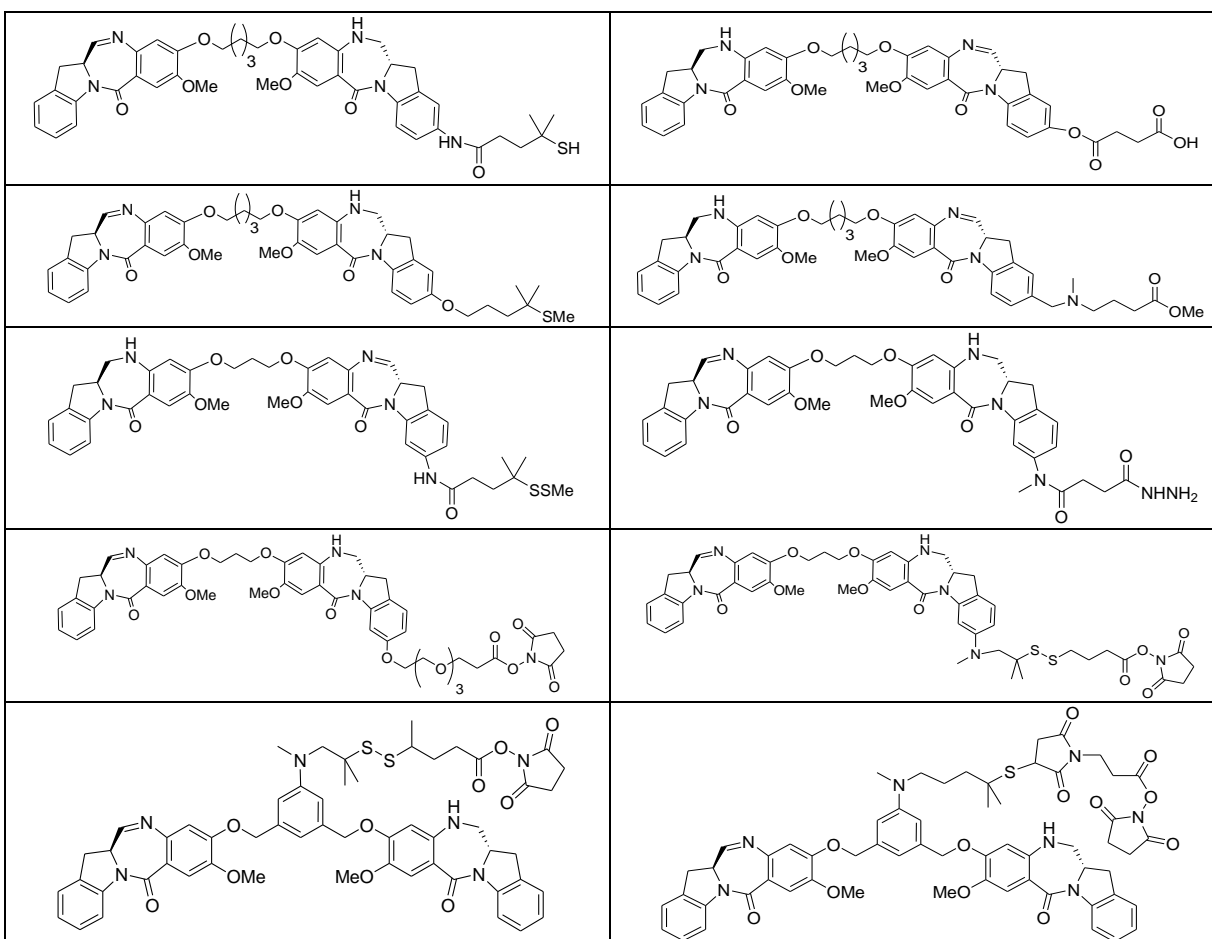
W = OH, OMe, ONHS, NHNH<sub>2</sub>, H, Me, Ph, пептидX = CH<sub>2</sub>, O, S, NH, NMe

Z = CH або N

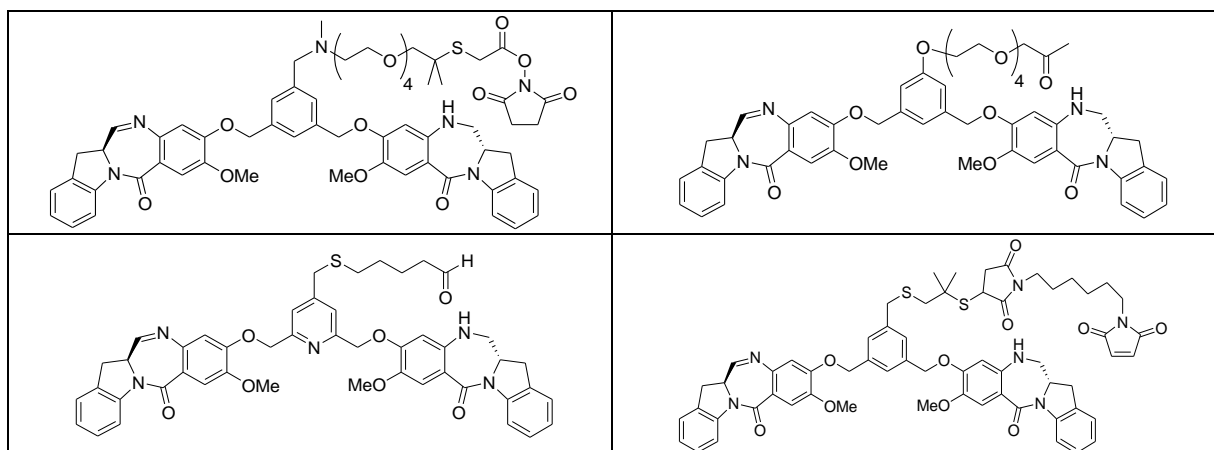
Z' = H, Me, SMe, S(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>C(O)NHS або CH<sub>2</sub>C(O)NHS, або BMPS, або SMCC, або SPy, або SPy-NO<sub>2</sub>

Таблиця 5

Структури типових сполук згідно з даним винаходом

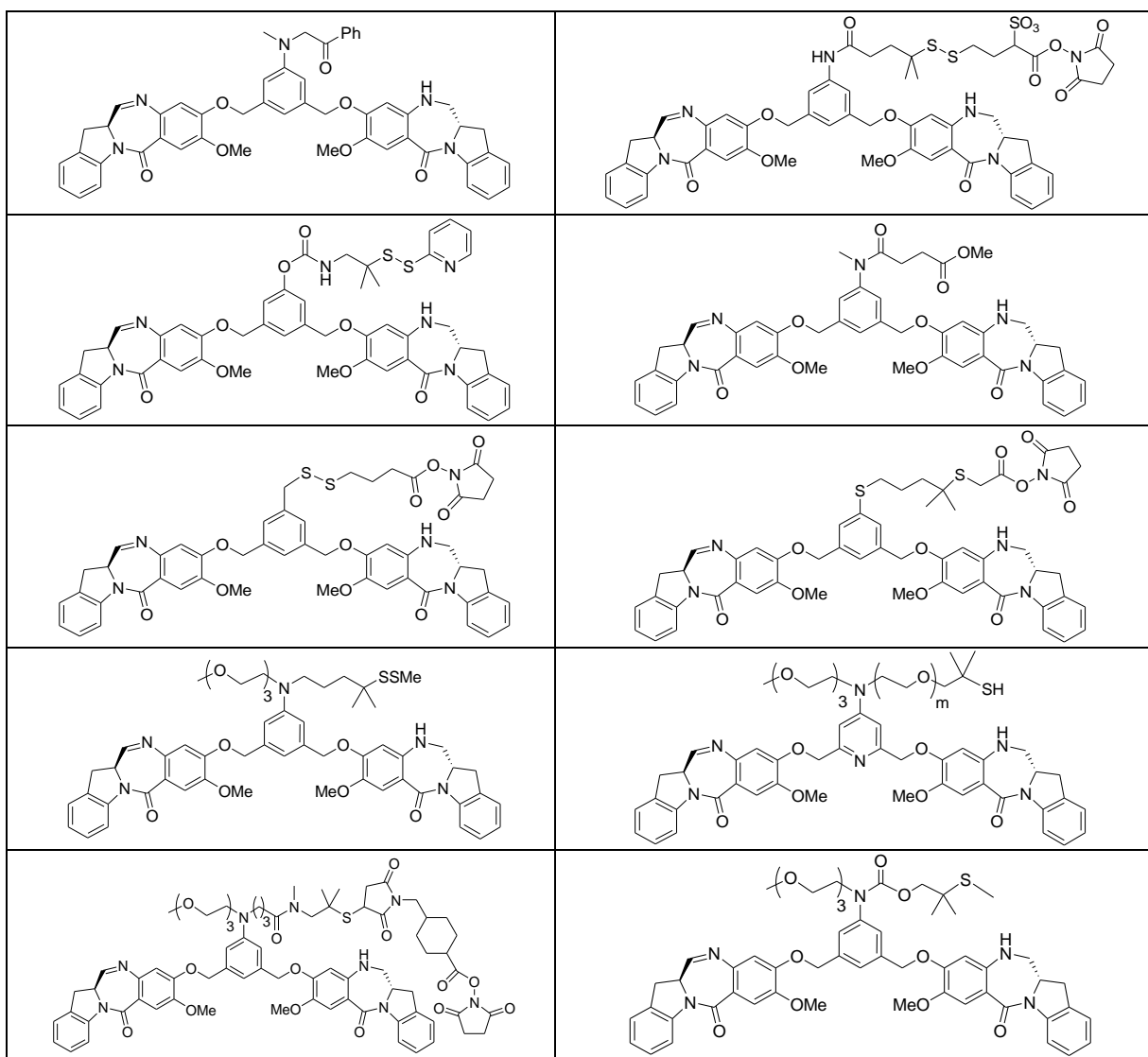


Продовження таблиці 5



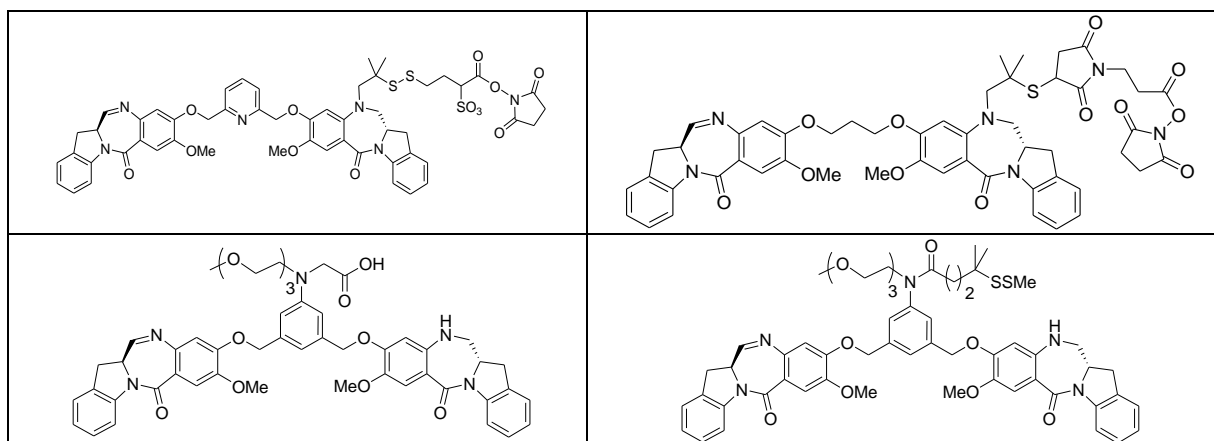
Таблиця 6

Структури типових сполук згідно з даним винаходом (продовження)



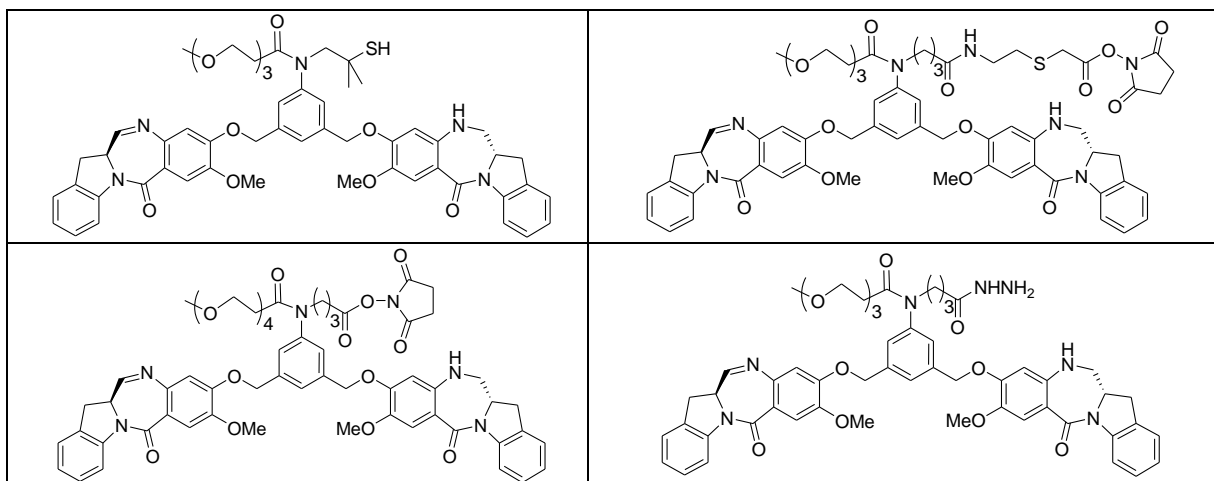


Продовження таблиці 6



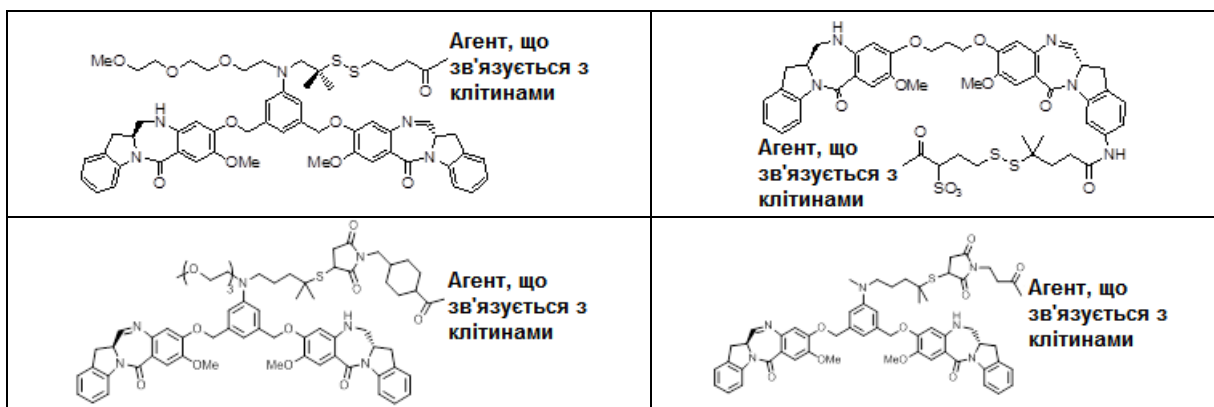
Таблиця 7

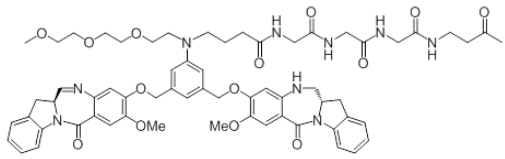
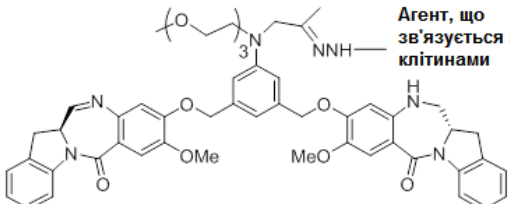
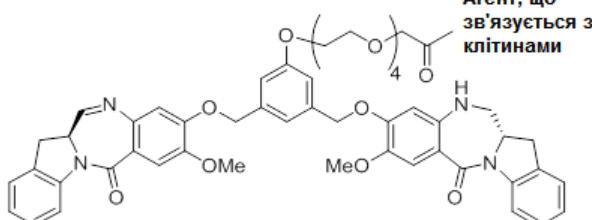
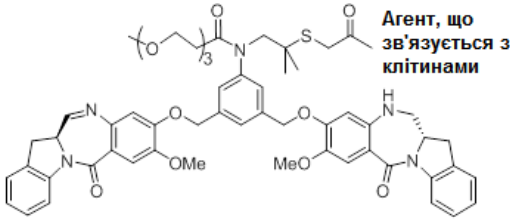
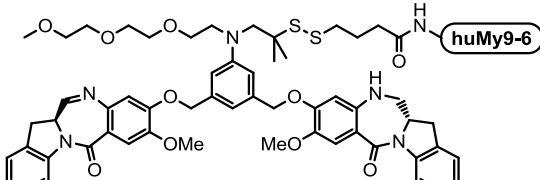
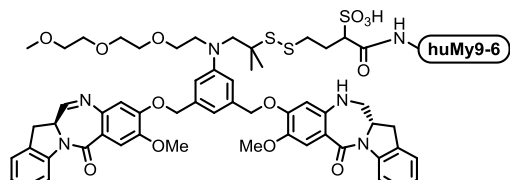
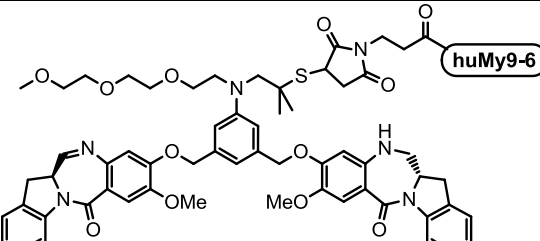
Структури типових сполук згідно з даним винаходом (продовження)



Таблиця 8

Структури типових кон'югатів згідно з даним винаходом



 <p>Агент, що зв'язується з клітинами</p>	 <p>Агент, що зв'язується з клітинами</p>
 <p>Агент, що зв'язується з клітинами</p>	 <p>Агент, що зв'язується з клітинами</p>
 <p>huMy9-6-SPDB-1f</p>	 <p>huMy9-6-сульфо-SPDB-1f</p>
 <p>huMy9-6-BMPS-1f</p>	

## Цитотоксичність сполук і кон'югатів in vitro

- [305] Можна виконати оцінку здатності цитотоксичних сполук і кон'югатів «агент, який зв'язується із клітинами/лікарська речовина», згідно з даним винаходом, пригнічувати проліферацію різних ліній ракових клітин in vitro. Наприклад, для оцінки цитотоксичності зазначених сполук і кон'югатів можна використовувати такі лінії клітин як лінія карциноми ободової кишки людини COLO 205, лінія клітин рабдоміосаркоми RH-30 і лінія клітин множинної мієломи MOLP-8. Клітини, використовувані для оцінки, можна піддавати впливу сполук або кон'югатів протягом 1-5 діб, а фракції клітин, які вижили, вимірювати шляхом прямого аналізу за допомогою відомих способів. Потім на підставі результатів аналізів можна розрахувати значення  $IC_{50}$ . У якості альтернативи або доповнення, у якості одного з посібників з визначення типів раку, які можуть мати чутливість до лікування сполуками або кон'югатами згідно з винаходом, можна використовувати скринінг чутливості ліній клітин in vitro, наприклад, описаний у Національному інституті раку США (див. Voskoglou-Nomikos et al., 2003, Clinical Cancer Res. 9: 42227-4239, включений у даний документ за допомогою посилання).

- [306] Приклади оцінки in vitro активності та специфічності кон'югатів антитіло/цитотоксичний агент згідно з даним винаходом стосовно мішені показані на Фіг. 25-26. Усі кон'югати є надзвичайно цитотоксичними стосовно антиген-позитивних ракових клітин з  $IC_{50}$  у низькому діапазоні. Антиген-негативні лінії клітин залишаються життєздатними під час впливу цих же кон'югатів. Показано, що спрямована специфічна активність індолбензодіазепінових димерів знижувалася в 160 разів при блокуванні некон'югованим антитілом huMy9-6 (проти CD33) і знижувалася у 40 разів при блокуванні некон'югованим антитілом FOLR1 (антитіло проти рецептора фолату). Наприклад, кон'югат huMy9-6-SPDB-1f знищував антиген-позитивні клітини HL60/QC зі значенням  $IC_{50}$ , рівним 10,5 нМ, у той час як додавання надлишку некон'югованого антитіла huMy9-6 антитіло послаблювало цитотоксичну дію ( $IC_{50} = 1,69$  нМ), демонструючи специфічність до антигена (Фіг. 25A). Крім того, кон'югат huMy9-6-SPDB-1f також має високу

активність як до лінії клітин HL60/ATCC зі значенням  $IC_{50}$  21 пМ, так і до лінії клітин NB-4 зі значенням  $IC_{50}$  190 пМ (Фіг. 25B і 25C).

[307] Аналогічно кон'югат huFOLR1-SPDB-1f мав високу активність зі значенням  $IC_{50}$ , яке становило 55 пм стосовно антиген-позитивних клітин KB (Фіг. 26). Додавання надлишку некон'югованого антитіла huFOLR1 послаблювало зазначений цитотоксичний ефект більш ніж у 40 разів, демонструючи специфічність до антигена.

[308] Дію кон'югування на зв'язування антитіл вимірювали шляхом порівняння зв'язування як некон'югованого антитіла huMy9-6, так і кон'югату huMy9-6-SPDB-1f з лінією клітин HL60/QC (Фіг. 27). FACS-аналіз виявив, що зміни зв'язуючої здатності кон'югату з вільними антитілами відсутні, що вказує на відсутність порушень зв'язування, викликаних кон'югуванням цитотоксичного агента з антитілом.

[309] В одному прикладі вимірювали активність кон'югату "агент, який зв'язує клітини/цитотоксичний агент" *in vivo*. Бестимусних мишей, які несуть пухлини HL60/QC людини, лікували кон'югатом huMy9-6-SPDB-1f і при багаторазових дозах спостерігали значний регрес пухлини, у той час як у необроблених мишей спостерігали швидкий ріст пухлини (Фіг. 28). Активність спостерігалася при дозах 20 мкг/кг, що щонайменше у 35 разів нижче, ніж максимально стерпна доза.

[310] Дія насичення іміногруп на стерпність показана в Таблиці 9. Диіміновий кон'югат huFOLR1-лікарська речовина 1 випробовували при багаторазових дозах, усі з яких були визнані високотоксичними, причому ті, які вижили, залишалися тільки в групі, яка зазнала впливу мінімальних протестованих доз 50 мкг/кг. На противагу цьому виявлено, що частково відновлені моноімінові кон'югати huFOLR1-лікарська речовина 2 і huFOLR1-SPDB-IGN (huFOLR1-SPDB-1f) мали значно поліпшену стерпність, причому кон'югат huFOLR1-SPDB-IGN (huFOLR1-SPDB-1f) демонстрував 100% виживаність тварин за максимальних протестованих доз 560 мкг/кг.

Композиції і способи використання

[311] Даний винахід включає композицію (наприклад, фармацевтичну композицію), яка включає нові бензодіазепінові сполуки, описані тут (наприклад, індолінбензодіазепін або оксазолідинбензодіазепін), їх похідні або кон'югати (і/або сольвати, гідрати і/або солі) і носій (фармацевтично прийнятний носій). Даний винахід також включає композицію (наприклад, фармацевтичну композицію), яка включає нові бензодіазепінові сполуки, описані тут, їх похідні або кон'югати (і/або сольвати, гідрати і/або солі) і носій (фармацевтично прийнятний носій), а також яка включає другий терапевтичний агент. Композиції згідно з даним винаходом можна використовувати для інгібування аномального клітинного росту або лікування проліферативного розладу у ссавця (наприклад, людини). Композиції згідно з даним винаходом також можна використовувати для лікування депресії, тривоги, стресу, фобій, паніки, дисфорії, психіатричних розладів, болю і запальних захворювань у ссавця (наприклад, людини).

[312] Даний винахід включає спосіб інгібування аномального клітинного росту або лікування проліферативного розладу у ссавця (наприклад, людини), який включає введення зазначеному ссавцеві терапевтично ефективної кількості нових бензодіазепінових сполук, описаних тут (наприклад, індолінбензодіазепіну або оксазолідинбензодіазепіну), їх похідних або кон'югатів (і/або сольватів і солей) або їх композиції, окремо або в комбінації із другим терапевтичним агентом.

[313] Даний винахід також забезпечує способи лікування, які включають введення суб'єктові, який потребує лікування, ефективної кількості будь-якого з вищеописаних кон'югатів.

[314] Крім того, даний винахід забезпечує спосіб індукції загибелі клітин у вибраних популяціях клітин, який включає забезпечення контакту клітин-мішеней або тканин, які містять клітини-мішені, з ефективною кількістю цитотоксичного агента, яка включає будь-який з кон'югатів «цитотоксична сполука-агент, який зв'язується із клітинами» (наприклад, індолінбензодіазепіновий або оксазолідинбензодіазепіновий димер, приєднаний до агента, який зв'язується із клітинами) згідно з даним винаходом, його сіль або сольват. Клітинами-мішенями є клітини, з якими може зв'язуватися агент, який зв'язується із клітинами.

[315] За бажання разом з кон'югатом можна вводити інші активні агенти, наприклад, інші протипухлинні агенти.

[316] Підходящі фармацевтично прийнятні носії, розріджувачі і допоміжні речовини добре відомі і можуть бути визначені фахівцем у даній галузі техніки, як вимагає клінічна ситуація.

[317] Приклади підходящих носіїв, розріджувачів і/або допоміжних речовин включають: (1) фізіологічний розчин з фосфатним буфером за Дульбекко, pH 7,4, який містить або не містить приблизно від 1 мг/мл до 25 мг/мл людського сироваткового альбуміну, (2) 0,9% розчин NaCl (0,9% маса/об'єм NaCl), і (3) 5% (маса/об'єм) розчин декстрази, а також може містити антиоксидант, наприклад, триптамін і стабілізуючий агент, наприклад, Твін 20.

[318] Спосіб індукування загибелі клітин у вибраних клітинних популяціях можна здійснювати *in vitro*, *in vivo* або *ex vivo*.

[319] Приклади використання *in vitro* включають обробку аутологічного кісткового мозку перед його трансплантацією цьому ж пацієнтові з метою знищення хворих або злоякісних клітин; обробку кісткового мозку перед його трансплантацією з метою знищення компетентних Т-клітин і запобігти реакції трансплантат проти хазяїна (РТПХ); обробку клітинних культур з метою знищення всіх клітин, крім бажаних різновидів, які не експресують антиген-мішень; або знищення різновидів, які експресують небажаний антиген.

[320] Умови неклінічного використання *in vitro* може легко визначити фахівець у даній галузі техніки.

[321] Прикладами клінічного використання *ex vivo* є використання з метою видалення пухлинних клітин або лімфоїдних клітин з кісткового мозку перед аутологічною трансплантацією при лікуванні раку або при лікуванні аутоімунних захворювань, або для видалення Т-клітин та інших лімфоїдних клітин з аутологічного або аlogenного кісткового мозку або тканини перед трансплантацією з метою запобігання РТПХ. Обробку можна проводити в такий спосіб. Виконують добір кісткового мозку у пацієнта або іншої особи, а потім інкубують у середовищі, яке містить сироватку, до якої додають цитотоксичний агент згідно з винаходом у діапазоні концентрацій в інтервалі від приблизно 10 мкМ до 1 пМ, протягом від приблизно 30 хвилин до приблизно 48 годин за температури приблизно 37°C. Точну концентрацію і час інкубування, тобто дозу, може легко визначити фахівець у даній галузі техніки. Після інкубування клітини кісткового мозку промивають середовищем, яке містить сироватку, і повертають в організм пацієнта шляхом внутрішньовенної ін'єкції відповідно до відомих способів. У випадках, коли пацієнт одержує інше лікування, наприклад, курс абляційної хіміотерапії або тотальне опромінення між моментом відбору кісткового мозку і повторним введенням оброблених клітин, оброблені клітини кісткового мозку зберігають у замороженому вигляді в рідкому азоті з використанням стандартного медичного устаткування.

[322] Для клінічного використання *in vivo* цитотоксичний агент згідно з винаходом поставляють у вигляді розчинів або ліофілізованих порошків, які перевіряють на стерильність і рівні ендотоксинів. Приклади підходящих протоколів введення кон'югатів наведені нижче. Кон'югати вводять раз у тиждень протягом 4 тижнів у вигляді внутрішньовенного болюсного вливання. Болюсні дози вводять у обсязі від 50 до 1000 мл фізіологічного розчину, до якого можна додати від 5 до 10 мл людського сироваткового альбуміну. Дозування становлять від 10 мкг до 2000 мг за введення, внутрішньовенно (у діапазоні від 100 нг до 20 мг/кг у день). Після чотирьох тижнів лікування пацієнт може продовжувати одержувати лікування на щотижневій основі. Фахівець у даній галузі техніки може визначити специфічні клінічні протоколи стосовно способу введення, допоміжних речовин, розріджувачів, дозування, часу і т.д., як вимагає клінічна ситуація.

[323] Приклади медичних станів, які можна лікувати у відповідності зі способами індукції загибелі клітин у вибраних популяціях клітин *in vivo* або *ex vivo*, включають злоякісний новоутвір будь-якого типу, включаючи, наприклад, рак легені (дрібноклітинний і недрібноклітинний), молочної залози, товстої кишки, головного мозку, передміхурової залози, нирок, підшлункової залози, яєчників, голови та шиї, шкіри (меланому), карциному із клітин Меркеля, гліобластому, нейробластому і рак лімфатичних органів; аутоімунні захворювання, наприклад, системний червоний вовчак, ревматоїдний артрит і розсіяний склероз; відторгнення трансплантату, наприклад, відторгнення трансплантату нирки, відторгнення трансплантату печінки, відторгнення трансплантату легені, відторгнення трансплантату серця і відторгнення трансплантату кісткового мозку, реакцію трансплантат проти хазяїна; вірусні інфекції, наприклад, інфекцію ЦМВ, ВІЛ-інфекцію, СНІД і т.д., і паразитарні інфекції, наприклад, лямбліоз, амебіаз, шистосомоз та ін., як може визначити фахівець у даній галузі техніки.

[324] Засоби лікування раку і їх дозування, шляхи введення і рекомендовані способи застосування відомі в даній галузі техніки і описані в такій літературі як Physician's Desk Reference (PDR). В PDR описані дозування агентів, використовуваних при лікуванні різних видів раку. Режим дозування і дозування вищевказаних хіміотерапевтичних лікарських засобів, які є терапевтично ефективними, залежать від конкретного типу раку, який піддається лікуванню, ступеня розвитку захворювання та інших факторів, відомих лікарям-фахівцям, які може визначити лікар. Зміст PDR спеціально включений в даний документ за допомогою посилання. Фахівець у даній галузі техніки може виконати огляд PDR, використовуючи один або більше із наступних параметрів для визначення схеми дозування і дозувань хіміотерапевтичних агентів і кон'югатів, які можна використовувати відповідно до принципів даного винаходу. Зазначені параметри включають:

Докладний індекс

За виробником

Продукти (за назвою, використовуюваною у компанії, або за товарним знаком препарату)

Індекс категорії

5 Загальний/хімічний індекс (загальноприйняті назви препарату, які не є товарним знаком)

Кольорові зображення ліків

Інформація про продукт, відповідно до позначень FDA

Хімічна інформація

Функція/дія

10 Показання і протипоказання

Випробування, побічні ефекти, попередження

Аналоги і похідні

[325] Фахівець в галузі цитотоксичних агентів легко зрозуміє, що кожен із цитотоксичних агентів, описаних тут, можна модифікувати таким чином, що отримана сполука, як і раніше, зберігає специфічність і/або активність вихідної сполуки. Фахівець у даній галузі техніки також повинен розуміти, що багато із зазначених сполук можна використовувати замість цитотоксичних агентів, описаних тут. Таким чином, цитотоксичні агенти згідно з даним винаходом включають аналоги і похідні сполук, описаних тут.

20 [326] Усі посилання, наведені тут і в наведених нижче прикладах, спеціально повністю включені за допомогою посилання.

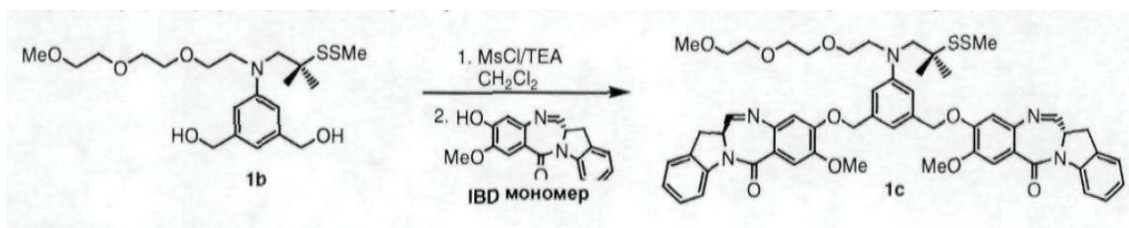
Приклади

[327] Винахід проілюстрований за допомогою посилання на необмежуючі приклади. Якщо не зазначене інше, усі відсотки, співвідношення, частини і т.д. є масовими. Усі реагенти були придбані в Aldrich Chemical Co, Нью-Джерсі, США, або інших комерційних джерел. Спектри ядерного магнітного резонансу ( $^1\text{H}$ -ЯМР) одержували на обладнанні Bruker 400 МГц, а мас-спектри одержували на обладнанні Bruker Daltonics Esquire 3000, використовуючи іонізацію електророзпилюванням.



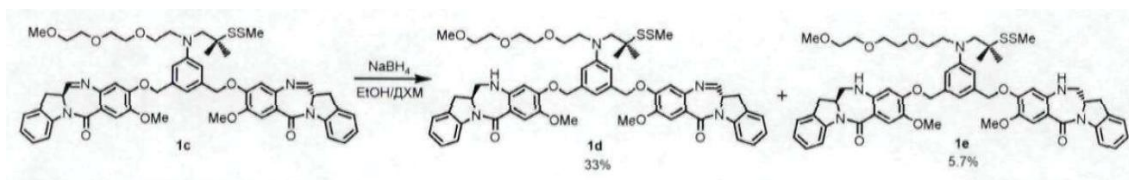
30 [328] Сполука 1b:

[329] До розчину, який перемішується, аніліну 1a (1,55 г, 5,18 ммоль) і 2-(метилдитіо)-ізобутиральдегіду (0,7 мл, 5,18 ммоль) у безводному 1,2-дихлорметані (20 мл) додавали триацетоксиборгідрид натрію (1,1 г, 5,18 ммоль) і порошок хлориду цинку (353 мг, 2,59 ммоль) з наступним додаванням безводного сульфату магнію (800 мг). Суміш перемішували за кімнатної температури (кт) протягом 6 годин, потім додавали другу порцію 2-(метилдитіо)-ізобутиральдегіду (0,7 мл, 5,18 ммоль) і триацетоксиборгідриду натрію (1,1 г, 5,18 ммоль). Суміш продовжували перемішувати за кімнатної температури протягом ночі. Реакційну суміш фільтрували через целіт і промивали дихлорметаном. Фільтрат концентрували і залишок очищали за допомогою хроматографії на силікагелі (Combiflash, колонка 40 г, дихлорметан/MeOH), одержуючи сполуку 1b (487 мг, вихід = 22%) у вигляді безбарвного масла. Крім того, відновлювали вихідний матеріал анілін, який не прореагував, 1a (1,02 г) з виходом 65%.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 Гц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  6,76 (с, 2H), 6,63 (с, 1H), 4,55 (с, 4H), 3,65-3,51 (м, 14H), 3,35 (с, 3H), 2,44 (с, 3H), 1,33 (с, 6H);  $^{13}\text{C}$  ЯМР (400 Гц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  149,0, 142,35, 114,0, 111,1, 71,98, 70,7, 70,6, 70,5, 67,6, 65,5, 59,75, 59,1, 53,9, 51,9, 26,6, 25,7, 20,75; МС (m/z): знайдене значення 456,2 (M + Na) $^+$ . Див. Фіг. 1.



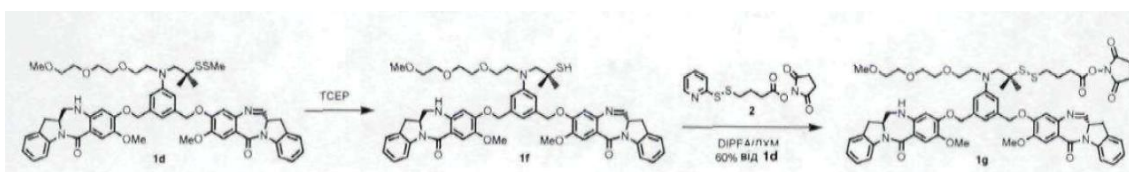
[330] Сполука 1с:

[331] До розчину, який перемішується, 1b (243 мг, 0,56 ммоль) у безводному дихлорметані (3,5 мл) додавали триетиламін (234 мкл, 1,68 ммоль). Суміш охолоджували до  $-10^{\circ}\text{C}$  і повільно додавали метансульфонілхлорид (113 мкл, 1,46 ммоль) протягом 15 хвилин за допомогою шприца. Розчин продовжували перемішувати протягом 60 хвилин за  $-10 \sim -7^{\circ}\text{C}$  і зупиняли реакцію додаванням суміші лід/вода. Розчин розбавляли етилацетатом і промивали холодною водою. Органічний шар висушували над безводним сульфатом натрію, відфільтровували, концентрували і піддавали впливу глибокого вакууму, одержуючи мезилати у вигляді світложовтуватого масла (340 мг). Мезилати переносили в 10-мл круглодонну колбу із сумішшю етилацетат/дихлорметан, концентрували і піддавали впливу глибокого вакууму. Додавали мономер IBD (412 мг, 1,4 ммоль) з наступним додаванням безводного диметилформаміду (3 мл) і безводного карбонату калію (232 мг, 1,68 ммоль). Отриману жовтувату суміш перемішували за кімнатної температури протягом ночі. Реакційну суміш розбавляли дихлорметаном і промивали насиченим розчином NaCl. Органічний шар висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували. Залишок розчиняли в дихлорметані, наносили на колонку із силікагелем та елюювали сумішшю дихлорметан/метанол (15:1, потім 10:1). Фракції, які містили сполуку 1с, об'єднували і концентрували, одержуючи 705 мг неочищеного продукту, який потім очищали за допомогою препаративної обернено-фазової ВЕРХ (колонка C18, елюювання сумішшю ацетонітрil/вода), одержуючи сполуку 1с у вигляді жовтуватої пухкої твердої речовини (181 мг, вихід = 33%).  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 Гц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,28 (д,  $J = 8,0$  Гц, 2H), 7,86 (д,  $J = 3,6$  Гц, 2H), 7,59 (с, 2H), 7,31-7,26 (м, 4H), 7,12 (т,  $J = 7,6$  Гц, 2H), 6,87-6,80 (м, 5H), 5,18 (дд,  $J_1 = 20,8$  Гц,  $J_2 = 12,4$  Гц, 4H), 4,50-4,47 (м, 2H), 3,99 (с, 6H), 3,75-3,48 (м, 18H), 3,37 (с, 3H), 2,44 (с, 3H), 1,32 (с, 6H); МС (m/z): знайдене значення  $1025,9$  ( $\text{M} + \text{H}_2\text{O} + \text{Na}$ ) $^+$ ,  $1043,9$  ( $\text{M} + 2\text{H}_2\text{O} + \text{Na}$ ) $^+$ ,  $983,8$  ( $\text{M} - \text{H}$ ) $^+$ ,  $1055,8$  ( $\text{M} + 4\text{H}_2\text{O} - \text{H}$ ) $^+$ . Див. Фіг. 1.



[332] Сполука 1d:

[333] До розчину, який перемішується, сполуки 1с (112 мг, 0,114 ммоль) у безводному дихлорметані (0,3 мл) і абсолютного етанолу (0,6 мл) додавали боргідрид натрію (0,9 мг, 0,023 ммоль) за  $0^{\circ}\text{C}$ . Крижану баню видаляли через 5 хвилин і перемішували суміш за кімнатної температури протягом 3 годин, потім охолоджували до  $0^{\circ}\text{C}$  і зупиняли реакцію насиченим розчином хлориду амонію, розбавляли дихлорметаном, розділяли і промивали органічний шар насиченим розчином NaCl, висушували над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрували через целіт і концентрували. Залишок очищали за допомогою обернено-фазової ВЕРХ (колонка C18, ацетонітрil/вода). Відповідні фракції екстрагували дихлорметаном і концентрували, одержуючи продукти 1d, 1e і вихідний матеріал, який не прореагував, 1с. Сполука 1d: 37,1 мг (вихід = 33%), МС (m/z): знайдене значення  $1010,4$  ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$ ,  $1028,4$  ( $\text{M} + \text{H}_2\text{O} + \text{Na}$ ) $^+$ ,  $1040,3$  ( $\text{M} + 3\text{H}_2\text{O} - \text{H}$ ) $^+$ ; сполука 1e: 6,4 мг (вихід = 5,7%), МС (m/z): знайдене значення  $1012,4$  ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$ ; сполука 1с: 44,1 мг (вихід = 39%). Див. Фіг. 1.

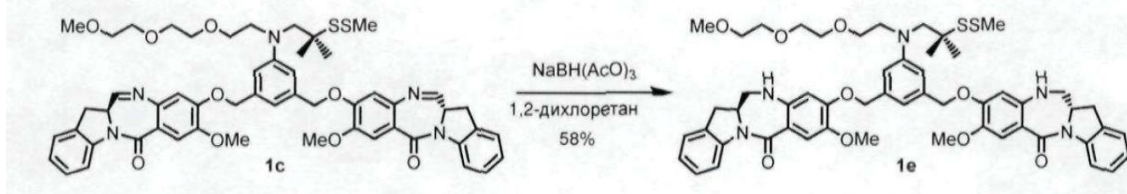




[334] Сполука 1g:

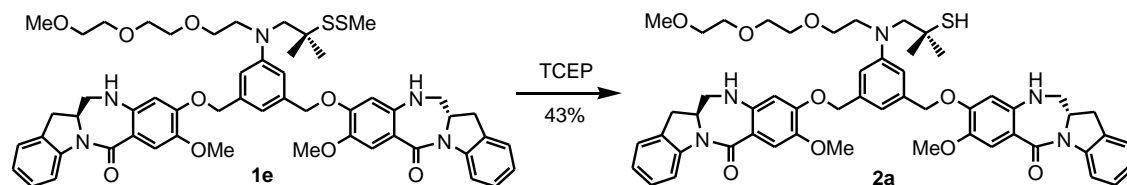
[335] До розчину, який перемішується, 1d (23,6 мг, 0,024 ммоль) в ацетонітрилі (3 мл) і метанолі (3 мл) додавали свіжоприготовлений розчин ТСЕР (17 мг солі ТСЕР і HCl нейтралізували насиченим розчином бікарбонату натрію до pH 6 ~ 6,5, потім розбавляли 0,5 мл фосфатного буфера, pH 6,5) за кімнатної температури. Суміш перемішували за кімнатної температури протягом 3 годин, потім розбавляли дихлорметаном і деіонізованою водою, розділяли, органічний шар промивали насиченим розчином NaCl, висушували над безводним сульфатом натрію і фільтрували. Фільтрат концентрували і піддавали впливу глибокого вакууму, одержуючи 22 мг 1f у вигляді світложовтватої піни. Ще 18 мг 1f одержували з 19 мг 1d, дотримуючись тієї ж процедури. Об'єднані 40 мг (0,042 ммоль) 1f розчиняли в безводному дихлорметані (0,5 мл) і перемішували. До зазначеного розчину, який перемішується, додавали NHS ефір SPDB 2 (34,6 мг, 80% чистоти, 0,085 ммоль) і діізопропілетиламін (15 мкл, 0,085 ммоль). Суміш продовжували перемішувати за кімнатної температури протягом ночі, зупиняли реакцію насиченим розчином хлориду амонію, розбавляли дихлорметаном, розділяли і промивали насиченим розчином NaCl, висушували над сульфатом натрію, фільтрували і концентрували. Залишок очищали за допомогою препаративної обернено-фазової ВЕРХ (колонка C18, ацетонітрил/вода). Фракції, які містять продукт, об'єднували, екстрагували дихлорметаном і концентрували, одержуючи сполуку 1g у вигляді білої твердої речовини (29,7 мг, вихід = 60%). <sup>1</sup>H-ЯМР (400 Гц, CD<sub>3</sub>CN): δ 8,28-8,25 (м, 1H), 8,20-8,17 (м, 1H), 7,87-7,84 (м, 1H), 7,49 (д, J = 4,4 Гц, 1H), 7,39 (д, J = 4,4 Гц, 1H), 7,31-7,19 (м, 4H), 7,13-7,01 (м, 2H), 6,92-6,87 (м, 3H), 6,77 (шс, 1H), 6,31-6,29 (м, 1H), 5,16-5,09 (м, 2H), 5,00 (д, J = 4,4 Гц, 2H), 4,94 (шс, -NH), 4,48-4,43 (м, 1H), 4,40-4,34 (м, 1H), 3,90 (д, J = 4,4 Гц, 3H), 3,77 (д, J = 4,4 Гц, 3H), 3,64-3,39 (м, 18H), 3,26 (д, J = 4,4 Гц, 3H), 2,82-2,70 (м, 8H), 2,17 (д, J = 4,4 Гц, 1H), 2,08-2,01 (м, 3H), 1,30 (д, J = 4,4 Гц, 6H); МС (m/z): знайдене значення 1025,9 (M + H<sub>2</sub>O + Na)<sup>+</sup>, 1043,9 (M + 2H<sub>2</sub>O + Na)<sup>+</sup>, 983,8 (M -H)<sup>-</sup>, 1055,8 (M + 4H<sub>2</sub>O -H)<sup>-</sup>; МС (m/z), знайдене значення 1179,5 (M + Na)<sup>+</sup>. Див. Фіг. 1.

### Приклад 2



[336] Сполука 1e:

[337] До розчину, який перемішується, 1c (8 мг, 0,0081 ммоль) у безводному 1,2-дихлорметані (0,2 мл) додавали триацетоксиборгидрид натрію (3,8 мг, 0,018 ммоль). Суміш перемішували за кімнатної температури протягом 1,5 год, потім розбавляли дихлорметаном, зупиняли реакцію насиченим розчином бікарбонату натрію, розділяли, органічний шар промивали насиченим розчином NaCl, висушували над сульфатом натрію і фільтрували. Фільтрат концентрували і залишок очищали за допомогою обернено-фазової ВЕРХ (колонка C18, ацетонітрил/вода), одержуючи сполуку 1e у вигляді білої твердої речовини (4,7 мг, вихід=58%). МС (m/z), знайдене значення 1012,4 (M+Na)<sup>+</sup>, 1024,2 (M+2H<sub>2</sub>O-H)<sup>-</sup>. Див. Фіг.2.

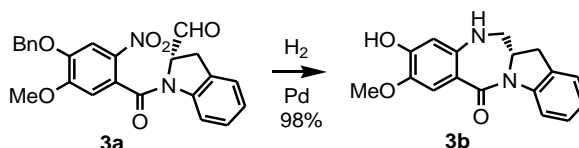


[338] Сполука 2a:

[339] До розчину, який перемішується, сполуки 1e (12 мг, 0,012 ммоль) в ацетонітрилі (1 мл) і метанолі (3 мл) додавали свіжоприготовлений розчин ТСЕР (11 мг солі ТСЕР і HCl нейтралізували насиченим розчином бікарбонату натрію до pH ~6,5, потім розбавляли 0,4 мл фосфатного буфера, pH 6,5) за кімнатної температури. Суміш перемішували за кімнатної температури протягом 3,5 годин, потім розбавляли дихлорметаном і деіонізованою водою, розділяли, органічний шар промивали насиченим розчином NaCl, висушували над безводним сульфатом натрію і фільтрували. Фільтрат концентрували і залишок очищали за допомогою

обернено-фазової ВЕРХ (колонка C18, ацетонітрил/вода), одержуючи сполуку 2a у вигляді білої твердої речовини (4,9 мг, вихід = 43%). МС (m/z), знайдене значення 966,4 (M + Na)<sup>+</sup>, 978,2 (M + 2H<sub>2</sub>O - H)<sup>+</sup>. Див. Фіг. 2.

### Приклад 3

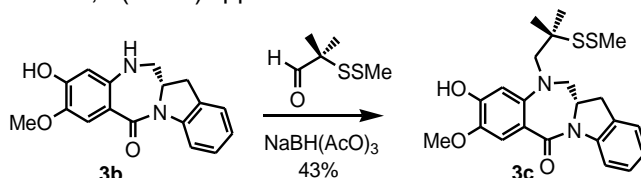


5

[340] Сполука 3b:

[341] До розчину сполуки 3a (830 мг, 1,9 ммоль) у метанолі (15 мл) додавали Pd/C (10%, 204 мг, 0,19 ммоль). Повітря в колбі видаляли за допомогою вакууму, а потім заміняли воднем з балона. Суміш перемішували за кімнатної температури протягом ночі. Суміш фільтрували через целіт і промивали целіт/Pd/C дихлорметаном і метанолом. Фільтрат концентрували, залишок розбавляли дихлорметаном і упарювали протягом декількох циклів, а потім очищали за допомогою хроматографії на силікагелі (дихлорметан/метанол), одержуючи сполуку 3b у вигляді світложовтуватої твердої речовини (558 мг, вихід = 98%). <sup>1</sup>H-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,34 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 7,40 (с, 1H), 7,22 (дд, J<sub>1</sub> = 8,0 Гц, J<sub>2</sub> = 7,6 Гц, 1H), 7,17 (д, J = 7,2 Гц, 1H), 7,02 (дд, J<sub>1</sub> = 7,2 Гц, J<sub>2</sub> = 7,6 Гц, 1H), 6,16 (с, 1H), 4,37 (тт, J<sub>1</sub> = 10,4 Гц, J<sub>2</sub> = 7,2 Гц, 1H), 3,76 (с, 3H), 3,49-3,36 (м, 3H), 2,73 (дд, J<sub>1</sub> = 16,8 Гц, J<sub>2</sub> = 3,6 Гц, 1H); <sup>13</sup>C-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 167,0, 150,4, 142,6, 141,2, 140,8, 129,9, 127,7, 124,8, 123,96, 117,4, 113,7, 112,5, 104,7, 57,3, 56,3, 54,7, 33,0; МС (m/z), знайдене значення 295,1 (M - H)<sup>-</sup>. Див. Фіг. 3.

15

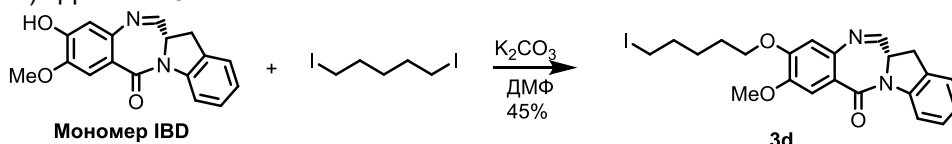


20

[342] Сполука 3c:

[343] До розчину 2-(метилдитіо)-ізобутиральдегіду (113 мг, 0,75 ммоль) і сполуки 3b (148 мг, 0,5 ммоль) у безводному 1,2-дихлоретані (2 мл) додавали триацетоксиборгідрид натрію (212 мг, 1,0 ммоль). Суміш перемішували за кімнатної температури протягом 2 днів. Протягом цього часу додавали ще дві порції (0,05 мл, 0,5 ммоль/порцію) 2-(метилдитіо)ізобутиральдегіду разом з однією порцією триацетоксиборгідриду натрію (106 мг, 0,5 ммоль). Реакцію зупиняли насиченим розчином бікарбонату натрію, суміш розбавляли дихлорметаном і водою. Органічний шар промивали насиченим розчином NaCl, висушували над сульфатом натрію і фільтрували. Фільтрат концентрували за зниженого тиску, залишок очищали за допомогою хроматографії на силікагелі (Combiflash, колонка 24 г, гексан/етилацетат), одержуючи сполуку 3c у вигляді білої пухкої твердої речовини (92,5 мг, вихід = 43%). Крім того, відновлювали вихідний матеріал, який не прореагував, 3b (49,3 мг, вихід = 33%). <sup>1</sup>H-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,30 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 7,28 (дд, J<sub>1</sub> = 6,8 Гц, J<sub>2</sub> = 7,6 Гц, 1H), 7,25-7,20 (м, 2H), 7,07 (т, J = 7,6 Гц, 1H), 6,80 (с, 1H), 6,17 (с, 1H), 4,36-4,28 (м, 1H), 3,89 (с, 3H), 3,78 (д, J = 14,4 Гц, 1H), 3,46-3,34 (м, 3H), 2,90 (д, J = 14,4 Гц, 1H), 2,73 (дд, J<sub>1</sub> = 16,4 Гц, J<sub>2</sub> = 2,8 Гц, 1H), 2,34 (с, 3H), 1,17 (с, 3H), 1,05 (с, 3H); <sup>13</sup>C-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 167,2, 149,0, 142,5, 142,2, 141,9, 129,9, 128,0, 125,3, 124,5, 124,1, 117,1, 112,0, 108,5, 64,8, 61,4, 58,1, 56,3, 53,4, 32,0, 26,3, 25,7, 25,4; МС (m/z), знайдене значення 453,3 (M + Na)<sup>+</sup>, 429,2 (M - H)<sup>-</sup>. Див. Фіг. 3.

35



Мономер IBD

3d

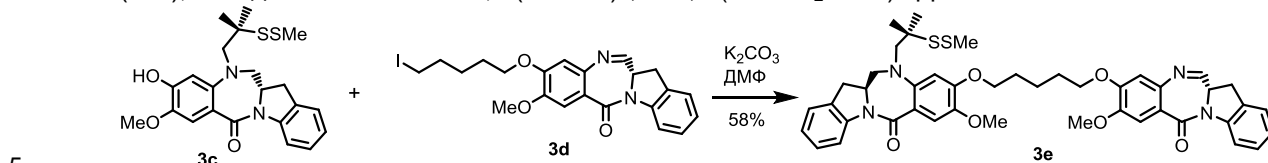
[344] Сполука 3d:

[345] До розчину, який перемішується, мономера IBD (125 мг, 0,425 ммоль) і 1,5-дйодпентану (0,63 мл, 4,25 ммоль) у безводному диметилформаміді (3 мл) додавали карбонат калію (59 мг, 0,425 ммоль) і перемішували суміш за кімнатної температури протягом ночі. Реакційний розчин розбавляли дихлорметаном, промивали насиченим розчином NaCl і висушували над безводним сульфатом натрію. Розчин фільтрували і концентрували. Залишок очищали за допомогою хроматографії на силікагелі (гексан/етилацетат), одержуючи сполуку 3d у вигляді жовтуватої піни (94 мг, вихід = 45%). <sup>1</sup>H-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,27 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 7,86 (д, J = 4,8 Гц, 1H), 7,56 (с, 1H), 7,27 (дд, J<sub>1</sub> = 8,4 Гц, J<sub>2</sub> = 7,6 Гц, 2H), 7,10 (дд, J<sub>1</sub> = 7,6 Гц, J<sub>2</sub> = 7,2 Гц, 1H), 6,82 (с, 1H), 4,48 (дт, J<sub>1</sub> = 10,8 Гц, J<sub>2</sub> = 4,4 Гц, 1H), 4,15-4,07 (м, 2H), 3,96 (с, 3H), 3,70

45

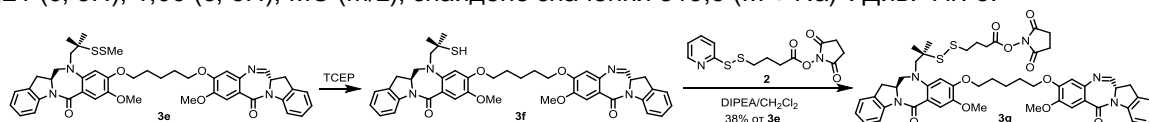


(дд,  $J_1 = 16,8$  Гц,  $J_2 = 10,8$  Гц, 1H), 3,49 (дд,  $J_1 = 16,8$  Гц,  $J_2 = 4,0$  Гц, 1H), 3,22 (т,  $J = 7,2$  Гц, 2H), 1,96-1,87 (м, 4H), 1,64-1,57 (м, 2H);  $^{13}\text{C}$ -ЯМР (400 Гц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  164,0, 163,2, 151,4, 148,3, 142,2, 140,3, 129,6, 128,3, 124,9, 120,5, 117,0, 112,0, 110,6, 68,8, 56,4, 55,1, 33,3, 32,7, 28,0, 27,2, 6,6; МС (m/z), знайдене значення 513,3 ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$ , 543,2 ( $\text{M} + 3\text{H}_2\text{O} - \text{H}$ ) $^-$ . Див. Фіг. 3.



[346] Сполука 3e:

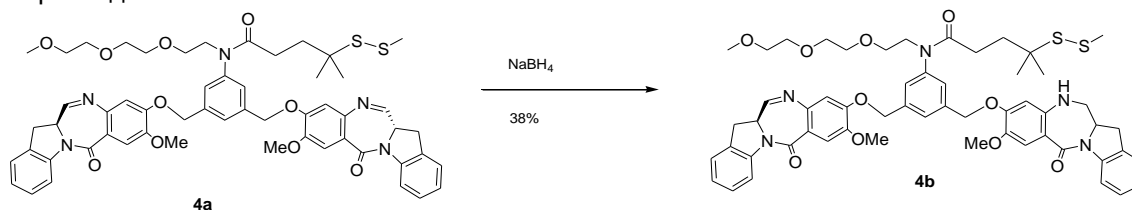
[347] До розчину, який перемішується, вихідних матеріалів 3c (91 мг, 0,21 ммоль) і 3d (94 мг, 0,19 ммоль) у безводному диметилформаміді (1 мл) додавали карбонат калію (29 мг, 0,21 ммоль) і перемішували суміш за кімнатної температури протягом ночі. Реакційний розчин розбавляли дихлорметаном, промивали насиченим розчином NaCl і висушували над безводним сульфатом натрію. Розчин фільтрували, концентрували і очищали залишок за допомогою хроматографії на силікагелі (гексан/етилацетат), одержуючи сполуку 3e у вигляді жовтуватої піни (89,1 мг, вихід = 58%).  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 Гц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,32-8,28 (м, 2H), 7,91 (шс, 1H), 7,57 (с, 1H), 7,36-7,21 (м, 5H), 7,15-7,05 (м, 2H), 6,85 (с, 1H), 6,74 (с, 1H), 4,53-4,48 (м, 1H), 4,37-4,31 (м, 1H), 4,21-4,03 (м, 4H), 3,98 (с, 3H), 3,88 (с, 3H), 3,86-3,70 (м, 2H), 3,55-3,35 (м, 4H), 2,93 (д,  $J = 4,0$  Гц, 1H), 2,73 (дд,  $J_1 = 16,4$  Гц,  $J_2 = 2,4$  Гц, 1H), 2,36 (с, 3H), 2,03-1,96 (м, 3H), 1,77-1,67 (м, 3H), 1,21 (с, 3H), 1,06 (с, 3H); МС (m/z), знайдене значення 815,3 ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$ . Див. Фіг. 3.



[348] Сполука 3g:

[349] До розчину, який перемішується, сполуки 3e (33,1 мг, 0,042 ммоль) в ацетонітрилі (2 мл) і метанолі (4 мл) додавали свіжоприготовлений розчин ТСЕР (36 мг солі ТСЕР і HCl нейтралізували насиченим розчином бікарбонату натрію до рН ~6,5, потім розбавляли 0,4 мл фосфатного буфера, рН 6,5) за кімнатної температури. Суміш перемішували за кімнатної температури протягом 3 годин, потім розбавляли дихлорметаном і деіонізованою водою, розділяли, органічний шар промивали насиченим розчином NaCl, висушували над безводним сульфатом натрію і фільтрували. Фільтрат концентрували і піддавали впливу глибокого вакууму, одержуючи 31 мг сполуки 3f у вигляді твердої жовтуватої речовини. Її розчиняли в безводному дихлорметані (0,5 мл). Послідовно додавали NHS ефір SPDB 2 (26 мг, 80% чистоти, 0,063 ммоль) і диізопропілетиламін (11 мкл, 0,063 ммоль). Суміш продовжували перемішувати за кімнатної температури протягом ночі, зупиняли реакцію насиченим розчином хлориду амонію, розбавляли дихлорметаном, розділяли і промивали насиченим розчином NaCl, висушували над сульфатом натрію, фільтрували і концентрували. Залишок очищали за допомогою препаративної обернено-фазової ВЕРХ (колонка C18, ацетонітрил/вода). Фракції, які містили продукт, об'єднували, екстрагували дихлорметаном і концентрували, одержуючи сполуку 3g у вигляді жовтуватої твердої речовини (15,2 мг, вихід = 38%). МС (m/z), знайдене значення 984,3 ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$ , 1014,2 ( $\text{M} + 3\text{H}_2\text{O} - \text{H}$ ) $^-$ . Див. Фіг. 3.

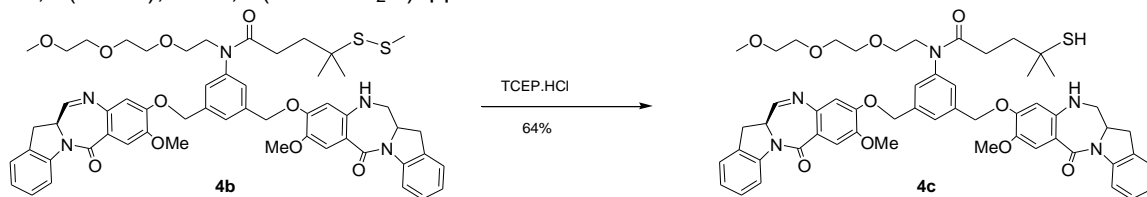
Приклад 4



[350] Сполука 4b:

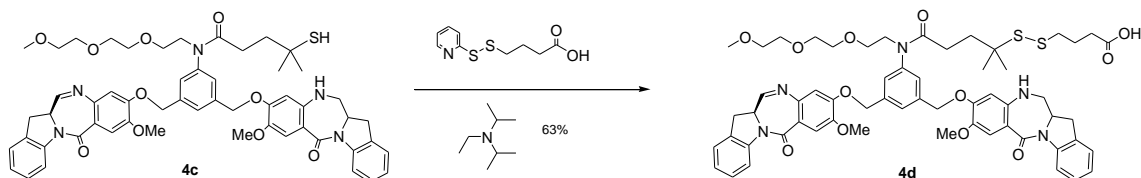
[351] Розчин, який перемішується, сполуки 4a (111 мг, 0,108 ммоль) в абсолютному етанолі (720 мкл) і безводному дихлорметані (360 мкл) охолоджували до 0°C на крижаній бані. Боргідрид натрію (0,817 мг, 0,022 ммоль) в 50 мкл абсолютного етанолу додавали за 0°C. Реакційну суміш перемішували за кімнатної температури протягом двох годин. Суміш охолоджували до 0°C на крижаній бані, зупиняли реакцію насиченим розчином хлориду амонію та екстрагували дихлорметаном. Органічні екстракти промивали насиченим розчином NaCl, висушували над безводним сульфатом натрію і фільтрували через целіт. Фільтрат концентрували за зниженого тиску і очищали неочищений продукт за допомогою обернено-фазової ВЕРХ (C18, деіонізована

вода/ацетонітрил), одержуючи сполуку 4b (43 мг, 38%).  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 Гц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ 8,26 (д, 1H, J = 8,0 Гц), 8,18 (д, 1H, J = 8,0 Гц), 7,77 (д, 1H, J = 4,4 Гц), 7,51 (с, 1H), 7,41 (с, 2H), 7,17 (м, 6H), 7,03 (т, 1H, J = 7,2 Гц), 6,96 (т, 1H, J = 7,2 Гц), 6,76 (с, 1H), 6,04 (с, 1H), 5,13 (м, 4H), 4,38 (м, 2H), 3,90 (с, 3H), 3,81 (с, 3H), 3,79 (м, 2H), 3,63 (м, 1H), 3,51 (м, 8H), 3,43 (м, 6H), 3,25 (с, 3H), 2,73 (дд, 1H, J = 3,6, 16,4 Гц), 2,22 (с, 3H), 2,04 (м, 2H), 1,81 (м, 2H), 1,18 (с, 6H); МС (m/z) знайдене значення 1051,9 (M+Na), 1069,9 (M+Na+H<sub>2</sub>O). Див. Фіг. 4.



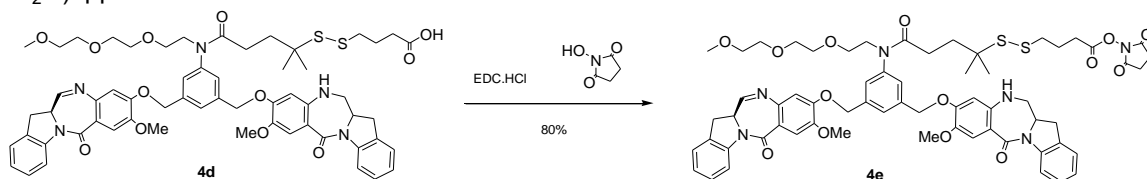
[352] Сполука 4с:

[353] До розчину, який перемішується, сполуки 4b (40 мг, 0,039 ммоль) у метанолі (4,45 мл) та ацетонітрилі (2,225 мл) додавали ТСЕР.НCl (39,0 мг, 0,136 ммоль) у натрій-фосфатному буфері (0,89 мл, рН 6,5). Суміш перемішували за кімнатної температури протягом 18 годин. Суміш розбавляли дихлорметаном і промивали водою і насиченим розчином NaCl. Органічні екстракти висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували. Очищення ОФ-ВЕРХ (С18, деіонізована вода/ацетонітрил) та екстракція дихлорметаном дозволяли одержати сполуку 4с (26,5 мг, 64%); МС (m/z) знайдене значення 1006,0 (M+ Na). Див. Фіг. 4.



[354] Сполука 4d:

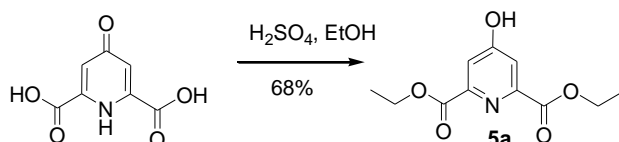
[355] До розчину, який перемішується, сполуки 4с (24 мг, 0,024 ммоль) у безводному дихлорметані (800 мкл) додавали РВА (11,18 мг, 0,049 ммоль) і діізопропілетиламін (20,18 мкл, 0,116 ммоль). Після перемішування протягом 18 годин за кімнатної температури реакційну суміш розбавляли дихлорметаном і зупиняли реакцію насиченим розчином хлориду амонію. Шари розділяли, органічний шар промивали насиченим розчином NaCl, висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували за зниженого тиску. Очищення за допомогою препаративної ТСХ (5% метанол/дихлорметан) дозволяло одержати сполуку 4d (17 мг, 63%); МС (m/z) знайдене значення 1123,9 (M+Na) 1139,9 (M+K); 1099,8 (M-H) 117,9 (M-H+H<sub>2</sub>O). Див. Фіг. 4.



[356] Сполука 4е:

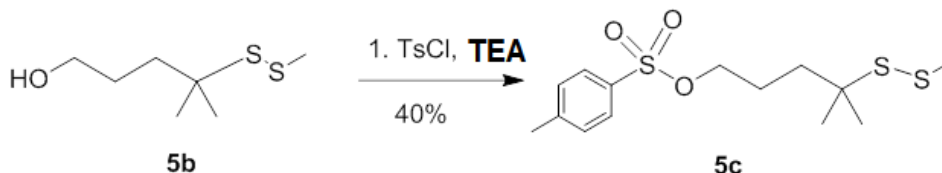
[357] До суміші сполуки 4d (15 мг, 0,014 ммоль) і N-гідроксисукциніміду (4,70 мг, 0,041 ммоль) у безводному дихлорметані (1,0 мл) додавали EDC.HCl (7,83 мг, 0,041 ммоль). Після перемішування протягом 18 годин за кімнатної температури реакційну суміш розбавляли дихлорметаном і зупиняли реакцію насиченим розчином хлориду амонію. Суміш промивали насиченим розчином NaCl, висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували за зниженого тиску. Неочищений матеріал очищали за допомогою ОФ-ВЕРХ (С18, деіонізована вода/ацетонітрил). Фракції, які містили продукт, об'єднували та екстрагували дихлорметаном, висушували над безводним сульфатом магнію, фільтрували і концентрували, одержуючи сполуку 4е (13 мг, 80%); МС (m/z) знайдене значення 1220,8 (M+Na) 1238,8 (M+Na+H<sub>2</sub>O), 1254,8 (M+K+H<sub>2</sub>O). Див. Фіг. 4.

Приклад 5



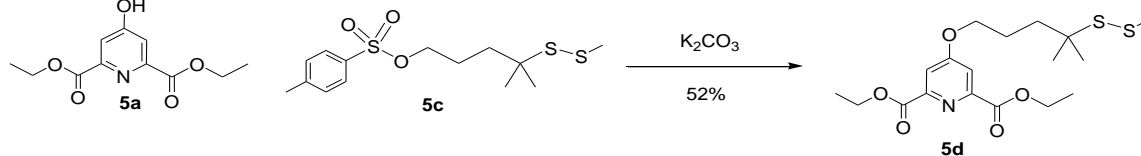
[358] Сполука 5a:

[359] Суміш гідрату хелідамової кислоти (3,0 г, 15,56 ммоль) і сірчаної кислоти (0,6 мл, 11,26 ммоль) в абсолютному етанолі (40 мл) нагрівали зі зворотним холодильником протягом 20 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, нейтралізували водним розчином карбонату натрію, а потім підкисляли концентрованою HCl. Додавали воду та екстрагували суміш дихлорметаном. Екстракти висушували над безводним сульфатом магнію, фільтрували і концентрували. Неочищений матеріал очищали за допомогою хроматографії на силікагелі (5% метанол/дихлорметан) з одержанням диетил-4-гідроксипіридин-2,6-дикарбоксилату (5a) (2,5 г, 68%) у вигляді білої твердої речовини. Див. Фіг. 5.



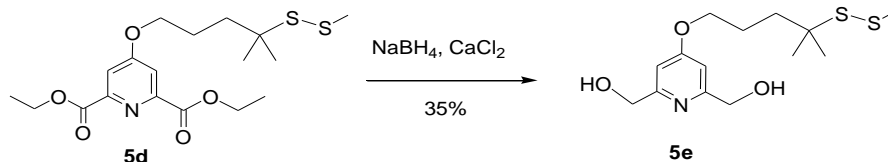
[360] Сполука 5c:

[361] Розчин 4-метил-4-(метилдисульфаніл)пентан-1-олу (5b) (2,0 г, 11,09 ммоль) у безводному дихлорметані (55,5 мл) охолоджували до 0°C на льодяній бані. Триетиламін (5,41 мл, 38,8 ммоль) і толуолсульфонілхлорид (3,17 г, 16,64 ммоль) додавали за 0°C. Реакційну суміш перемішували протягом трьох годин за кімнатної температури. Суміш екстрагували етилацетатом і промивали насиченим розчином NaCl. Органічні екстракти висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували. Очищення хроматографією на силікагелі (5% етилацетат/гексани) приводило до одержання 4-метил-4-(метилдисульфаніл)пентил-4-метилбензолсульфонату (5c) (1,5 г, 40%). 5b: <sup>1</sup>H-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3,42 (м, 2H), 2,19 (с, 3H), 1,77 (шс, 1H), 1,43 (м, 4H), 1,09 (с, 6H). 5c: <sup>1</sup>H-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,66 (д, 2H, J=7,6 Гц), 7,22 (д, 2H, J=8,0 Гц), 3,90 (т, 2H, J = 6,4 Гц), 2,32 (с, 3H), 2,23 (с, 3H), 1,60 (м, 2H), 1,44 (м, 2H), 1,11 (с, 6H). Див. Фіг. 5.



[362] Сполука 5d:

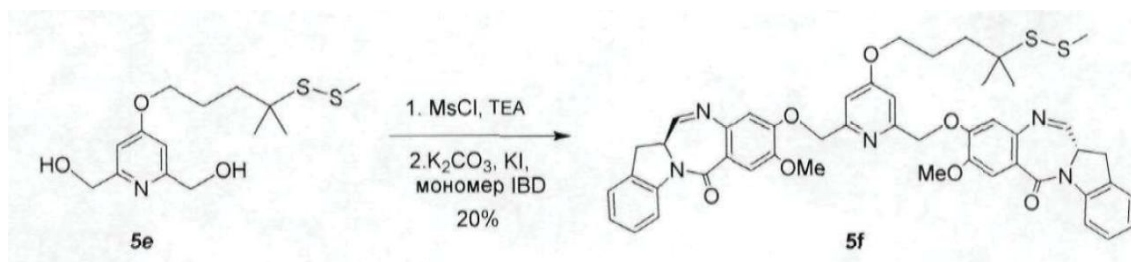
[363] До розчину, який перемішується, 4-метил-4-(метилдисульфаніл)пентил-4-метилбензолсульфонату (5c) (0,48 г, 1,435 ммоль) та диетил-4-гідроксипіридин-2,6-дикарбоксилату (5a) (0,343 г, 1,435 ммоль) у безводному диметилформаміді (6,5 мл) додавали карбонат калію (0,297 г, 2,152 ммоль). Реакційну суміш перемішували за 90°C протягом 18 годин. Потім давали охолонути до кімнатної температури і зупиняли реакцію насиченим розчином хлориду амонію. Суміш тричі екстрагували етилацетатом. Екстракти висушували безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували за зниженого тиску. Очищення хроматографією на силікагелі (30% гексан/етилацетат) дозволяло одержати диетил-4-(4-метил-4-(метилдисульфаніл)пентилокси)-піридин-2,6-дикарбоксилат (5d) (300 мг, 52%); <sup>1</sup>H-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,70 (с, 2H), 4,40 (кв, 4H, J = 7,2, 14,4 Гц), 4,07 (т, 2H, J=6, Гц), 2,35 (с, 3H), 1,86 (м, 2H), 1,70 (м, 2H), 1,38 (т, 6H, J=7,2 Гц), 1,27 (с, 6H); МС (m/z), знайдене значення 424,1 (M+Na), 440,1 (M+K). Див. Фіг. 5.



[364] Сполука 5e:

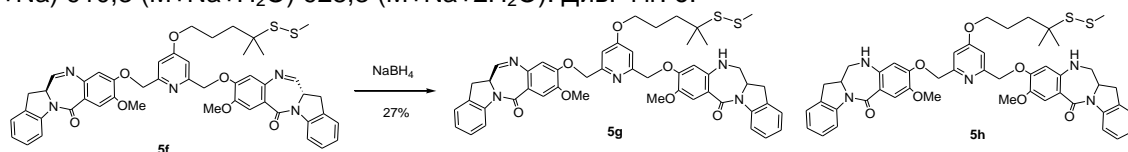
[365] До розчину, який перемішується, диетил-4-(4-метил-4-(метилдисульфаніл)пентилокси)-піридин-2,6-дикарбоксилату (5d) (270 мг, 0,672 ммоль) в абсолютному етанолі (7,0 мл) додавали хлорид кальцію (224 мг, 2,017 ммоль) і боргідрид натрію (76 мг, 2,017 ммоль). Реакційну суміш залишали перемішуватися за кімнатної температури протягом 90 хвилин, після чого реакцію зупиняли водою і концентрували суміш у вакуумі з метою видалення етанолу. Потім суміш двічі екстрагували дихлорметаном. Органічні екстракти об'єднували, промивали водою, висушували безводним сульфатом магнію і фільтрували через целіт. Фільтрат концентрували за зниженого

тиску і очищали неочищений матеріал шляхом хроматографії на силікагелі з елюванням 10% метанолом/дихлорметаном, одержуючи (4-(4-метил-4-(метилдисульфаніл)пентилокси)піридин-2,6-диіл)диметанол (5e) (75 мг, 35%);  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 Гц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  6,63 (с, 2H), 4,60 (с, 4H), 3,95 (т, 2H,  $J = 6,2$  Гц), 3,54 (шс, 2H), 2,35 (с, 3H), 1,82 (м, 2H), 1,66 (м, 2H), 1,26 (с, 6H); МС (m/z), знайдене значення 340,1 (M+Na). Див. Фіг. 5.



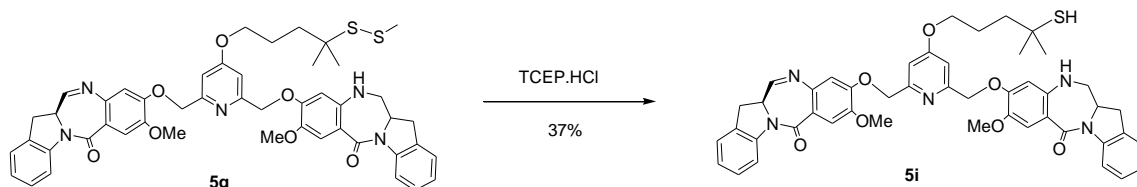
[366] Сполука 5f:

[367] Розчин, який перемішується, (4-(4-метил-4-(метилдисульфаніл)пентилокси)піридин-2,6-диіл)диметанолу (5e) (51 мг, 0,161 ммоль) у безводному дихлорметані (1,6 мл) охолоджували до  $-5^\circ\text{C}$  на ацетон/крижаній бані. Додавали триетиламін (0,112 мл, 0,803 ммоль) і метансульфонілхлорид (0,031 мл, 0,402 ммоль). Суміш перемішували протягом 60 хвилин за  $-5^\circ\text{C}$ . Реакцію зупиняли водою з льодом та екстрагували суміш холодним етилацетатом. Органічні екстракти промивали крижаною водою, висушували безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували за зниженого тиску, одержуючи димезилат. До суміші, яка перемішується, димезилатного інтермедіата (179 мг, 0,378 ммоль) і мономера IBD (256 мг, 0,869 ммоль) у безводному диметилформаміді (3,8 мл) додавали карбонат калію (261 мг, 1,890 ммоль) і йодид калію (31,4 мг; 0,189 ммоль). Реакційну суміш залишали перемішуватися за кімнатної температури протягом 18 год. Реакцію зупиняли водою і тричі екстрагували дихлорметаном. Органічні екстракти висушували сульфатом натрію, фільтрували і концентрували. Неочищений матеріал розчиняли в ацетонітрилі та очищали за допомогою ОФ-ВЕРХ (С18, деіонізована вода/ацетонітрил). Фракції, які містять продукт, об'єднували та екстрагували дихлорметаном, висушували безводним сульфатом магнію, фільтрували і концентрували за зниженого тиску, одержуючи сполуку 5f (65 мг, 20%);  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 Гц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,20 (д, 2H,  $J = 8,0$  Гц), 7,78 (м, 2H), 7,53 (с, 2H), 7,20 (м, 4H), 7,04 (т, 2H,  $J = 7,4$  Гц), 6,91 (м, 2H), 6,80 (с, 2H), 5,22 (с, 4H), 4,40 (м, 2H), 3,94 (с, 6H), 3,93 (м, 2H), 3,63 (м, 2H), 3,42 (дд, 2H,  $J =$  Гц), 2,32 (с, 3H), 1,80 (м, 2H), 1,64 (м, 2H), 1,24 (с, 6H); МС (m/z), знайдене значення 892,3 (M+Na) 910,3 (M+Na+H<sub>2</sub>O) 928,3 (M+Na+2H<sub>2</sub>O). Див. Фіг. 5.



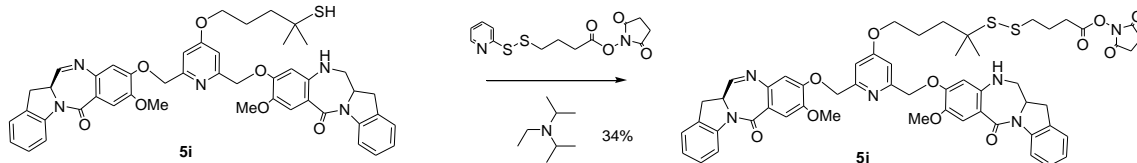
[368] Сполука 5g і 5h:

[369] Розчин сполуки 5f (74 мг, 0,085 ммоль) в абсолютному етанолі (600 мкл) і безводному дихлорметані (300 мкл) охолоджували до  $0^\circ\text{C}$  на крижаній бані. Боргідрид натрію (0,644 мг, 0,017 ммоль) в 50 мкл абсолютного етанолу додавали за  $0^\circ\text{C}$ . Суміш перемішували за кімнатної температури протягом двох годин, а потім охолоджували до  $0^\circ\text{C}$ . Реакцію зупиняли насиченим розчином хлориду амонію та екстрагували суміш дихлорметаном. Органічні екстракти промивали насиченим розчином NaCl, висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували через целіт і концентрували за зниженого тиску. Неочищений матеріал розчиняли в диметилформаміді та очищали за допомогою ОФ-ВЕРХ (С18, деіонізована вода/ацетонітрил). Фракції, які містили сполуки 5g і 5h, об'єднували окремо та екстрагували дихлорметаном, висушували безводним сульфатом магнію, фільтрували і концентрували, одержуючи сполуку 5g (20 мг, 27%) і сполуку 5h. 5g:  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 Гц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,25 (м, 1H), 8,18 (м, 1H), 7,77 (м, 1H), 7,51 (сс, 1H), 7,40 (сс, 1H), 7,18 (м, 4H), 7,08 (м, 1H), 7,03 (м, 1H), 6,92 (м, 2H), 6,86 (сс, 1H), 5,98/6,06 (сс, 1H), 5,24 (м, 4H), 4,40 (м, 1H), 4,30 (м, 1H), 3,94 (с, 3H), 3,92 (м, 2H), 3,84 (с, 3H), 3,62 (м, 1H), 3,37 (м, 4H), 2,65 (м або дд, 1H), 2,32 (сс, 3H), 1,77 (м, 2H), 1,64 (м, 2H), 1,24 (с, 6H). 5h:  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 Гц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,24 (д, 2H,  $J = 8,0$  Гц), 7,39 (с, 2H), 7,14 (м, 4H), 6,97 (м, 2H), 6,93 (м, 2H), 6,15 (сс, 2H), 5,25 (с, 4H), 4,37 (м або т, 2H,  $J=9,8$  Гц), 4,2 (шс, 2H), 3,94 (м, 2H), 3,83 (с, 6H), 3,40 (м, 6H), 2,72 (дд, 2H,  $J =$  Гц), 2,32 (с, 3H), 1,79 (м, 2H), 1,64 (м, 2H), 1,24 (с, 6H). Див. Фіг. 5.



[370] Сполука 5i:

[371] До розчину, який перемішується, сполуки 5g (20 мг, 0,023 ммоль) у метанолі (5,25 мл) та ацетонітрилі (1,750 мл) додавали TCEP.HCl (19,72 мг, 0,069 ммоль) у натрій-фосфатному буфері (0,7 мл, pH 6,5). Суміш перемішували протягом 3 годин за кімнатної температури, а потім розбавляли дихлорметаном і водою. Шари розділяли, органічний шар промивали насиченим розчином NaCl. Неочищений продукт очищали за допомогою ОФ-ВЕРХ (C18, деіонізована вода/ацетонітрил). Фракції, які містили продукт, об'єднували, екстрагували дихлорметаном та упарювали, одержуючи сполуку 5i (7 мг, 37%). МС (m/z), знайдене значення 848,3 (M+Na) 866,3 (M+Na+H<sub>2</sub>O) 880,3 (M+Na+MeOH). Див. Фіг. 5.



[372] Сполука 5j:

[373] До розчину, який перемішується, сполуки 5i (7 мг, 8,47 мкмоль) і 2,5-діоксопіролідін-1-іл-4-(піридин-2-ілдисульфаніл)бутаноату (8,64 мг, 0,021 ммоль) у безводному дихлорметані (113 мкл) додавали діізопропілетиламін (3,69 мкл, 0,021 ммоль). Після перемішування протягом 18 годин за кімнатної температури реакцію зупиняли насиченим розчином хлориду амонію та екстрагували суміш дихлорметаном. Органічні екстракти промивали насиченим розчином NaCl, висушували безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували за зниженого тиску. Неочищений матеріал очищали за допомогою препаративної ОФ-ВЕРХ (C18, деіонізована вода/ацетонітрил). Фракції, які містили продукт, екстрагували дихлорметаном, фільтрували та випарювали, одержуючи сполуку 5j (3 мг, 34%). МС (m/z), знайдене значення 1063,3 (M+Na) 1081,3 (M+Na+H<sub>2</sub>O). Див. Фіг. 5.

Приклад 6

[374] Одержання кон'югату антитіло-SPDB-лікарська речовина:

[375] Сполуку 1g попередньо обробляли 3 молярними еквівалентами бісульфіту натрію (використовуючи свіжоприготовлений розчин NaHSO<sub>3</sub> у воді) в 96-98% розчині DMA у воді протягом 4-5 год за 25 °C. Для кон'югування гуманізоване антитіло в концентрації 2 мг/мл піддавали взаємодії з 5-7 молярними еквівалентами сполуки 1g (попередньо обробленої NaHSO<sub>3</sub>) протягом 6 год за 25 °C в 85-90% водному PBS-буфері, pH 7,4, або 50 мМ водному HEPES-буфері, pH 8,5, який містив 10-15% N,N-диметилацетаміду (DMA), а потім очищали фільтрацією через колонку G25 для гелі-фільтрації в PBS, pH 7,4, для видалення непрореагованої або гідролізованої лікарської сполуки. Кон'югати гуманізоване антитіло-SPDB-лікарська речовина діалізували в буфері, який містив 10 мМ гістидину, 250 мМ гліцину, 1% сахарози, pH 6,5. Виміряне за рахунок УФ-поглинання за 280 і 320 нм із використанням коефіцієнтів екстинкції лікарської речовини та антитіла за 280 нм (215000 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>) і 320 нм (9137 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>) співвідношення лікарська речовина/антитіло (DAR) кон'югатів склало 2,2-2,9. Визначений за допомогою SEC (ексклюзійної хроматографії) при використанні колонки TSK-Gel G300SWXL (7,8 мм × 300 мм, розмір часток 5 мкм) процентний вміст мономера в кон'югатах склав > 90%. На основі УФ-поглинання піка мономера, отриманого за допомогою SEC, також продемонстрували, що піки мономера кон'югату містили приєднані молекули лікарської речовини. Для аналізу вільної (некон'югованої) лікарської речовини кон'югат екстрагували ацетоном для видалення білка, висушували, відновлювали в рухливій фазі, впорскували в ОФ-ВЕРХ-колонку VYDAC 208TP C8 (4,6 × 250 мм, розмір часток 7 мкм) і порівнювали зі стандартами. Визначили, що відсоток вільної лікарської сполуки в кон'югаті склав < 0,5% від змісту кон'югованої лікарської сполуки. Див. Фіг. 22.

[376] Одержання кон'югату гуманізоване антитіло-SPDB-2a:

[377] Гуманізоване антитіло в концентрації 8 мг/мл модифікували 4-6 молярними еквівалентами гетеробіфункціонального лінкера SPDB протягом 1,5 год за 25 °C в 95% PBS, pH 7,4, який містить 5% DMA (об'єм/об'єм), а потім очищали на знесольовальній колонці G25 у цитратному буфері (35 мМ цитратний буфер, pH 5,5, який містить 2 мМ ЕДТА, 150 мМ NaCl) для видалення лінкера, який не прореагував. LAR (співвідношення лінкер-антитіло), яке

визначається шляхом вимірювань УФ-поглинання за 280 і 343 нм без та з додаванням 50 мМ дитіотреїтолу (для вимірювання загального вмісту антитіла та дитіотреїтол- вивільнюваного SPy), склало 2,7-4,1. SPDB-модифіковане антитіло в концентрації 2 мг/мл піддавали взаємодії з 2 молярними еквівалентами сполуки 2а (солі HCl) на приєднаний SPDB протягом 20 год за кімнатної температури у 85% цитратному буфері, 15% ДМА (об'єм/об'єм), а потім очищали на знесольовальній колонці G25 у PBS, pH 7,4, для видалення некон'югованої лікарської сполуки. DAR кінцевого кон'югату гуманізоване антитіло-SPDB-2а вимірювали за допомогою УФ-спектрофотометрії за 280 і 350 нм; розраховане значення DAR склало ~ 1,7-2,1. Процентний вміст мономера і приєднаної лікарської сполуки на мономер у кон'югаті визначали за допомогою BPERX, використовуючи колонку для SEC (ексклюзійної хроматографії). Див. Фіг. 23.

#### Приклад 7

[378] Активність вільних лікарських речовин і кон'югатів *in vitro*:

[379] Загальна використовувана процедура: Зразки некон'югованих вільних лікарських сполук або кон'югатів лікарських речовин додавали в 96-лункові плоскодонні планшети для культивування тканин і титрували, використовуючи серійні розведення для перекривання бажаного молярного діапазону. Антиген-позитивні (Ag<sup>+</sup>) або антиген-негативні (Ag<sup>-</sup>) клітини додавали в лунки з розрахунку певної щільності клітин, забезпечуючи трикратні повторності зразків для кожної концентрації лікарської речовини і для кожної відповідної лінії клітин. Потім планшети інкубували за 37°C в атмосфері 5% CO<sub>2</sub> протягом 4-5 днів залежно від лінії клітин. COLO 205 (1000 клітин/лунку), Namalwa (3000 клітин/лунку), HEL 92.1.7 (3000 клітин/лунку) - 4 дні; RH30 (1000 клітин/лунку), HL60/QC (5000 клітин/лунку), Ramos (10000 клітин/лунку), KB (2000 клітин/лунку), BJAB (2000 клітин/лунку), NB4 (3000 клітин/лунку) - 5 днів, RPMI 8226 (8000 клітин/лунку) - 6 днів.

[380] Наприкінці інкубаційного періоду оцінювали цитотоксичну активність за допомогою аналізу життєздатності клітин на основі WST-8, і клітини, які вижили, визначали за розвитком фарбування з WST-8 (2-7 годин). Вимірювали оптичну щільність у кожній лунці, частку клітин, які вижили, за кожної концентрації наносили на графік для виявлення цитотоксичності і/або антигенної специфічності (кон'югатів).

[381] Використовуючи загальну методику, описану вище, вимірювали цитотоксичність некон'югованих вільних лікарських сполук стосовно семи ліній клітин: KB, клітин-забруднювачів HeLa, HL60/QC, лінії клітин гострого мієлолейкозу, Namalwa, лінії клітин лімфоми Беркіта, NB4, лінії клітин гострого промієлоцитарного лейкозу, HEL92.1.7, лінії клітин еритролейкозу, RPMI8226, лінії клітин множинної мієломи, та BJAB, лінії клітин В-клітинного лейкозу. Результати, показані на Фіг. 24 і в Таблиці 10, демонструють високу активність зазначених сполук у широкому діапазоні типів клітин. Активність і специфічність кон'югатів антитіло-лікарська речовина вимірювали стосовно антиген-експресуючих клітин з додаванням і без додавання надлишкової кількості блокувального некон'югованого антитіла з метою демонстрації специфічності цитотоксичної дії. Кон'югат MY9-6-лікарська речовина був надзвичайно активним стосовно трьох різних антиген-експресуючих клітин: HL60/ATCC, HL60/QC і NB-4, незважаючи на дуже низьку експресію антигена в клітинах NB4. Специфічну активність можна було блокувати додаванням надлишку некон'югованого антитіла, що демонструє антиген-специфічність цитотоксичної дії. Аналогічно кон'югат huFOLR1-лікарська речовина ефективно знищував антиген-експресуючі клітини KB специфічним чином. Результати показані на Фігурах 25 і 26.

Таблиця 10

Активність вільних лікарських речовин стосовно різних ліній клітин. Значення IC<sub>50</sub>, перераховані в таблиці, наведені в нМ

	Namalwa	KB	HL60/QC	NB4	HEL92.1.7	RPMI8226	BJAB
1c	0,056	0,16	0,023				
1d	0,069	0,18	0,032				
1e	2,4	> 3,0	0,67				
27d		0,23	0,05	0,039	0,14	0,07	0,04
27e		0,39	0,09	0,13	0,2	0,24	0,12
27f		4,4	1,7	1,1	1,8	> 3,0	1
29a	0,002	0,004	0,001	0,0023	0,0031	0,011	0,001
29b	0,003	0,007	0,006	0,007	0,007	0,005	0,003
29c	0,013	0,057	0,03	0,023	0,027	0,16	0,015

[382] Аналогічні результати також були отримані з використанням інших ліній клітин та інших кон'югатів згідно з винаходом, включаючи: huMY9-6-SPDB-1f відносно клітин HL60/QC (Ag<sup>+</sup>), клітин HL60/ATCC (Ag<sup>+</sup>) і клітин NB-4 (Ag<sup>+</sup>) (Фіг. 25); huFOLR1-SPDB-1f відносно клітин KB (Ag<sup>+</sup>) (Фіг. 26); huMY9-6-SPDB-1f відносно антиген-позитивних клітин HL60/QC, клітин HL60/ATCC, клітин NB-4 і клітин HEL 92.1.7 (Фіг. 29); huMy9-6-SPDB-1f, huMy9-6-сульфоSPDB-1f і huMy9-6-BMPS-1f відносно клітин HL60/QC (Ag<sup>+</sup>) (Фіг. 34); chB38.1-SPDB-1f і chB38.1-сульфоSPDB-1f відносно клітин COLO205 (Ag<sup>+</sup>) (Фіг. 35); huMy9-6-SPDB-1f, huMy9-6-сульфоSPDB-1f і huMy9-6-BMPS-1f відносно клітин OCI-AML3 (Ag<sup>+</sup>) (Фіг. 44). Активність різних кон'югатів стосовно різних ліній клітин, виражену у вигляді значень IC<sub>50</sub> (нМ), див. також на Фіг. 49. Слід зазначити, що на Фіг. 25, 29, 34, 35 і 44 кон'югати одержували за присутності бісульфіту натрію.

[383] Для порівняння вимірювань активності *in vitro* для розглянутих кон'югатів, отриманих з і без реагенту, здатного взаємодіяти з імінами, наприклад, бісульфіту натрію, одержували huMy9-6-BMPS-1f, huMy9-6-сульфо-SPDB-1f і huMy9-6-лікарська речовина 2 з і без бісульфіту натрію, використовуючи спосіб сульфонування *in situ* (де відповідні сполуки згідно з винаходом спочатку змішували з бісульфітом натрію і біфункціональним зшиваючим агентом, який несе реакційноздатну групу, а потім реакційну суміш без додаткового очищення піддавали взаємодії з моноклональним антитілом huMy9-6 у якості агента, який зв'язується із клітинами). Значення IC<sub>50</sub> для кон'югатів стосовно клітин HL60-QC показані нижче. Дані показують, що включення групи, здатної взаємодіяти з імінами (наприклад, бісульфіту натрію), на етапі одержання кон'югату не виявляло негативного впливу на активність розглянутих кон'югатів *in vitro*.

Кон'югат	Обробка NaHSO <sub>3</sub>	IC <sub>50</sub> (нМ)	IC <sub>50</sub> (нМ) блокуючого huMy9-6
huMy9-BMPS-1f	-	2	130
	+	1,5	55
huMy9-6-сульфо-SPDB-1f	-	5,6	1200
	+	7,1	610
huMy9-6-лікарська речовина 2	-	16	> 3000
	+	6,8	> 3000

[384] Очевидно, що попередня обробка лікарських сполук бісульфітом натрію (5 молярних еквівалентів, 22 год, 4°C, 90:10 ДМА: вода, pH 5,5) перед кон'югуванням з huMy9-6 не виявляє значного впливу на антиген-залежну або антиген-незалежну (блокування антигена 1 мкМ некон'югованого huMy9-6) активність кон'югатів *in vitro*.

#### Приклад 8

[385] Зв'язування кон'югату антитіло-лікарська речовина аналогічне зв'язуванню немодифікованого антитіла:

[386] Зв'язування кон'югату huMy9-6-лікарська речовина порівнювали зі зв'язуванням немодифікованого антитіла huMy9-6 стосовно антиген-експресуючих клітин HL60/QC з використанням проточної цитометрії. Коротко, антиген-позитивні клітини інкубували з кон'югатами або немодифікованими антитілами за 4°C, потім з кон'югатом вторинне антитіло-FITC за 4°C, фіксували формальдегідом (1% в PBS) і аналізували за допомогою проточної цитометрії. Між зв'язуванням кон'югату і зв'язуванням немодифікованого антитіла не спостерігалось істотних відмінностей. На Фіг. 27 показаний приклад, у якому кон'югат huMy9-6-лікарська речовина, зв'язувався з антиген-позитивними клітинами з високою спорідненістю, аналогічною спорідненості немодифікованого антитіла.

#### Приклад 9

[387] Активність кон'югату huMy9-6-SPDB-1f *in vivo* у голих мишей, які несуть пухлини HL60/QC:

[388] У даному дослідженні вивчали протипухлинну активність huMy9-6-SPDB-1f на самках голих мишей, які несуть пухлини HL60/QC, моделі гострого мієлолейкозу людини. Пухлинні клітини HL60/QC з розрахунку  $2 \times 10^6$  клітин/мишу підшкірно інокулювали в обсязі 0,1 мл/мишу в область над правим плечем самок бестимусних голих мишей 5-тижневого віку. Через вісім днів після інокуляції пухлинних клітин мишей випадковим чином розподіляли на групи (n = 6 на групу) за об'ємом пухлини. Лікування починали в день розподілу, групи, включаючи контрольну групу, одержували PBS (200 мкл/ін'єкцію), або однократне лікування різними дозами (від 5 до 100 мкг/кг) huMy9-6-SPDB-1f (доза 1f 50 мкг/кг відповідала дозі антитіла 2,5 мг/кг). Усі процедури добре переносилися при середній втраті маси тіла, яку можна порівняти із втратою, спостережуваною у контрольних мишей, які одержували PBS. Показана залежність середнього



об'єму пухлини від часу (Фіг. 28 і 36); дані демонструють залежну від дози протипухлинну активність кон'югату huMy9-6-SPDB-1f. Мінімальна ефективна доза, за оцінками, склала 20 мкг/кг, що приблизно в 35 разі нижче максимальної стерпної дози.

#### Приклад 10

- 5 [389] Стерпність кон'югатів huFOLR-1 досліджували на самках мишей CD-1. За тваринами спостерігали протягом семи днів до початку дослідження і визнали здоровими. Мишам вводили
- однократну в/в ін'єкцію кон'югату і щодня відслідковували у тварин втрату маси тіла, захворюваність або смертність. У Таблиці 9 показано, що кон'югат huFOLR1-лікарська речовина
- 10 1 переносився тільки в мінімальній протестованій дозі 50 мкг/кг. На протипагу цьому виявлено, що обидва моноімінних кон'югати huFOLR1-лікарська речовина 2 і huFOLR1-SPDB-1f переносилися краще, причому їх максимальна стерпна доза склала < 198 мкг/кг і > 560 мкг/кг, відповідно.

Таблиця 9

Дані щодо порівняння стерпності кон'югатів (A) huFOLR1-лікарська речовина 1, (B) huFOLR1-лікарська речовина 2 і (C) huFOLR1-SPDB-1f

#### A)

Доза (мкг/кг)	% Вживаність
50	100
100	0
200	0
300	0
400	0



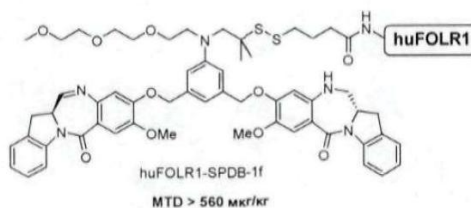
#### Б)

Доза (мкг/кг)	% Вживаність
66	100
132	100
198	50
264	25



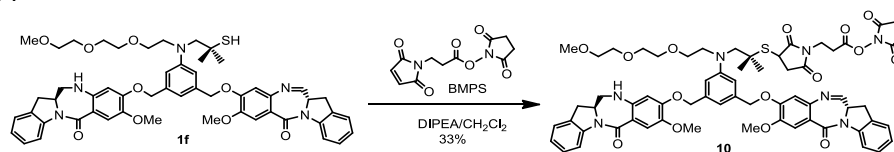
#### В)

Доза (мкг/кг)	% Вживаність
120	100
160	100
200	100
320	100
560	100





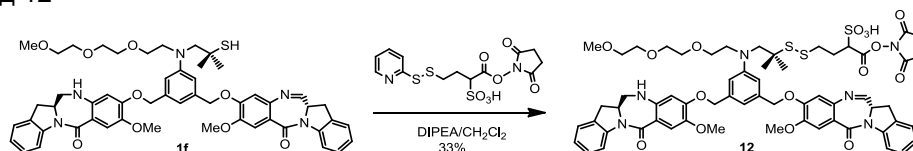
## Приклад 11



5 [390] Сполука 10:

[391] До розчину, який перемішується, 1f (18 мг, 0,019 ммоль) і N-(β-малеїмідпропілокси)сукцинімідного (BMP) ефіру (9,2 мг, 0,034 ммоль) у безводному дихлорметані (0,3 мл) додавали безводний діізопропілетиламін (5 мкл, 0,029 ммоль). Суміш перемішували за кімнатної температури протягом 27 годин, зупиняли реакцію насиченим розчином хлориду амонію і розбавляли суміш дихлорметаном. Органічний шар промивали насиченим розчином NaCl, висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували за зниженого тиску. Залишок очищали за допомогою препаративної обернено-фазової ВЕРХ (колонка C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O). Фракції, які містять продукт, об'єднували, екстрагували дихлорметаном і упарювали, одержуючи сполуку 10 у вигляді білої твердої речовини (7,6 мг, вихід = 33%). МС (m/z): знайдене значення 1208,3 (M + H)<sup>+</sup>. Див. Фіг. 13.

Приклад 12



20 [392] Сполука 12:

[393] До розчину, який перемішується, 1f (16,5 мг, 0,018 ммоль) і сульфо-SPDB (14,2 мг, 0,036 ммоль) у безводному дихлорметані (0,3 мл) додавали безводний діізопропілетиламін (9 мкл, 0,054 ммоль). Суміш перемішували за кімнатної температури протягом ночі і концентрували за зниженого тиску. Залишок очищали за допомогою препаративної обернено-фазової ВЕРХ (колонка C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O). Фракції, які містили продукт, об'єднували, екстрагували дихлорметаном і упарювали, одержуючи 6,6 мг сполуки 12 у вигляді жовтуватої піни. Водний шар ліофілізували, одержуючи ще 0,5 мг сполуки 12 у вигляді білої твердої речовини. МС (m/z): знайдене значення 1235,0 (M-H)<sup>-</sup>. Див. Фіг. 15.

Приклад 13

30 [394] Одержання кон'югату гуманізоване антитіло-сульфоSPDB-1f

[395] У реакційній суміші, яка містить 2,5 мг/мл антитіла huMy9-6 і 10 молярних еквівалентів 10 (попередньо оброблений 5-кратним надлишком бісульфіту натрію в 90:10 суміші DMA:вода) в 50 мМ HEPES (4-(2-гідроксиетил)-1-піперазинетансульфонова кислота)-буфері із pH 8,5 і співрозчиннику 15% об'єм/об'єм DMA (N,N-диметилацетаміді), забезпечували утворення кон'югату протягом 6 годин за 25°C. Після реакції кон'югат очищали і заміняли буфер на буфер для суміші, який містив 250 мМ гліцину, 10 мМ гістидину, 1% сахарозу, 0,01% Твін, 50 мкМ бісульфіту натрію, за допомогою знесолюючої колонки NAP (Illustra Sephadex G-25 DNA Grade, GE Healthcare). Діаліз здійснювали в цьому ж буфері протягом 4 годин за кімнатної температури, використовуючи касети для діалізу Slide-a-Lyzer (Thermoscientific 20000 MWCO). Було встановлено, що очищений кон'югат характеризувався значенням DAR 2,4 (згідно UV-Vis при використанні молярних коефіцієнтів екстинкції  $\epsilon_{330 \text{ nm}} = 15484 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ ,  $\epsilon_{280 \text{ nm}} = 30115 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$  для 1f, і  $\epsilon_{280 \text{ nm}} = 146000 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$  для антитіла My9-6), вмістом мономера 96,7% (згідно з ексклюзійною хроматографією), вмістом некон'югованої вільної лікарської речовини < 1% (згідно екстракції ацетоном/ обернено-фазовою ВЕРХ) і кінцевою концентрацією білка 1,4 мг/мл.

45 [396] Активність кон'югатів антитіло-сульфоSPDB-1f in vitro вимірювали відповідно до загальної методики, описаної в Прикладі 7; дані показані на Фігурах 34 і 35. Кон'югати антитіло-сульфоSPDB-1f мали порівнювану або більш високу активність у порівнянні з кон'югатами антитіло-SPDB-1f.

50 [397] Використання реагентів, здатних до утворення ковалентних зв'язків з імінами, наприклад, бісульфіту натрію, поліпшувало характеристики кон'югату антитіло-сполука (наприклад, % мономера і медикаментозне навантаження). В одному експерименті утворення аддукту проводили з використанням 5 молярних еквівалентів імінного реагенту стосовно NHS-BMPS-1f в 90% ДМСО/10% PBS, pH 7,4, протягом 4 год за 25°C. Потім реакційну суміш

- додавали до антитіла huMy9-6 (4 молярних еквіваленти IGN, 2 мг/мл, 10% об'єм/об'єм ДМСО, 50 мМ HEPES-буфера, рН 8,5, 5 год, 25°C). Кон'югати, отримані з використанням гідросульфиту натрію, бісульфиту натрію або метабісульфиту натрію, мали аналогічне співвідношення IGN/антитіло і процентний вміст мономера, у той час як кон'югати, отримані без обробки допоміжною добавкою, мали вкрай низький рівень вбудовування лікарської речовини. Див. таблицю нижче.

Реагент	IGN/антитіло (UV)	% мономера (EX)	% 1f на мономер
Гідросульфит натрію	2,6	88	82
Бісульфит натрію	2,6	88	83
Метабісульфит натрію	2,7	88	82
Без добавки	0,1	98	94

#### Приклад 14

- [398] Одержання кон'югату гуманізоване антитіло-BMPS-1f
- [399] У реакційній суміші, яка містить 2,0 мг/мл антитіла huMy9-6 і 5 молярних еквівалентів 12 (попередньо обробленої 5-кратним надлишком бісульфиту натрію в 90:10 суміші ДМА:вода) в 50 мМ HEPES (4-(2-гідроксиетил)-1-піперазинетансульфонова кислота)-буфері з рН 8,5 і співрозчиннику 15% об'єм/об'єм ДМА (N,N-диметилацетаміді), забезпечували здійснення реакції протягом 6 годин за 25°C. Після реакції кон'югат очищали і заміняли буфер на буфер для суміші, який містив 250 мМ гліцину, 10 мМ гістидину, 1% сахарозу, 0,01% Твін, 50 мкМ бісульфиту натрію, за допомогою знесолюючої колонки NAP (Illustra Sephadex G-25 DNA Grade, GE Healthcare). Діаліз здійснювали в цьому ж буфері протягом 4 годин за кімнатної температури, використовуючи касети для діалізу Slide-a-Lyzer (ThermoScientific 20000 MWCO). Було встановлено, що очищений кон'югат характеризувався значенням DAR 2,8 (згідно UV-Vis при використанні молярних коефіцієнтів екстинкції  $\epsilon_{330\text{ nm}} = 15484\text{ cm}^{-1}\text{ M}^{-1}$ ,  $\epsilon_{280\text{ nm}} = 30115\text{ cm}^{-1}\text{ M}^{-1}$  для 1f, і  $\epsilon_{280\text{ nm}} = 146000\text{ cm}^{-1}\text{ M}^{-1}$  для антитіла My9-6), вмістом мономера 91,7% (згідно з ексклюзійною хроматографією), вмістом некон'югованої вільної лікарської речовини < 1% (згідно з екстракцією ацетоном/ обернено-фазовою ВЕРХ) і кінцевою концентрацією білка 1,2 мг/мл.
- [400] Активність кон'югатів антитіло-BMPS-1f in vitro вимірювали відповідно до загальної методики, описаної в Прикладі 7; дані показані на Фіг. 34 і 35. Кон'югати антитіло-BMPS-1f мали порівнювану активність у порівнянні з кон'югатами антитіло-SPDB-1f.

#### Приклад 15

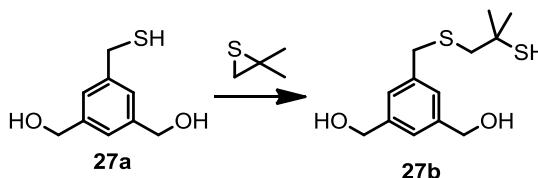
- [401] Активність кон'югату hu FOLR1-SPDB-1f in vivo у голих мишей, які несуть пухлини KB:
- [402] У даному дослідженні вивчали протипухлинну активність huFOLR1-SPDB-1f на самках голих мишей, які несуть пухлини KB, моделі карциноми шийки матки людини. Клітини KB з розрахунку  $1 \times 10^7$  клітин/мишу підшкірно інокулювали в обсязі 0,1 мл/мишу в область над правим плечем самок бестимусних голих мишей 6-тижневого віку. Через шість днів після інокуляції пухлинних клітин мишей випадковим чином розподіляли на групи (n = 6 на групу) за об'ємом пухлини. Лікування починали наступного дня після розподілу, групи, включаючи контрольну групу, одержували PBS (200 мкл/ін'єкцію), або однократне лікування різними дозами (від 20 до 200 мкг/кг) hu FOLR1-SPDB-1f (доза приєднаної лікарської речовини 50 мкг/кг відповідала дозі антитіла 2,8 мг/кг). Усі процедури добре переносилися, причому в жодній з експериментальних груп не спостерігали втрати маси тіла. Показана залежність середнього об'єму пухлини від часу (Фіг. 37); дані демонструють залежну від дози протипухлинну активність кон'югату hu FOLR1-SPDB-1f. Мінімальна ефективна доза, за оцінками, склала < 50 мкг/кг, що приблизно в 14 разів нижче максимальної стерпної дози.
- [403] Аналогічні результати також були отримані in vivo з використанням інших кон'югатів згідно з винаходом відносно інших моделей раку, включаючи huMy9-6-сульфо-SPDB-1f у мишей, які несуть пухлини MOLM-13 (Фіг. 50); huMy9-6-сульфо-SPDB-1f у мишей, які несуть пухлини NB4 (Фіг. 51); huMy9-6-BMPS-1f у мишей, які несуть пухлини HL60/QC (Фіг. 52); huMy9-6-BMPS-1f у мишей, які несуть пухлини MOLM-13 (Фіг. 53); huMy9-6-лікарська речовина 2 у мишей, які несуть пухлини HL60/QC (Фіг. 56), а також huMy9-6-лікарська речовина 2 у мишей, які несуть пухлини MOLM-13 (Фіг. 57). Слід зазначити, що на Фіг. 53, 54, 56 і 57 кон'югати одержували за присутності бісульфиту натрію.
- [404] Для порівняння активності in vivo розглянутих кон'югатів, отриманих з використанням або без використання групи, здатної взаємодіяти з імінами, одержували huMy9-6-лікарська речовина 2 з або без використання 50 мкМ бісульфиту натрію, і зазначені кон'югати використовували для лікування мишей, які несуть ксенотрансплантати пухлини HL60-QC.

Наведені нижче дані показують, що кон'югат, утворений з або без 50 мкМ бісульфіту натрію, мав порівнюваний Т/С% за дози лікарської речовини ~ 20 мкг/кг, що вказує на відсутність негативного впливу включення бісульфіту натрію на етапі одержання кон'югату на активність розглянутого кон'югату in vivo.

5

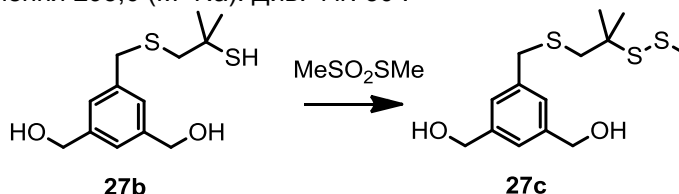
NaHSO <sub>3</sub>	Мінімальна ефективна доза (мкг/кг лікарської речовини)	T/C %
-	18	20
+	19	16

Приклад 16



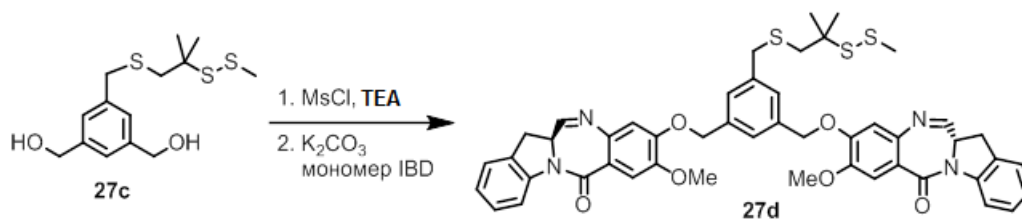
[405] Сполука 27b:

10 [406] (5-((2-меркапто-2-метилпропілтіо)метил)-1,3-фенілен)диметанол: (5-(меркаптометил)-1,3-фенілен)диметанол (0,163 г, 0,885 ммоль) розчиняли у метанолі (3 мл) у невеликому флаконі і додавали мішалку. До зазначеного розчину додавали триетиламін (0,016 мл, 0,118 ммоль) з наступним додаванням 2,2-диметилтіірану (0,058 мл, 0,590 ммоль), отриману суміш закривали і перемішували протягом ночі (16 годин) за кімнатної температури. Потім реакційну суміш концентрували, повторно розчиняли у дихлорметані, завантажували на пластину із силікагелем для препаративної ТСХ (1000 мікрон) і проявляли пластину, використовуючи 10% метанол у дихлорметані. Смугу, відповідну продукту, збирали, фільтрували із чистим етилацетатом і концентрували, одержуючи (5-((2-меркапто-2-метилпропілтіо)метил)-1,3-фенілен)диметанол (0,095 г, 0,349 ммоль, вихід 59,1%). <sup>1</sup>H-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,26 (с, 3H), 4,69 (с, 4H), 3,82 (с, 2H), 2,74 (с, 2H), 2,17 (с, 1H), 2,12 (шс, 2H), 1,43 (с, 6H); <sup>13</sup>C-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 141,6, 138,9, 126,7, 124,3, 65,0, 49,0, 45,4, 38,4, 31,5; МС (m/z), прогнозоване значення: 272,4, знайдене значення 295,0 (M+Na). Див. Фіг. 30 .



[407] Сполука 27с:

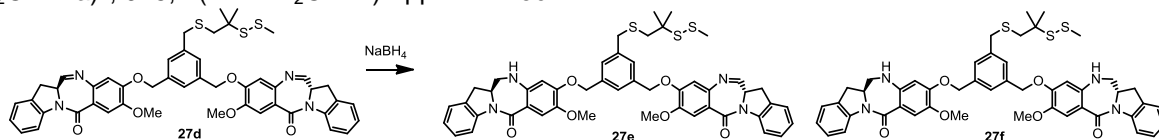
25 [408] (5-((2-метил-2-(метилдисульфаніл)пропілтіо)метил)-1,3-фенілен)диметанол: (5-((2-меркапто-2-метилпропілтіо)метил)-1,3-фенілен)диметанол (0,120 г, 0,440 ммоль) розчиняли в етанолі (5 мл) і 1,0 М калій-фосфатному буфері (pH 7) (5,00 мл) і охолоджували на крижаній бані (утворенням продукту на рівні трильйонних часток нехтували). Додавали S-метилметансульфонотіоат (0,083 мл, 0,881 ммоль) і перемішували суміш протягом ночі з поступовим (протягом 30 хвилин) нагріванням до кімнатної температури. Реакційну суміш розбавляли дихлорметаном, органічний шар відокремлювали, промивали водою, висушували над безводним сульфатом натрію і концентрували у вакуумі. Залишок розчиняли в дихлорметані, наносили на 500-мікронні пластини для препаративної ТСХ і проявляли 66% етилацетатом у гексані. Смугу, відповідну продукту, збирали, фільтрували з етилацетатом і концентрували, одержуючи (5-((2-метил-2-(метилдисульфаніл)пропілтіо)метил)-1,3-фенілен)диметанол (0,091 г, 0,286 ммоль, вихід 64,9%). <sup>1</sup>H-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,27 (с, 3H), 4,71 (с, 4H), 3,78 (с, 2H), 2,77 (с, 2H), 2,41 (с, 3H), 1,94 (br s, 2H), 1,38 (с, 6H); <sup>13</sup>C-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 141,6, 139,0, 126,7, 124,2, 65,0, 51,8, 44,0, 38,2, 26,7, 25,3; МС (m/z), прогнозоване значення: 341,5, знайдене значення 341,1 (M+Na). Див. Фіг. 30.



[409] Сполука 27d:

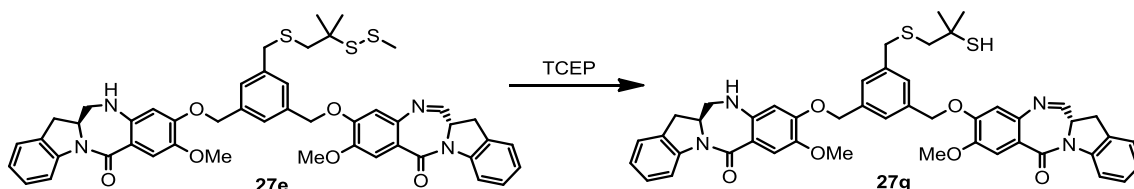
[410] (5-((2-метил-2-(метилдисульфаніл)пропілтію)метил)-1,3-фенілен)диметанол (80 мг, 0,251 ммоль) у безводному дихлорметані (1,75 мл) охолоджували до  $-5^{\circ}\text{C}$  на бані насичений розчин NaCl/лід. Додавали триетиламін (105 мкл, 0,753 ммоль) з наступним додаванням метансульфонілхлориду (50,7 мкл, 0,653 ммоль) за  $-5^{\circ}\text{C}$ . Реакційну суміш перемішували за  $-5^{\circ}\text{C}$  протягом однієї години, після чого її розбавляли холодним етилацетатом і додавали лід. Суміш переносили в ділильну лійку та екстрагували холодним етилацетатом. Органічні екстракти промивали крижаною водою, а потім висушували над безводним сульфатом магнію і натрію, фільтрували і концентрували за зниженого тиску. Отриманий (5-((2-метил-2-(метилдисульфаніл)пропілтію)метил)-1,3-фенілен)-біс-(метилен)диметансульфонат використовували без подальшого очищення.

[411] До (5-((2-метил-2-(метилдисульфаніл)пропілтію)метил)-1,3-фенілен)-біс-(метилен)диметансульфонату (119 мг, 0,251 ммоль) додавали мономер IBD (177 мг, 0,602 ммоль) у безводному N,N-диметилформаміді (1,75 мл) за кімнатної температури. Додавали карбонат калію (173 мг, 1,253 ммоль) і залишали перемішуватися реакційну суміш за кімнатної температури протягом 20 годин. Реакцію зупиняли водою та екстрагували реакційну суміш дихлорметаном. Екстракти промивали насиченим розчином NaCl, а потім висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували в глибокому вакуумі. Неочищений продукт очищали флеш-хроматографією на силікагелі (чистий ДХМ  $\rightarrow$  2% MeOH/ДХМ). Фракції, які містили продукт, об'єднували, концентрували і очищали за допомогою напівпрепаративної ОФ-ВЕРХ (С18, А = деіонізована вода, В = ACN, 20 мл/хв). Фракції, які містили бажаний продукт, об'єднували, екстрагували дихлорметаном, висушували над безводним сульфатом магнію, фільтрували і концентрували, одержуючи бажаний продукт (46 мг, 21%).  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 Гц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,19 (д, J = 8,0 Гц, 2H), 7,77 (м, d, J = 4,4 Гц, 2H), 7,50 (с, 2H), 7,34 (с, 1H), 7,31 (с, 2H), 7,19 (м, 4H), 7,03 (т, J = 7,2, 7,6 Гц, 2H), 6,77 (с, 2H), 5,14 (м, 4H), 4,40 (м, 2H), 3,91 (с, 6H), 3,70 (м, 2H), 3,63 (м, 2H), 3,41 (м, 2H), 2,65 (с, 2H), 2,29 (с, 3H), 1,26 (с, 6H). МС (m/z), розрах. значення 893,2 ( $\text{M} + \text{Na}^+$ ); знайдене значення 893,2 ( $\text{M} + \text{Na}^+$ ), 911,2 ( $\text{M} + \text{H}_2\text{O} + \text{Na}^+$ ), 929,2 ( $\text{M} + 2\text{H}_2\text{O} + \text{Na}^+$ ), 945,1 ( $\text{M} + 2\text{H}_2\text{O} + \text{K}^+$ ). Див. Фіг. 30.



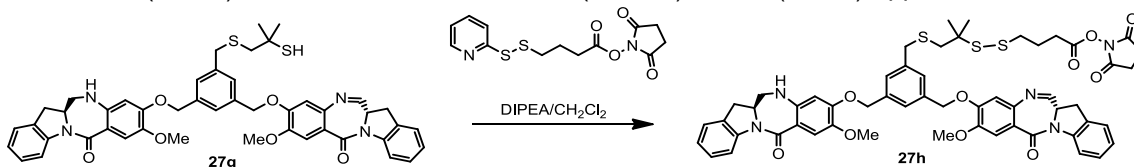
[412] Сполука 27e і 27f:

[413] До охолодженого розчину ( $0^{\circ}\text{C}$ ) 27d (50 мг, 0,057 ммоль) у безводному дихлорметані (225 мкл) і етанолі (450 мкл) додавали боргідрид натрію (0,651 мг, 0,017 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом п'яти хвилин за  $0^{\circ}\text{C}$ , а потім за кімнатної температури протягом 2,5 год. Реакційну суміш охолоджували до  $0^{\circ}\text{C}$ , реакцію зупиняли насиченим розчином хлориду амонію та екстрагували суміш дихлорметаном. Органічні екстракти промивали насиченим розчином NaCl, висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували через целіт і концентрували. Неочищений матеріал очищали за допомогою напівпрепаративної ОФ-ВЕРХ (С18, А = деіонізована вода, В = ACN, 20 мл/хв). Фракції, які містять бажаний продукт, об'єднували, екстрагували дихлорметаном, висушували безводним сульфатом магнію, фільтрували і концентрували, одержуючи моновідновлений амін 27e (11 мг, 22%) МС (m/z), розрах. значення 895,3 ( $\text{M} + \text{Na}^+$ ) знайдене значення 895,2 ( $\text{M} + \text{Na}^+$ ), 913,2 ( $\text{M} + \text{H}_2\text{O} + \text{Na}^+$ ), 929,2 ( $\text{M} + \text{H}_2\text{O} + \text{K}^+$ ), і дивідновлений амін 27f (5 мг, 10%) МС (m/z), розрах. значення 897,3 ( $\text{M} + \text{Na}^+$ ), знайдене значення 897,3 ( $\text{M} + \text{Na}^+$ ). Див. Фіг. 30.



[414] Сполука 27g:

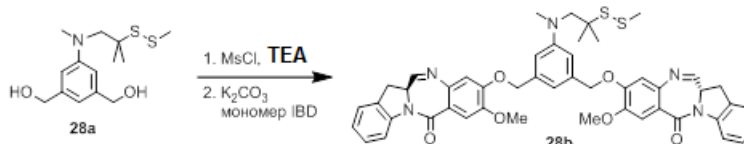
[415] До розчину, який перемішується, 27e (10 мг, 0,011 ммоль) у метанолі (733 мкл) і ацетонітрилі (880 мкл) додавали тріс(2-карбоксиетил)фосфінгідрохлорид (9,85 мг, 0,034 ммоль) в буфері 6,5 (147 мкл). Суміш перемішували протягом 3 год за кімнатної температури. Реакційну суміш розбавляли дихлорметаном. Додавали воду і розділяли шари. Органічний шар промивали насиченим розчином NaCl, висушували безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували за зниженого тиску, одержуючи сполуку 27g (9 мг, 95%). МС (m/z), розрах. значення 849,3 (M+Na)<sup>+</sup>; знайдене значення 849,2 (M + Na)<sup>+</sup>, 867,2 (M + K)<sup>+</sup>. Див. Фіг. 30.



[416] Сполука 27h:

[417] До розчину, який перемішується, 27g (9 мг, 10,88 мкмоль) і 2,5-діоксопіролідин-1-іл-4-(піридин-2-ілдисульфаніл)бутаноату (9,3 мг, 0,023 ммоль) у безводному дихлорметані (0,4 мл) додавали безводний діізопропілетиламін (9 мкл, 0,054 ммоль) і перемішували реакційну суміш за кімнатної температури протягом ночі. Реакцію зупиняли насиченим розчином хлориду амонію та екстрагували суміш дихлорметаном. Екстракти промивали насиченим розчином NaCl, висушували безводним сульфатом натрію і концентрували за зниженого тиску. Залишок очищали за допомогою препаративної обернено-фазової ВЕРХ (колонка C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O). Фракції, які містили продукт, об'єднували, екстрагували дихлорметаном та упарювали, одержуючи сполуку 27h (5 мг, 44%). МС (m/z), розрах. значення 1064,3 (M + Na)<sup>+</sup>; знайдене значення 1064,1 (M + Na)<sup>+</sup>, 1082,1 (M + H<sub>2</sub>O + Na)<sup>+</sup>, 1098,1 (M + H<sub>2</sub>O + K)<sup>+</sup>. Див. Фіг. 30.

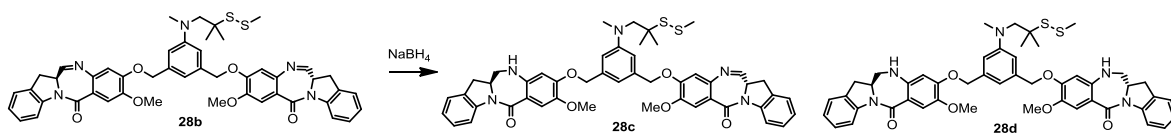
Приклад 17



[418] Сполука 28b:

[419] (5-(метил(2-метил-2-(метилдисульфаніл)пропіл)аміно)-1,3-фенілен)диметанол (52 мг, 0,172 ммоль) розчиняли в безводному дихлорметані (1,7 мл) і охолоджували до -5 на ацетон/льодяній бані. Спочатку додавали триетиламін (0,120 мл, 0,862 ммоль), а потім метансульфонілхлорид (0,040 мл, 0,517 ммоль). Суміш перемішували на бані протягом 1 години. Потім реакційну суміш розбавляли холодним етилацетатом і тричі промивали холодною водою, а потім висушували над безводним сульфатом магнію. Димезилат відфільтровували, концентрували у вакуумі і поміщали в глибокий вакуум до повного висихання. Зазначений продукт використовували, як є, безпосередньо на наступному етапі.

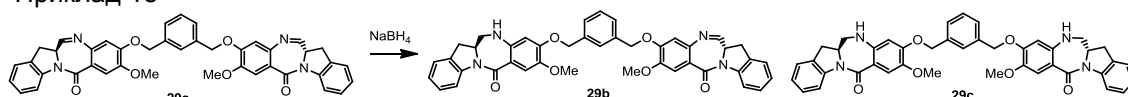
[420] До (5-(метил(2-метил-2-(метилдисульфаніл)пропіл)аміно)-1,3-фенілен)-біс-(метилден)диметансульфонату (72 мг, 0,156 ммоль) додавали мономер IBD (115 мг, 0,39 ммоль) у безводному N,N-диметилформаміді (1,5 мл) за кімнатної температури. Додавали карбонат калію (108 мг, 0,780 ммоль) і залишали перемішуватися реакційну суміш за кімнатної температури протягом 20 годин. Безпосередньо в суміш при перемішуванні додавали воду (10 мл), що приводило до утворення білого осаду. Суміш фільтрували, а тверді речовини промивали додатковими порціями води. Потім тверду речовину розчиняли в дихлорметані, екстрагували водою, органічний шар висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували у вакуумі, одержуючи сполуку 28b (104 мг, 78%), яку використовували на наступному етапі без подальшої обробки. МС (m/z), знайдене значення 912,1 (M + 2H<sub>2</sub>O + Na). Див. Фіг. 31.



[421] Сполука 28c і 28d:

[422] Сполуку 28b (55 мг, 0,064 ммоль) розчиняли у безводній суміші дихлорметану (0,4 мл) і етанолу (0,8 мл) і охолоджували до 0°C на крижаній бані. Потім додавали боргідрид натрію (0,731 мг, 0,019 ммоль), розчинений в етанолі (100 мкл), суміш перемішували протягом 5 хвилин і видаляли крижану баню. Реакційну суміш залишали перемішуватися протягом 2 годин, зупиняли реакцію за низької температури шляхом додавання насиченого розчину хлориду амонію і дихлорметану, розділяли, органічний шар промивали насиченим розчином NaCl, висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували у вакуумі. Залишок очищали за допомогою напівпрепаративної ОФ-ВЕРХ (С18, А = деіонізована вода, В = АСН, 20 мл/хв). Фракції, які містили бажані продукти, екстрагували дихлорметаном і концентрували з одержанням моноіміну 28c (19 мг, 32%), МС (m/z), прогнозоване значення: 855,1, знайдене значення: 896,2 (M + H<sub>2</sub>O + Na) і дивідновленого аміну 28d (22 мг, 38%) MS (m/z), прогнозоване значення: 857,1, знайдене значення: 880,2 (M + Na)<sup>+</sup>. Див. Фіг. 31.

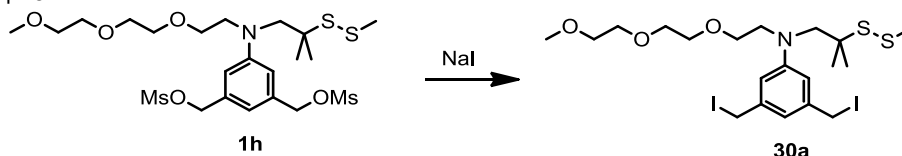
Приклад 18



[423] Сполука 29b і 29c:

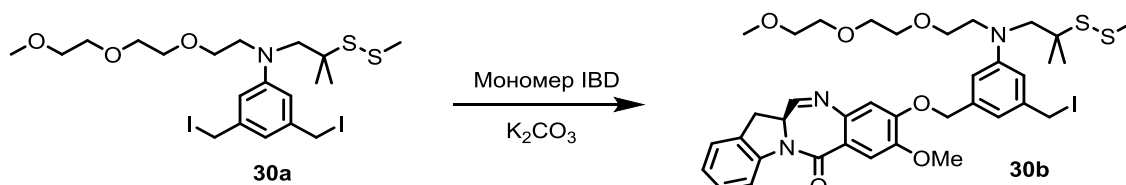
[424] Сполуку 29a (60 мг, 0,043 ммоль) розчиняли у безводній суміші дихлорметану (0,25 мл) і етанолу (0,5 мл) та охолоджували до 0°C на крижаній бані. Потім додавали боргідрид натрію (0,493 мг, 0,013 ммоль), розчинений в етанолі (50 мкл), суміш перемішували протягом 5 хвилин і видаляли крижану баню. Реакційну суміш залишали перемішуватися протягом 3 годин, зупиняли реакцію за низької температури шляхом додавання насиченого розчину хлориду амонію і дихлорметану, розділяли, органічний шар промивали насиченим розчином NaCl, висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували у вакуумі. Залишок очищали за допомогою напівпрепаративної ОФ-ВЕРХ (С18, А = деіонізована вода, В = АСН, 20 мл/хв). Фракції, які містили бажані продукти, екстрагували дихлорметаном і концентрували з одержанням моноіміну 29b (20 мг, 33%), МС (m/z), прогнозоване значення: 715,7, знайдене значення: 715,2 (M + Na)<sup>+</sup>, 733,2 (M + H<sub>2</sub>O + Na)<sup>+</sup>, 749,2 (M + H<sub>2</sub>O + K)<sup>+</sup>, і дивідновленого аміну 29c (12 мг, 20%) МС (m/z), прогнозоване значення: 694,7, знайдене значення: 717,2 (M + Na)<sup>+</sup>. Див. Фіг. 32.

Приклад 19



[425] Сполука 30a:

[426] (5-((2-(2-(2-метоксиетокси)етокси)етил)(2-метил-2-(метилдисульфаніл)пропіл)аміно)-1,3-фенілен)-біс-(метилден)диметансульфонат (0,566 г, 0,960 ммоль) розчиняли в ацетоні (30 мл) і при енергійному перемішуванні додавали розчин йодиду натрію (0,544 г, 3,63 ммоль), розчиненого в ацетоні (2 мл). Реакцію контролювали за допомогою ТСХ (50% етилацетат у гексані), через 2 години реакційну суміш фільтрували, концентрували у вакуумі і до залишку додавали дихлорметан. Тверду сіль, яка залишається в осаді, відфільтрували, фільтрат концентрували і отриманий залишок очищали на силікагелі за допомогою суміші етилацетат:гексан:дихлорметан 3:5:2, отримуючи 3,5-біс-(йодметил)-N-(2-(2-(2-метоксиетокси)етокси)етил)-N-(2-метил-2-(метилдисульфаніл)пропіл)анілін (0,505 г, 0,773 ммоль, 74,5% вихід) у вигляді жовтого масла. <sup>1</sup>H-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 6,75 (с, 2H), 6,73 (с, 1H), 4,38 (с, 4H), 3,63 (м, 14H), 3,40 (с, 3H), 2,50 (с, 3H), 1,38 (с, 6H); <sup>13</sup>C-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 148,7, 140,3, 117,3, 113,4, 71,9, 70,7, 70,6, 67,2, 59,8, 59,1, 53,5, 53,4, 51,8, 26,5, 25,6, 6,11; МС (m/z), розрах. значення 676,0 (M + Na)<sup>+</sup>; знайдене значення 675,8 (M + Na)<sup>+</sup>. Див. Фіг. 33.



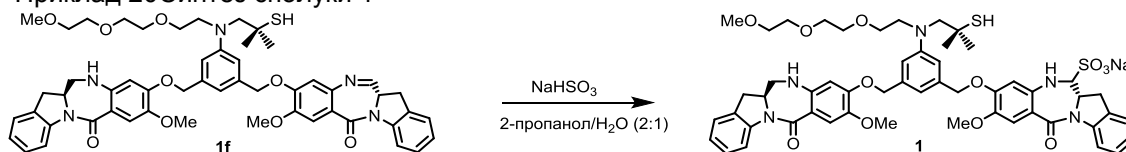
[427] Сполука 30b:

[428] Мономер IBD (0,060 г, 0,204 ммоль) розчиняли в ацетоні (4 мл) у невеликому флаконі, додавали мішалку з наступним додаванням 3,5-біс-(йодметил)-N-(2-(2-(2-метоксиетокси)етокси)етил)-N-(2-метил-2-(метилдисульфаніл)пропіл)аніліну (0,167 г, 0,255 ммоль) і карбонату калію (0,070 г, 0,510 ммоль). Флакон закривали і перемішували за кімнатної температури протягом ночі. Тверді речовини відфільтровували, а фільтрат концентрували. Залишок розчиняли в дихлорметані, екстрагували водою, органічний шар висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували у вакуумі, одержуючи 108 мг неочищеного матеріалу. Неочищений матеріал очищали на силікагелі з використанням 30% етилацетату з метою видалення дийодованого вихідного матеріалу, а потім 10% метанолу в дихлорметані, одержуючи бажаний продукт 30b (21 мг, 0,026 ммоль, 13%). МС (m/z), прогнозоване значення: 819,1, знайдене значення: 858,0 (M + K)<sup>+</sup>, 890,0 (M + CH<sub>3</sub>OH + K)<sup>+</sup>. Див. Фіг. 33.

[429] Сполука 1d:

[430] Відновлений мономер 3b (4,16 мг, 0,014 ммоль) розчиняли в ацетоні (2 мл) у невеликому флаконі, додавали мішалку з наступним додаванням 30b (10 мг, 0,012 ммоль) і карбонату калію (4,21 мг, 0,030 ммоль). Флакон закривали і перемішували за кімнатної температури протягом ночі. Реакційну суміш концентрували з метою видалення ацетону, а потім розчиняли в дихлорметані, екстрагували водою, висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували у вакуумі. Залишок очищали за допомогою обернено-фазової ВЕРХ на C18, одержуючи 1d (2,1 мг, 2,125 мкмоль, вихід 17,42%). МС (m/z): знайдене значення 1010,4 (M + Na)<sup>+</sup>, 1028,4 (M + H<sub>2</sub>O + Na)<sup>+</sup>. Див. Фіг. 33.

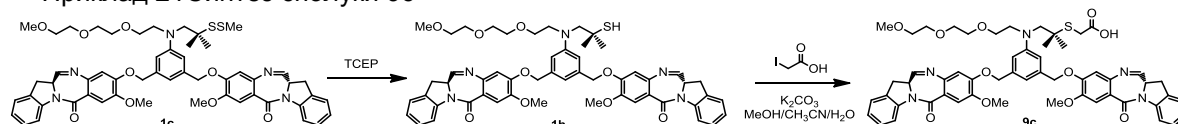
Приклад 20 Синтез сполуки 1



[431] Сполука 1:

[432] До суспензії, яка перемішується, 1f (226 мг, 0,24 ммоль) в IPA (20 мл) і деіонізований воді (10 мл) додавали бісульфіт натрію (50 мг, 0,48 ммоль). Суміш інтенсивно перемішували за кімнатної температури протягом 2 годин. Суміш заморожували сухим льодом/ацетоном і ліофілізували. Отриману білу пухку тверду речовину розчиняли в CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O і очищали за допомогою обернено-фазової ВЕРХ (колонка C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O). Фракції, які містили бажаний продукт, об'єднували, заморожували сухим льодом/ацетоном і ліофілізували, одержуючи бажану сполуку 1 у вигляді білої пухкої твердої речовини (179,6 мг, 5 = 71,6%). МС (m/z): знайдене значення 1022,0 (M - H)<sup>-</sup>. Див. Фіг. 38.

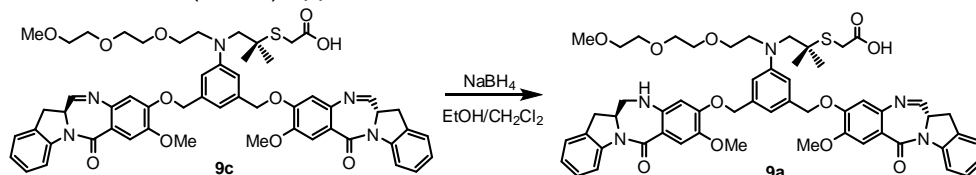
Приклад 21 Синтез сполуки 9c



[433] Сполука 9c:

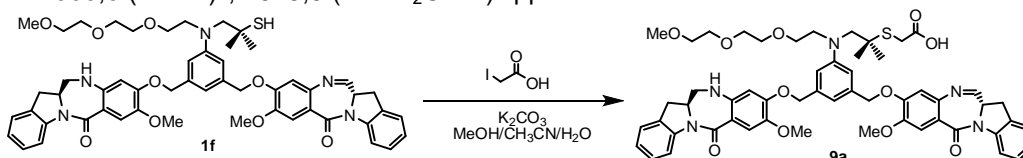
[434] До розчину, який перемішується, 1c (60 мг, 0,061 ммоль) в CH<sub>3</sub>CN (3 мл) додавали свіжоприготовлений розчин ТСЕР (49 мг, 0,17 ммоль солі ТСЕР і HCl нейтралізували насиченим розчином бікарбонату натрію до pH ~6,5, потім розбавляли 0,5 мл фосфатного буфера, pH 6,5) за кімнатної температури. Додавали MeOH (2,5 мл) і перемішували суміш за кімнатної температури протягом 3 годин. Реакційну суміш розбавляли дихлорметаном і деіонізованою водою, розділяли, органічний шар промивали насиченим розчином NaCl, висушували над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрували. Фільтрат упарювали і піддавали впливу глибокого вакууму, одержуючи 60 мг 1h у вигляді світложовтливої піни. МС (m/z): знайдене значення 940,1 (M + H)<sup>+</sup>. Її розчиняли в метанолі (1,0 мл) і CH<sub>3</sub>CN (1,4 мл) з наступним додаванням йодоцтової кислоти (24 мг, 0,13 ммоль), деіонізованої води (0,1 мл) і карбонату калію (27 мг, 0,19 ммоль).

Суміш перемішували за кімнатної температури протягом ночі (під контролем РХ-МС). Реакцію зупиняли насиченим розчином хлориду амонію з метою окиснення розчину, потім розбавляли дихлорметаном, розділяли і промивали насиченим розчином NaCl, висушували над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували та упарювали, одержуючи сполуку 9с (57,8 мг, вихід = 91%), яку безпосередньо використовували на наступному етапі без додаткового очищення. МС (m/z): знайдене значення 998,1 (M + H)<sup>+</sup>. Див. Фіг. 12А.



[435] Сполука 9а:

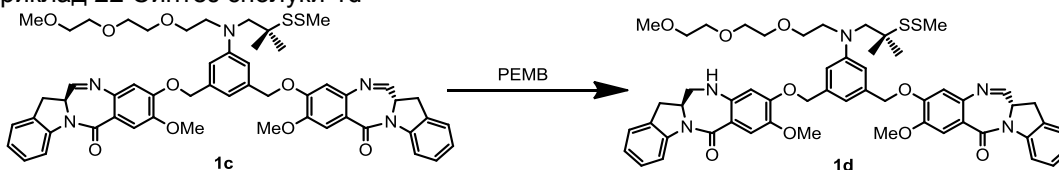
[436] До розчину, який перемішується, сполуки 9с (57,8 мг, 0,058 ммоль) у безводному дихлорметані (0,2 мл) і абсолютному етанолі (0,6 мл) додавали NaBH<sub>4</sub> (2,5 мг, 0,066 ммоль) за 0°C. Крижану баню видаляли і перемішували суміш за кімнатної температури протягом 3 годин, потім зупиняли реакцію насиченим розчином хлориду амонію, розбавляли дихлорметаном, розділяли і промивали органічний шар насиченим розчином NaCl, висушували над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували через целіт і упарювали. Залишок очищали за допомогою обернено-фазової ВЕРХ (колонка С18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O). Фракції, які містять продукт, екстрагували дихлорметаном та упарювали, одержуючи сполуку 9а (13,0 мг, вихід = 22%). МС (m/z), знайдене значення 1000,0 (M + H)<sup>+</sup>, 1015,9 (M + H<sub>2</sub>O - H)<sup>-</sup>. Див. Фіг. 12А.



[437] Сполука 9а:

[438] До розчину вільного тіолу 1f (45 мг, 0,048 ммоль) і йодоцтової кислоти (18 мг, 0,096 ммоль) у метанолі (1,0 мл) і CH<sub>3</sub>CN (1,4 мл) додавали деіонізовану воду (0,1 мл) і карбонат калію (20 мг, 0,14 ммоль). Суміш перемішували за кімнатної температури протягом ночі (під контролем РХ-МС). Реакцію зупиняли насиченим розчином хлориду амонію з метою окиснення розчину, потім розбавляли дихлорметаном, розділяли і промивали насиченим розчином NaCl, висушували над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували та упарювали. Залишок очищали за допомогою препаративної обернено-фазової ВЕРХ (С18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O). Фракції чистого продукту (згідно МС) екстрагували дихлорметаном, упарювали до одержання бажаної кислоти 9а (18 мг, вихід = 38%). МС (m/z): знайдене значення 1000,1 (M + H)<sup>+</sup>. Див. Фіг. 12В.

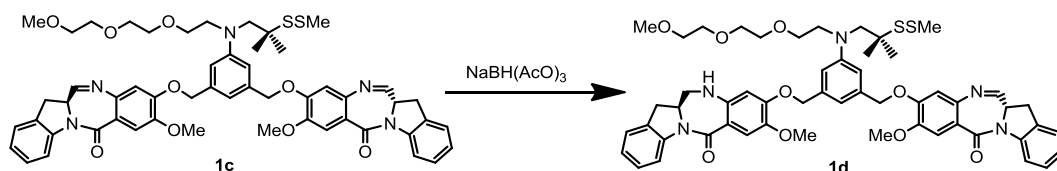
Приклад 22 Синтез сполуки 1d



[439] Сполука 1d:

[440] До розчину, який перемішується, сполуки 1с (178 мг, 0,18 ммоль) у безводному дихлорметані (1,2 мл) і абсолютному етанолі або безводному метанолі (0,1 мл) по краплях додавали 5-етил-2-метилпіридинборан (PEMB, 0,017 мл, 0,11 ммоль). Суміш перемішували за кімнатної температури протягом 1 години і зупиняли реакцію 88% мурашиною кислотою. Суміш підлужували насиченим розчином NaHCO<sub>3</sub>, розбавляли дихлорметаном, розділяли, органічний шар промивали насиченим розчином NaCl, висушували над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували через целіт і упарювали. Залишок розчиняли в CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O/88% HCOOH (5:1:0,05) і очищали за допомогою обернено-фазової ВЕРХ (С18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O). Фракції, які містили чистий продукт, екстрагували дихлорметаном і упарювали, одержуючи сполуку 1d (56 мг, вихід = 31%). МС (m/z): знайдене значення 988,1 (M + H)<sup>+</sup>. Див. Фіг. 39.

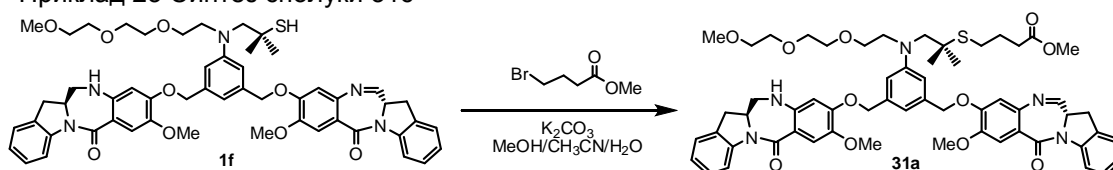




[441] Сполука 1d:

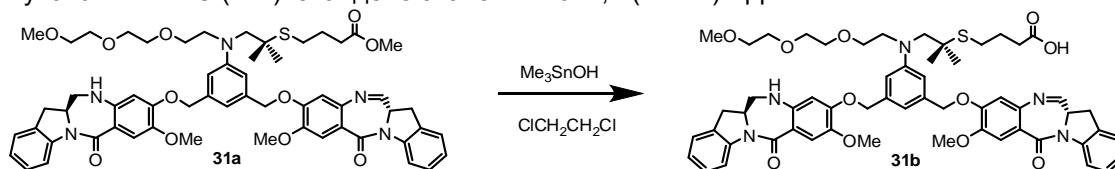
[442] До розчину, який перемішується, сполуки 1с (71 мг, 0,072 ммоль) у безводному 1,2-дихлоретані (0,8 мл) додавали триацетоксиборгідрид натрію (14 мг, 0,65 ммоль). Суміш перемішували за кімнатної температури протягом 2 годин, зупиняли реакцію насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$ , розбавляли суміш дихлорметаном, розділяли, органічний шар промивали насиченим розчином  $\text{NaCl}$ , висушували над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрували через целіт і упарювали. Залишок розчиняли в  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}/88\% \text{ HCOOH}$  (5:1:0,05) і очищали за допомогою обернено-фазової ВЕРХ (C18,  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ ). Фракції, які містили чистий продукт, екстрагували дихлорметаном і упарювали, одержуючи сполуку 1d (17 мг, вихід = 24%). МС (m/z): знайдене значення 988,1 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Крім того, відновлювали вихідний матеріал, який не прореагував, 1с (24 мг, вихід = 34%). Див. Фіг. 40.

Приклад 23 Синтез сполуки 31с



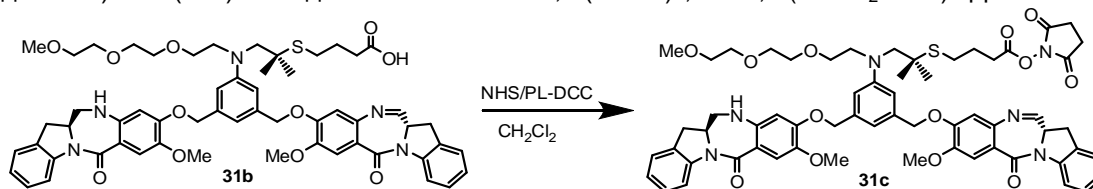
[443] Сполука 31a:

[444] До розчину сполуки 1f (57,8 мг, 0,061 ммоль) і метил-4-бромбутирату (22 мг, 0,12 ммоль) у метанолі (1,0 мл) і  $\text{CH}_3\text{CN}$  (1,0 мл) додавали деіонізовану воду (0,1 мл) і карбонат калію (17 мг, 0,12 ммоль). Суміш перемішували за кімнатної температури протягом ночі, потім зупиняли реакцію насиченим розчином хлориду амонію, суміш розбавляли дихлорметаном, розділяли і промивали насиченим розчином  $\text{NaCl}$ , висушували над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрували та упарювали. Залишок очищали за допомогою препаративної обернено-фазової ВЕРХ (C18,  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ ), одержуючи бажаний продукт 31a (14 мг, вихід = 22%) у вигляді жовтуватої піни. МС (m/z): знайдене значення 1042,1 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Див. Фіг. 41.



[445] Сполука 31b:

[446] До розчину метилового ефіру 31a (14 мг, 0,013 ммоль) у безводному 1,2-дихлоретані (1,5 мл) додавали гідроксид триметилолова (36 мг, 0,2 ммоль). Суміш перемішували протягом ночі на 80°C масляній бані до повного використання вихідного матеріалу. Суміш охолоджували до кімнатної температури, розбавляли дихлорметаном, промивали насиченим розчином  $\text{NaCl}$ /краплинним додаванням 5%-ної  $\text{HCl}$  і насиченим розчином  $\text{NaCl}$ , висушували і фільтрували. Фільтрат упарювали та очищали за допомогою хроматографії на силікагелі (дихлорметан/MeOH), одержуючи кислоту 31b у вигляді жовтуватої твердої речовини (10,2 мг, вихід = 74%). МС (m/z): знайдене значення 1028,2 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>, 1044,1 ( $\text{M} + \text{H}_2\text{O} - \text{H}$ )<sup>+</sup>. Див. Фіг. 41.

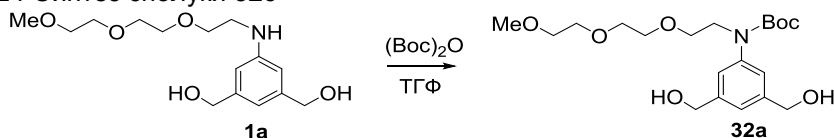


[447] Сполука 31с:

[448] До розчину кислоти 31b (10,2 мг, 0,0099 ммоль) у безводному дихлорметані (0,5 мл) додавали N-гідроксисукцинімід (3,4 мг, 0,03 ммоль) і PL-DCC (26 мг, 0,04 ммоль, 1,55 ммоль/г). Суміш перемішували за кімнатної температури протягом ночі і фільтрували для видалення смоли. Смолу промивали дихлорметаном, потім етилацетатом. Фільтрат упарювали, а залишок очищали за допомогою обернено-фазової ВЕРХ (C18,  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ ). Фракції, які містили продукт, об'єднували та ліофілізували, одержуючи NHS-ефір 31с у вигляді білої твердої речовини (3,6

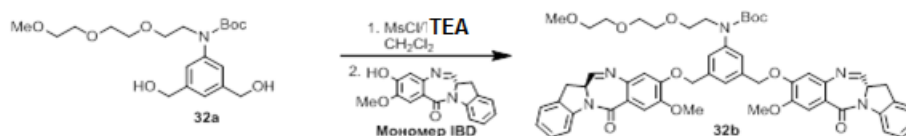
мг, вихід = 32%). МС (m/z): знайдене значення 1125,1 (M + H)<sup>+</sup>. Див. Фіг. 41.

Приклад 24 Синтез сполуки 32с



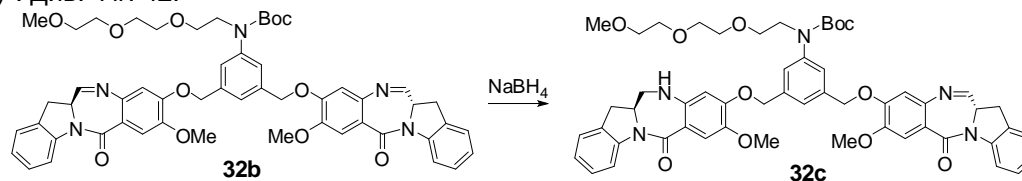
[449] Сполука 32a:

[450] До розчину, який перемішується, аніліну 1a (339 мг, 1,1 ммоль) у безводному тетрагідрофурані (4,0 мл) додавали Вос-ангідрид (272 мг, 1,2 ммоль). Суміш продовжували перемішувати за кімнатної температури протягом трьох днів. Реакційну суміш концентрували за зниженого тиску і залишок очищали хроматографією на силікагелі (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH), одержуючи сполуку 32a (405 мг, вихід = 90%) у вигляді безбарвного масла. <sup>1</sup>H-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,00 (с, 2H), 6,97 (с, 1H), 4,38 (с, 4H), 4,12 (с, 2H), 3,64 (т, J = 5,6 Гц, 2H), 3,48-3,44 (м, 8H), 3,40-3,38 (м, 2H), 3,21 (с, 3H), 1,31 (с, 9H); <sup>13</sup>C-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 154,65, 142,3, 142,1, 124,1, 122,7, 80,2, 71,6, 70,3, 70,1, 69,9, 68,5, 63,9, 58,65, 49,4, 28,1. Див. Фіг. 42.



[451] Сполука 32b:

[452] До розчину, який перемішується, сполуки 32a (51 мг, 0,128 ммоль) у безводному дихлорметані додавали триетиламін (0,053 мл, 0,383 ммоль) за -5 ~ -10°C. Потім повільно додавали метансульфонілхлорид (0,026 мл, 0,332 ммоль) протягом 15 хвилин за допомогою шприца. Суміш перемішували за -5-10°C протягом 1 год (ТСХ, ДХМ/MeOH 10:1). Реакцію зупиняли сумішшю лід/вода, суміш розбавляли холодним етилацетатом, розділяли, органічний шар промивали холодною водою, висушували над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/MgSO<sub>4</sub>, фільтрували і упарювали. Залишок переносили у невелику реакційну колбу з дихлорметаном, упарювали та піддавали впливу глибокого вакууму. Залишок розчиняли в безводному ДМФ (0,8 мл) з наступним додаванням мономера IBD (90 мг, 0,31 ммоль) і калію (53 мг, 0,38 ммоль). Суміш перемішували за кімнатної температури протягом ночі. Суміш розбавляли дихлорметаном, промивали насиченим розчином NaCl, висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували та упарювали. Залишок очищали за допомогою обернено-фазової ВЕРХ (C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O), одержуючи сполуку 32b (56 мг, 46%) у вигляді жовтуватої твердої речовини. <sup>1</sup>H-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,29 (д, J = 8,0 Гц, 2H), 7,87 (д, J = 4,8 Гц, 2H), 7,60 (с, 2H), 7,38-7,36 (м, 3H), 7,33-7,27 (м, 4H), 7,13 (т, J = 7,6 Гц, 2H), 6,88 (с, 2H), 5,21 (дд, J<sub>1</sub> = 20,0 Гц, J<sub>2</sub> = 12,4 Гц, 4H), 4,49 (дт, J<sub>1</sub> = 11,2 Гц, J<sub>2</sub> = 4,0 Гц, 2H), 3,99 (с, 6H), 3,83 (т, J = 6,0 Гц, 2H), 3,76-3,48 (м, 14H), 3,35 (с, 3H), 1,43 (с, 9H); МС (m/z): знайдене значення 992,2 (M + H<sub>2</sub>O + Na)<sup>+</sup>, 1010,2 (M + 2H<sub>2</sub>O + Na)<sup>+</sup>. Див. Фіг. 42.



[453] Сполука 32с:

[454] До розчину, який перемішується, сполуки 32b (56 мг, 0,059 ммоль) у безводному дихлорметані (0,3 мл) та абсолютному етанолі (0,9 мл) додавали NaBH<sub>4</sub> (2,7 мг, 0,07 ммоль) за 0°C. Крижану баню видаляли і перемішували суміш за кімнатної температури протягом 3 годин, потім зупиняли реакцію насиченим розчином хлориду амонію, розбавляли дихлорметаном, розділяли і промивали органічний шар насиченим розчином NaCl, висушували над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували через целіт і упарювали. Залишок очищали за допомогою обернено-фазової ВЕРХ (колонка C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O). Виділений вихідний матеріал 32b масою 12 мг знову піддавали впливу відновлювальних умов і очищали обернено-фазовою ВЕРХ. Усі фракції, які містили чистий продукт, екстрагували дихлорметаном і упарювали, одержуючи сполуку 32с (20,7 мг, вихід = 37%) у вигляді твердої світложовтуватої речовини. МС (m/z): знайдене значення 954,2 (M + H)<sup>+</sup>. Див. Фіг. 42.

### Приклад 25

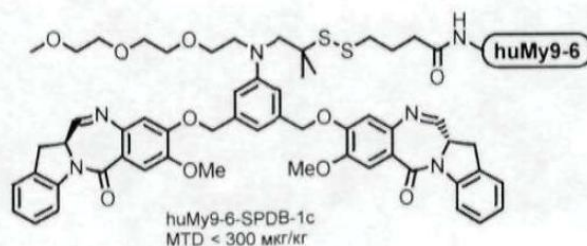
[455] Стерпність кон'югатів huMy9-6 досліджували на самках мишей CD-1. За тваринами спостерігали протягом семи днів до початку дослідження і визнали здоровими. Мишам вводили однократну в/в ін'єкцію кон'югату і щодня відслідковували у тварин втрату маси тіла, захворюваність або смертність. У Таблиці 10 показано, що кон'югат huMy9-6-SPDB-1с, який містить диімін і дисульфід, був стерпним в дозі менше 300 мкг/кг. На противагу цьому виявлено, що моноімінні дисульфідні кон'югати huMy9-6-SPDB-1f і huMy9-6-сульфо-SPDB-1f переносилися краще, причому їх максимальна стерпна доза склала > 729 мкг/кг і < 750 мкг/кг, відповідно.

Таблиця 10

Дані порівняння стерпності для кон'югатів (A) huMy9-6-SPDB-1c, (B) huMy9-6-SPDB-1f, (C) huMy9-6-сульфо-SPDB-1f і (D) huMy9-6-BMPS-1f

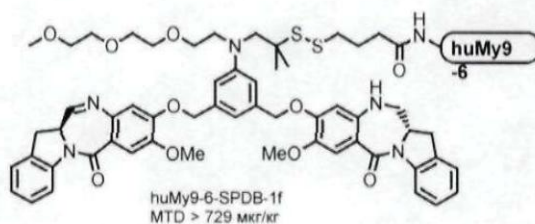
A)

Доза (мкг/кг)	% Виживаність
100	100
300	50
500	0
700	0



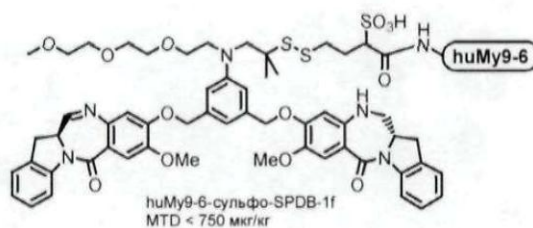
**B)**

Доза (мкг/кг)	% Виживаність
405	100
567	100
729	100



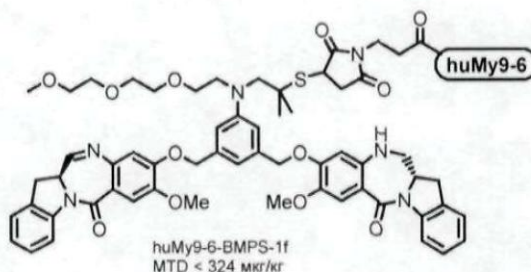
C)

Доза (мкг/кг)	% Виживаність
450	100
600	100
750	88
900	50

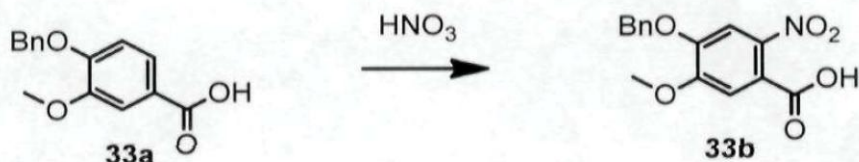


**D)**

Доза (мкг/кг)	% Виживаність
100	100
200	100
284	100
324	83
405	50



### Приклад 26

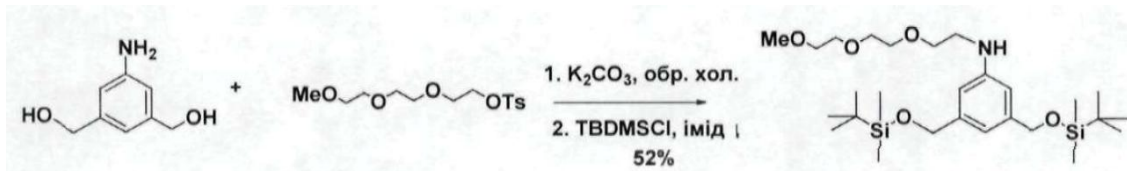


[456] Сполука 33b:

[457] Сполуку 33а (20 г, 77 ммоль) додавали у вигляді густої суспензії в безводному дихлорметані (100 мл) і охолоджували до 0°C. Додавали оцтову кислоту (191 мл), що приводило до одержання прозорого розчину, який перемішували за температури 0°C до охолодження. Через краплинну лійку повільно додавали по краплях азотну кислоту (26 мл, 581 ммоль). Крижану баню видаляли і отриманий розчин продовжували перемішувати за кімнатної

температури. Через 3 години реакційну суміш розбавляли деіонізованою водою та екстрагували дихлорметаном. Органічний шар промивали насиченим розчином NaCl, висушували над безводним сульфатом магнію і концентрували фільтрат у вакуумі. Неочищений залишок перекристалізовували з використанням суміші етилацетату і гексану. Тверду речовину відфільтровували і промивали гексаном, одержуючи сполуку 33b у вигляді жовтої пухкої твердої речовини (13,8 г, вихід = 59%).  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 Гц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,48-7,43 (м, 6H), 7,25 (с, 1H), 5,25 (с, 2H), 4,02 (с, 3H), МС (m/z): 326,1 (M + Na) $^+$ . Див. Фігуру 45.

Приклад 27

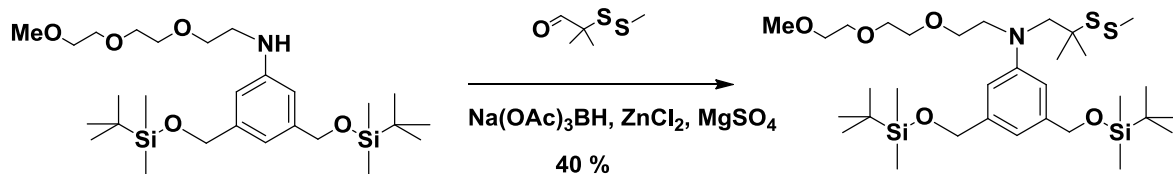


[458]

3,5-біс-(((трет-бутилдиметилсиліл)окси)метил)-N-(2-(2-(2-

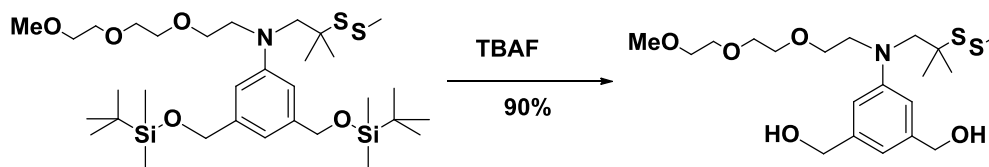
метоксиетокси)етокси)етил)анілін:

[459] Суміш (5-аміно-1,3-фенілен)диметанолу (11,78 г, 77 ммоль), 2-(2-(2-метоксиетокси)етокси)етил-4-метилбензолсульфонату (15,3 г, 48,1 ммоль) і карбонату калію (13,28 г, 96 ммоль) в ДМФ (96 мл) нагрівали зі зворотним холодильником протягом 20 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і розбавляли дихлорметаном. Суміш фільтрували через целіт і концентрували у вакуумі. Отримане жовтогаряче масло розчиняли в дихлорметані (240 мл) і додавали трет-бутилдиметилсилілхлорид (18,09 г, 120 ммоль) та імідазол (9,80 г, 144 ммоль). Реакційну суміш перемішували за кімнатної температури протягом 20 годин, після чого розбавляли дихлорметаном і фільтрували через целіт. Очищення хроматографією на силікагелі (EtOAc/гексан) дозволяло одержати 3,5-біс-(((трет-бутилдиметилсиліл)окси)метил)-N-(2-(2-(2-метоксиетокси)етокси)етил)анілін (13 г, 52%).  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 Гц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  6,52 (с, 1H), 6,40 (с, 2H), 4,56 (с, 4H), 3,60 (т, 2H, J = 5,2 Гц), 3,56 (м, 6H), 3,46 (м, 2H), 3,29 (с, 3H), 3,20 (т, 2H, J = 5,2 Гц), 0,84 (с, 18H), 0,00 (с, 12H). МС (m/z): знайдене значення 550,1 (M + Na) $^+$ . Див. Фіг. 46.



[460] 3,5-біс-(((трет-бутилдиметилсиліл)окси)метил)-N-(2-(2-(2-метоксиетокси)етокси)етил)-N-(2-метил-2-(метилдисульфанил)пропіл)анілін:

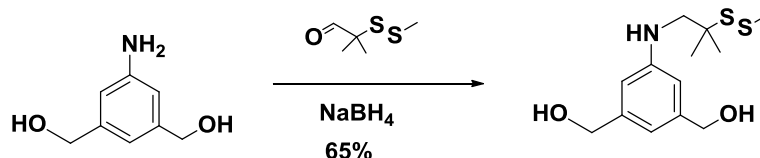
[461] До розчину 3,5-біс-(((трет-бутилдиметилсиліл)окси)метил)-N-(2-(2-(2-метоксиетокси)етокси)етил)аніліну (6,7 г, 12,69 ммоль) у безводному 1,2-дихлоретані (50 мл) додавали 2-(метилтіо)ізобутиральдегід (2,74 мл, 19,04 ммоль), триацетоксиборгідрид натрію (2,8 г, 1 екв.), хлорид цинку (II) (0,865 г, 6,35 ммоль) і сульфат магнію (2,292 г, 19,04 ммоль). Суміш перемішували протягом п'яти годин за кімнатної температури. Додавали триацетоксиборгідрид натрію (2,8 г, 1 екв.). Реакційну суміш продовжували перемішувати за кімнатної температури протягом 20 годин. Отриману суміш фільтрували через целіт, промивали дихлорметаном, концентрували за зниженого тиску, а потім екстрагували етилацетатом і водою. Органічні екстракти промивали насиченим розчином NaCl, висушували над сульфатом магнію, фільтрували, концентрували і очищали за допомогою Combiflash (EtOAc/гексан), одержуючи 3,5-біс-(((трет-бутилдиметилсиліл)окси)метил)-N-(2-(2-(2-метоксиетокси)етокси)етил)-N-(2-метил-2-(метилдисульфанил)пропіл)анілін (3,5 г, 40%).  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 Гц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  6,73 (с, 2H), 6,59 (с, 1H), 4,56 (с, 4H), 3,65-3,51 (м, 14H), 3,30 (с, 3H), 2,38 (с, 3H), 1,28 (с, 6H), 0,84 (с, 18H), 0,00 (с, 12H). МС (m/z): знайдене значення 684,2 (M + Na) $^+$ . Див. Фіг. 46.



[462] (5-((2-(2-(2-метоксиетокси)етокси)етил)(2-метил-2-(метилдисульфанил)пропіл)аміно)-1,3-фенілен)диметанол (1b):

5 [463] Фторид тетрабутиламонію (1 М у ТГФ) (10,57 мл, 10,57 ммоль) додавали по краплях до розчину, який перемішується, 3,5-біс-(((трет-бутилдиметилсиліл)окси)метил)-N-(2-(2-(2-метоксиетокси)етокси)етил)-N-(2-метил-2-(метилдисульфанил)пропіл)аніліну (3,5 г, 5,29 ммоль) у безводному ТГФ (65 мл) за 0°C на крижаній бані. Після додавання суміш перемішували за кімнатної температури протягом двох годин. Реакцію зупиняли насиченим розчином хлориду амонію та екстрагували етилацетатом. Екстракти промивали водою і насиченим розчином NaCl, висушували сульфатом магнію, фільтрували і концентрували за зниженого тиску. Очищення хроматографією на силікагелі (MeOH/ДХМ) дозволяло одержати (5-((2-(2-(2-метоксиетокси)етокси)етил)(2-метил-2-(метилдисульфанил)пропіл)аміно)-1,3-фенілен)диметанол (2 г, 87%). <sup>1</sup>H-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 6,76 (с, 2H), 6,63 (с, 1H), 4,55 (с, 4H), 3,65-3,51 (м, 14H), 3,35 (с, 3H), 2,44 (с, 3H), 1,33 (с, 6H); <sup>13</sup>C-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 149,0, 142,35, 114,0, 111,1, 71,98, 70,7, 70,6, 70,5, 67,6, 65,5, 59,75, 59,1, 53,9, 51,9, 26,6, 25,7, 20,75; MS (m/z): знайдене значення 456,2 (M + Na)<sup>+</sup>. Див. Фіг. 46.

Приклад 28



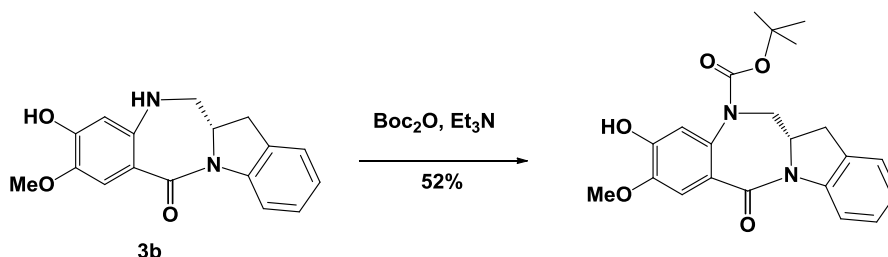
20

[464] (5-(2-метил-2-(метилдисульфанил)пропіламіно)-1,3-фенілен)диметанол:

25 [465] (5-аміно-1,3-фенілен)диметанол (2,5 г, 16,32 ммоль) і 2-(метилдитіо)ізобутиральдегід (2,347 мл, 16,32 ммоль) перемішували за кімнатної температури в абсолютному етанолі (82 мл) до повного розчинення (3 години). Суміш охолоджували до 0°C на крижаній бані і додавали боргідрид натрію (0,741 г, 19,59 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 1 години за 0°C, а потім повільно зупиняли реакцію холодним 5% розчином HCl. Суміш розбавляли дихлорметаном і доводили pH до pH=8 насиченим розчином бікарбонату натрію, потім екстрагували дихлорметаном, а потім промивали насиченим розчином NaCl. Органічні екстракти висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували за зниженого тиску. Очищення хроматографією на силікагелі (MeOH/ДХМ) дозволяло одержати (5-(2-метил-2-(метилдисульфанил)пропіламіно)-1,3-фенілен)диметанол (3 г, 65%) у вигляді білої твердої речовини.

30 <sup>1</sup>H-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 6,62 (с, 1H), 6,54 (с, 2H), 4,53 (с, 4H), 3,13 (с, 2H), 2,30 (с, 3H), 1,32 (с, 6H). Див. Фіг. 47.

Приклад 29



40 [466] Трет-бутил-9-гідрокси-8-метокси-6-оксо-12a,13-дигідро-6H-бензо[5,6][1,4]діазепін[1,2-a]індол-11(12H)-карбоксилат:

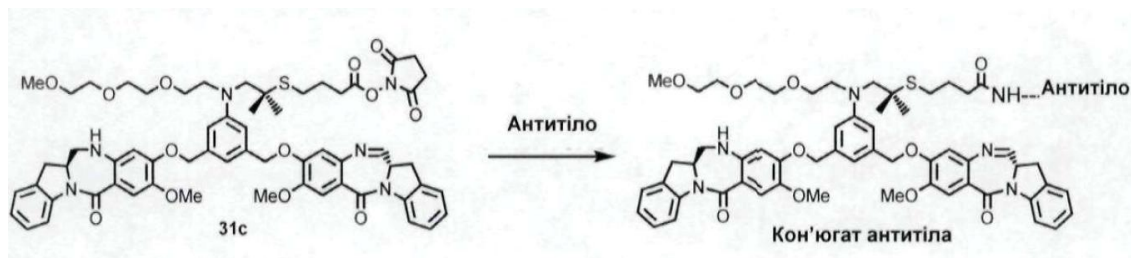
[467] До розчину 9-гідрокси-8-метокси-11,12,12a,13-тетрагідро-6H-бензо[5,6][1,4]діазепін[1,2-a]індол-6-ону 3b (0,3 г, 1,012 ммоль) в метанолі (5,06 мл) додавали ди-трет-бутилдикарбонат (0,265 г, 1,215 ммоль), триетиламін (0,212 мл, 1,519 ммоль) і DMAP (6,18 мг, 0,051 ммоль).



Після 5 годин перемішування за кімнатної температури реакційну суміш концентрували у вакуумі. Залишок повторно розчиняли в дихлорметані і фільтрували через целіт. Очищення хроматографією на силікагелі (20% EtOAc/ДХМ) дозволяло одержати трет-бутил-9-гідрокси-8-метокси-6-оксо-12а,13-дигідро-6Н-бензо[5,6][1,4]діазепін[1,2-а]індол-11(12Н)-карбоксилат (0,21 г, 52%) у вигляді білої твердої речовини. <sup>1</sup>Н-ЯМР (400 Гц, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,25 (д, J = 8,0 Гц, 1Н), 7,44 (с, 1Н), 7,18 (т, J = 7,2 Гц, 1Н), 7,11 (д, J = 7,2 Гц, 1Н), 6,98 (т, J = 7,2 Гц, 1Н), 6,39 (с, 1Н), 4,37 (м, 1Н), 3,75 (с, 3Н), 3,42 (м, 3Н), 2,74 (дд, J = 3,6, 16,4 Гц, 1Н), 1,47 (с, 9Н). Див. Фіг. 48.

Приклад 30

[468] Одержання і тестування huMy9-6-31с



[469] У реакційній суміші, яка містить 2,0 мг/мл антитіла huMy9-6 і 5 молярних еквівалентів сполуки 31с (попередньо обробленої 5-кратним надлишком бісульфіту натрію в 90:10 суміші ДМА:вода) в 50 мМ HEPES (4-(2-гідроксиетил)-1-піперазинетансульфонова кислота)-буфері з рН 8,5 та співрозчиннику 10% об'єм/об'єм ДМА (N,N-диметилацетаміді), забезпечували утворення кон'югату протягом 6 годин за 25°C. Після реакції кон'югат очищали і заміняли буфер на буфер для суміші, який містив 250 мМ гліцину, 10 мМ гістидину, 1% сахарозу, 0,01% Твін-20, 50 мкМ бісульфіту натрію, рН 6,2, за допомогою знесолюючої колонки NAP (Illustra Sephadex G-25 DNA Grade, GE Healthcare). Діаліз здійснювали в цьому ж буфері протягом 4 годин за кімнатної температури, використовуючи касети для діалізу Slide-a-Lyzer (Thermoscientific 20000 MWCO).

[470] Було встановлено, що очищений кон'югат характеризувався в середньому 3,1 молекулами IGN, приєднаними на молекулу антитіла (згідно UV-Vis при використанні молярних коефіцієнтів екстинкції  $\epsilon_{330 \text{ нм}} = 15484 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$ ,  $\epsilon_{280 \text{ нм}} = 30115 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$  для 1, і  $\epsilon_{280 \text{ нм}} = 207000 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$  для антитіла My9-6), вмістом мономера 98% (згідно з ексклюзійною хроматографією), вмістом некон'югованої лікарської речовини < 0,2% (згідно з двоколонковою обернено-фазовою ВЕРХ) і кінцевою концентрацією білка 0,4 мг/мл.

[471] Вимірювання активності кон'югатів huMy9-6 з 31с in vitro за двох різних навантажень лікарської речовини показані нижче. Обидва кон'югати були високоактивними стосовно антиген-позитивних клітин HL60-QC, причому значення IC<sub>50</sub> перебували між 1,3-1,8 пМ. Блокування антигена з використанням 1 мкМ некон'югованого huMy9-6 значно знижувало активність, демонструючи антигенну специфічність цитотоксичної дії.

Кон'югат huMy9-6-31с	IC <sub>50</sub> (пМ)	IC <sub>50</sub> (пМ) блокуючого huMy9-6	Вікно специфічності
3,1 IGN/антитіло	1,8	940	522
3,9 IGN/антитіло	1,3	790	608

Приклад 31

[472] Ефективність різних кон'югатів in vivo на голих мишах, які несуть пухлини

[473] У даному дослідженні вивчали протипухлинну активність декількох кон'югатів згідно з винаходом на мишах з ослабленим імунітетом (голих або ТК1Н), переважно на самках голих мишей, які несуть різні пухлини. У деяких випадках, на додаток або як альтернативу, можна було використовувати голих пацюків. Кон'югати, які підлягали тестуванню, включали один або більше із кон'югатів, описаних тут. Різні лінії пухлинних клітин, які можна було використовувати для інокуляції голих мишей, включали HL60/QC, MOLM-13, NB4, HEL92.1.7, OCI-AML3, KB і/або будь-які інші лінії ракових клітин, визнані в даній галузі техніки адекватною моделлю для захворювання (наприклад, раку). Деякі критерії, які можна застосовувати для відбору ліній пухлинних клітин, які підходять для оцінки in vivo, включають: а) експресію антигена-мішені на пухлинній клітині, і б) чутливість пухлинних клітин до некон'югованої лікарської речовини in vitro. Наприклад, у якості одного з посібників з визначення типів раку, які можуть бути підходящими для лікування сполуками згідно з винаходом, можна використовувати скринінг чутливості ліній

клітин *in vitro*, наприклад, скринінг 60 ліній клітин, описаний у Національному інституті раку США (див. Voskoglou-Nomikos et al., 2003, Clinical Cancer Res. 9; 42227-4239, включену в даний документ за допомогою посилання). Активність різних кон'югатів стосовно різних ліній пухлинних клітин, виражену в значеннях  $IC_{50}$  (нМ), вимірювали відповідно.

5 [474] Різні лінії пухлинних клітин інокулювали в організми голих або ТКІН-мишей з використанням практично такого ж протоколу, як описано в Прикладі 15. Наприклад, приблизно  $1 \times 10^6$  -  $5 \times 10^7$  пухлинних клітин (звичайно  $1 \times 10^7$  клітин/мишу) підшкірно інокулювали в обсязі приблизно 0,1-0,2 мл/мишу в область над правим плечем самок бестимусних голих мишей 6-тижневого віку. Після досягнення пухлиною середнього розміру  $\sim 100 \text{ мм}^3$  (як правило, через 6-8 днів після інокуляції пухлинних клітин) мишей ділили на групи випадковим чином (наприклад,  $n = 5 - 8$  на групу) за об'ємом пухлини. Лікування починали наступного дня після розподілу, групи включали контрольну групу, яка одержувала відповідне середовище-носії (200 мкл/ін'єкцію), або однократне лікування різними дозами (від 5 до 700 мкг/кг) вищезгаданих кон'югатів лікарських речовин (доза приєднаної лікарської речовини 50 мкг/кг відповідає дозі антитіла приблизно 2 мкг/кг). Крім того, можна було використовувати розклади багаторазових дозувань (наприклад, лікування в день 1, 3, 5 або в день 1, 4, 7).

[475] Вимірювали медіанний і середній об'єм пухлин залежно від часу, причому дані демонстрували залежну від дози протипухлинну активність розглянутих кон'югатів. Потім розраховували мінімальну ефективну дозу і порівнювали її з максимальною стерпною дозою.

20 Приклад 32

[476] Одержання huMy9-6-сульфо-SPDB-1d с з використанням лінкера 4-нітроРу-сульфо-SPDB

[477] Реакційну суміш, яка містила 6 мг/мл антитіла huMy9-6 і 5 молярних еквівалентів високоактивного лінкера N-сукцинімідил-4-(4-нітропіридил-2-дитіо)бутаноату (20 мМ робочий розчин в етанолі), інкубували протягом 3 год за  $25^\circ\text{C}$  в 50 мМ EPPS-буфері за pH 8. Лінкер, який не прореагував, видаляли за допомогою знесолюючої колонки NAP (Illustra Sephadex G-25 DNA Grade, GE Healthcare). Виміряне на основі концентрації антитіла і ДТТ-вивільненої концентрації нітропіридин-2-тіону за допомогою спектроскопії в УФ і видимій частині спектра ( $\epsilon_{394 \text{ нм}} = 14205 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$  для 2-тіо-4-нітропіридону) співвідношення лінкер-антитіло (LAR) склало приблизно 2,3.

30 [478] HuMy9-6, модифіковане лінкером, розбавляли до 2 мг/мл в 50 мМ HEPES -буфері за pH 8,5, 10% об'єм/об'єм ДМА, і піддавали взаємодії з 2 молярними еквівалентами сполуки 1d на лінкер (робочий розчин 5 мМ у ДМА, 4,6 еквіваленти на антитіло) протягом 30 хв. за  $25^\circ\text{C}$ . Завершення реакції обміну дисульфідних зв'язків визначали, відслідковуючи збільшення оптичної щільності за 394 нм за допомогою УФ-спектроскопії.

35 [479] Після реакції кон'югат очищали і заміняли буфер на розчин 250 мМ гліцину, 10 мМ гістидину, 1% сахарози, 0,01% твіну-20, 50 мкМ бісульфіту натрію за pH 6,2 за допомогою знесолюючої колонки (G-25 Sephadex, fine grade, GE Healthcare).

40 [480] Виявлено, що очищений кон'югат характеризувався в середньому 2,1 приєднаними молекулами 1d на антитіло (згідно зі спектроскопією в УФ і видимій частині спектра з використанням молярних коефіцієнтів екстинкції  $\epsilon_{330 \text{ нм}} = 15484 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$  і  $\epsilon_{280 \text{ нм}} = 30115 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$  для 1d і  $\epsilon_{280 \text{ нм}} = 207000 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$  для huMy9-6), 98% мономера (згідно з ексклюзійною хроматографією), < 1% некон'югованої 1d (згідно з екстракцією ацетоном/ обернено-фазовою ВЕРХ), 70% виходом білка і 32% загальним виходом 1d. Див. Фіг. 60.



ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> IMMUNOGEN, INC.  
 <120> ЦИТОТОКСИЧНІ ПОХІДНІ БЕНЗОДІАЗЕПІНУ  
 <130> 121162-00220  
 <140>  
 <141>  
 <150> 61/483,499  
 <151> 2011-05-06  
 <150> 61/443,062  
 <151> 2011-02-15  
 <150> 61/443,092  
 <151> 2011-02-15  
 <160> 14  
 <170> Патентна версія 3.5  
 <210> 1  
 <211> 5  
 <212> БІЛОК  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <221> джерело  
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид  
 <400> 1  
 Gly Tyr Phe Met Asn  
 1 5  
 <210> 2  
 <211> 17  
 <212> БІЛОК  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <221> джерело  
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"  
 <220>  
 <221> ВАРІАНТ  
 <222> (14)..(14)  
 <223> /заміна="Gln" або "His" або "Arg"  
 <220>  
 <221> РІЗНЕ  
 <222> (14)..(14)  
 <223> /примітка="Залишок наданий в переліку не має переваги по відношенню до анотацій для вказаної позиції"

```

<220>
<221> ВАРИАНТ
<222> (16)..(16)
<223> /заміна="His" або "Asn" або "Arg"

<220>
<221> ВАРИАНТ
<222> (17)..(17)
<223> /заміна="Glu" або "Thr" або "Ser" або "Ala" або "Val"

<220>
<221> РІЗНЕ
<222> (16)..(17)
<223> /примітка="Залишок наданий в переліку не має переваги
по відношенню до анотацій для вказаної позиції"

<400> 2
Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe Gl:
1           5           10           15

Gly

<210> 3
<211> 9
<212> БІЛОК
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
пептид"

<400> 3
Tyr Asp Gly Ser Arg Ala Met Asp Tyr
1           5

<210> 4
<211> 15
<212> БІЛОК
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
пептид"

<400> 4
Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala Gly Thr Ser Leu Met His
1           5           10           15

<210> 5
<211> 7
<212> БІЛОК
<213> Штучна послідовність

```

<220>  
 <221> джерело  
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

<400> 5  
 Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala  
 1 5

<210> 6  
 <211> 9  
 <212> БІЛОК  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <221> джерело  
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

<400> 6  
 Gln Gln Ser Arg Glu Tyr Pro Tyr Thr  
 1 5

<210> 7  
 <211> 17  
 <212> БІЛОК  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <221> джерело  
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"

<400> 7  
 Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe Gln  
 1 5 10 15

Gly

<210> 8  
 <211> 448  
 <212> БІЛОК  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <221> джерело  
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

<400> 8  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr

20										25					30				
Phe	Met	Asn	Trp	Val	Lys	Gln	Ser	Pro	Gly	Gln	Ser	Leu	Glu	Trp	Ile				
		35					40					45							
Gly	Arg	Ile	His	Pro	Tyr	Asp	Gly	Asp	Thr	Phe	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe				
	50					55					60								
Gln	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Asn	Thr	Ala	His				
65					70					75					80				
Met	Glu	Leu	Leu	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
				85					90					95					
Thr	Arg	Tyr	Asp	Gly	Ser	Arg	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr				
			100					105					110						
Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro				
		115						120				125							
Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly				
	130					135					140								
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn				
145					150					155					160				
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln				
				165				170						175					
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser				
			180					185					190						
Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser				
	195						200					205							
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr				
	210					215					220								
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser				
225					230					235					240				
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg				
				245					250					255					
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro				

```

                260                265                270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
    275                280                285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
    290                295                300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
    305                310                315                320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
    325                330                335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
    340                345                350

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
    355                360                365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
    370                375                380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
    385                390                395                400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
    405                410                415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
    420                425                430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
    435                440                445

<210> 9
<211> 218
<212> БІЛЮК
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
        поліпептид"

<400> 9
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1                5                10                15

```

Gln Pro Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala  
20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro  
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Asp  
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile Ser  
65 70 75 80

Pro Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg  
85 90 95

Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

<210> 10

<211> 218

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

&lt;221&gt; джерело

&lt;223&gt; /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид"

&lt;400&gt; 10

Asp	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Ala	Val	Ser	Leu	Gly
1				5				10					15		

Gln	Pro	Ala	Ile	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Phe	Ala
			20				25						30		

Gly	Thr	Ser	Leu	Met	His	Trp	Tyr	His	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Gln	Pro
	35					40						45			

Arg	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg	Ala	Ser	Asn	Leu	Glu	Ala	Gly	Val	Pro	Asp
	50					55					60				

Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Lys	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser
65				70						75				80	

Pro	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Ala	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ser	Arg
			85					90						95	

Glu	Tyr	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg
		100					105						110		

Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln
	115						120					125			

Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr
	130					135					140				

Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser
145					150					155				160	

Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr
			165					170						175	

Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys
		180					185						190		

His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro
		195					200					205			

Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys
	210					215			

```

<210> 11
<211> 118
<212> БІЛОК
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
        поліпептид"

<400> 11
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1          5          10          15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
          20          25          30

Phe Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile
          35          40          45

Gly Arg Ile His Pro Tyr Asp Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe
50          55          60

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala His
65          70          75          80

Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
          85          90          95

Thr Arg Tyr Asp Gly Ser Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
          100          105          110

Thr Val Thr Val Ser Ser
          115

<210> 12
<211> 112
<212> БІЛОК
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
        поліпептид"

<400> 12
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1          5          10          15

Gln Pro Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala

```



```

                20                25                30
Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro
   35                40                45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Asp
   50                55                60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile Ser
   65                70                75                80

Pro Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg
                85                90                95

Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
   100                105                110

<210> 13
<211> 112
<212> БІЛОК
<213> Штучна послідовність

<220>
<221> джерело
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний
        поліпептид"

<400> 13
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1                5                10                15

Gln Pro Ala Ile Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Phe Ala
   20                25                30

Gly Thr Ser Leu Met His Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Gln Pro
   35                40                45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ala Gly Val Pro Asp
   50                55                60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
   65                70                75                80

Pro Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg
                85                90                95

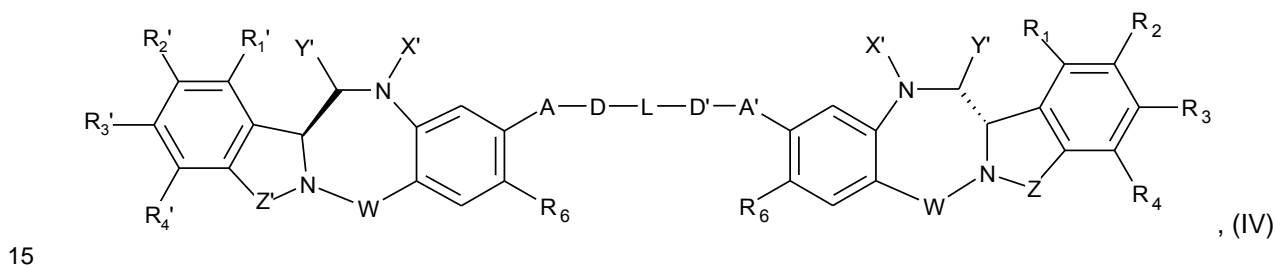
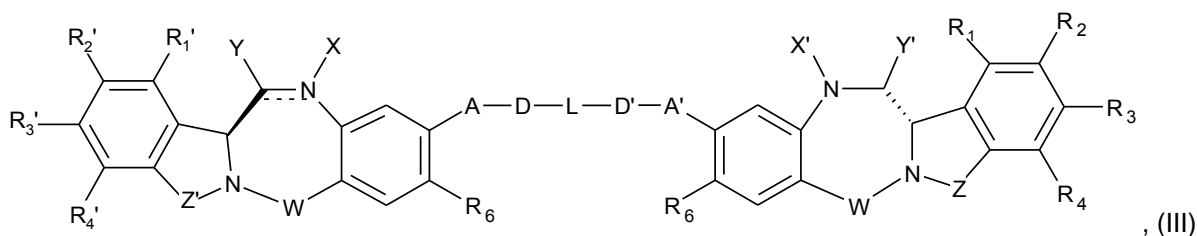
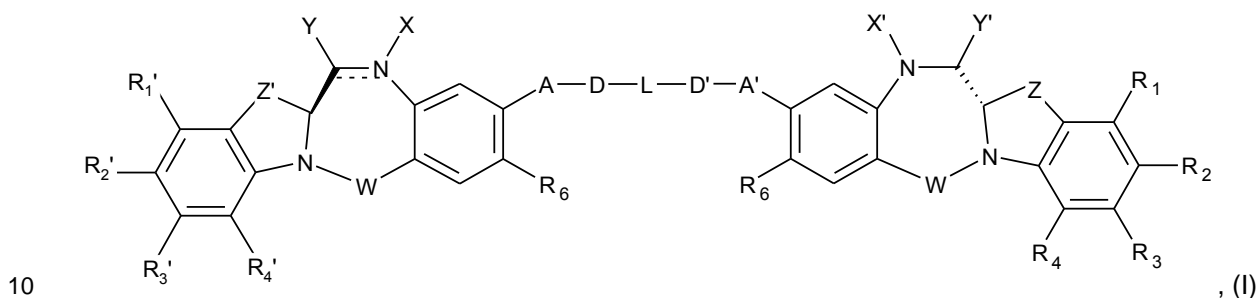
Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
   100                105                110

```


<210> 14  
 <211> 4  
 <212> БІЛОК  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <221> джерело  
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид"  
 <400> 14  
 Ala Leu Ala Leu  
 1

# ФОРМУЛА ВІНАХОДУ

- 5 1. Цитотоксична сполука, яка містить зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою, здатною ковалентно приєднувати зазначену цитотоксичну сполуку до агента, який зв'язується з клітинами (СВА), причому зазначена цитотоксична сполука представлена будь-якою з наступних формул:



або її фармацевтично прийнятною сіллю, де:

- подвійна лінія  між N і C являє собою одинарний зв'язок або подвійний зв'язок, за умови, що, коли вона являє собою подвійний зв'язок, X відсутня, а Y являє собою -H або лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, а коли вона являє собою одинарний зв'язок, X являє собою -H, зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою або аміноблокуючою групою;  
 Y являє собою -H або відхідну групу, вибрану з -OR, -OCOR', -OCOOR', -OCONR'R'', -NR'R'', -NR'COR'', -NR'NR'R'', необов'язково заміщений 5- або 6-членний азотовмісний гетероцикл (наприклад, піперидин, тетрагідропірол, піразол, морфолін тощо), гуанідиний, представлений -NR'(C=NH)NR'R'', амінокислоту або пептид, представлений -NRCOP', причому P' являє собою

- амінокислоту або поліпептид, який містить від 2 до 20 амінокислотних залишків, -SR, -SOR', -SO<sub>2</sub>M, -SO<sub>3</sub>M, -OSO<sub>3</sub>M, галоген, ціаногрупу та азидну групу; або
- Y являє собою сульфїт (HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>, HSO<sub>3</sub><sup>2-</sup> або сіль HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>3</sub><sup>2-</sup> або HSO<sub>2</sub><sup>-</sup>, утворену катіоном), метабісульфїт (H<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), моно-, ди-, три- і тетратіофосфат (PO<sub>3</sub>SH<sub>3</sub>, PO<sub>2</sub>S<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, POS<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, PS<sub>4</sub>H<sub>2</sub> або сіль PO<sub>3</sub>S<sup>3-</sup>, PO<sub>2</sub>S<sub>2</sub><sup>3-</sup>, POS<sub>3</sub><sup>3-</sup> або PS<sub>4</sub><sup>3-</sup>, утворену катіоном), складний ефір тіофосфату (R<sup>i</sup>O)<sub>2</sub>PS(OR<sup>i</sup>), R<sup>i</sup>S-, R<sup>i</sup>SO, R<sup>i</sup>SO<sub>2</sub>, R<sup>i</sup>SO<sub>3</sub>, тіосульфат (HS<sub>2</sub>O<sub>3</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), дитіоніт (HS<sub>2</sub>O<sub>4</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), фосфордитіоат (P(=S)(OR<sup>k</sup>)(S)(OH) або його сіль, утворену катіоном), гідроксамову кислоту (R<sup>k</sup>C(=O)NOH або сіль, утворену катіоном),
- формальдегідсульфоксилат (HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup> або сіль HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup>, утворену катіоном, наприклад HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup>Na<sup>+</sup>) або їх суміш, де R<sup>i</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю та заміщений щонайменше одним замісником, вибраним із -N(R<sup>j</sup>)<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>H, -SO<sub>3</sub>H і -PO<sub>3</sub>H; R<sup>i</sup> необов'язково може бути додатково заміщений замісником для алкілу, описаним тут; R<sup>j</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю; R<sup>k</sup> являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, арил, гетероцикліл або гетероарил;
- M являє собою -H або катіон;
- R, у кожному випадку, незалежно вибраний з групи, яка складається з -H, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup>, необов'язково заміщеного арилу, який містить від 6 до 18 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню та сірки, або необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P;
- кожний з R' і R'' незалежно вибраний з -H, -OH, -OR, -NHR, -NR<sub>2</sub>, -COR, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup> та необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P;
- R<sup>c</sup> являє собою -H або заміщений або незаміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, або зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою;
- n являє собою ціле число від 1 до 24;
- W вибраний з C=O, C=S, CH<sub>2</sub>, BH, SO і SO<sub>2</sub>;
- X' вибраний з -H, аміноблокуючої групи, зв'язуючої групи з приєднаною до неї реакційноздатною групою, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup>, необов'язково заміщеного арилу, який містить від 6 до 18 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню та сірки, і необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P;
- Y' вибраний з -H, оксогрупи, зв'язуючої групи з приєднаною до неї реакційноздатною групою, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 6-18-членного арилу, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню та сірки, необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів;
- кожний з R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>1</sub>', R<sub>2</sub>', R<sub>3</sub>' і R<sub>4</sub>' незалежно вибраний з групи, яка складається з -H, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup>, галогену, гуанідинію [-NH(C=NH)NH<sub>2</sub>], -OR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, -NCO, -NR'COR'', -SR, сульфоксиду, представленого -SOR', сульфону, представленого -SO<sub>2</sub>R', сульфонату -SO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, сульфату -OSO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, сульфонамїду, представленого -SO<sub>2</sub>NR'R'', ціаногрупи, азидної групи, -COR', -OCOR', -CONR'R'' і зв'язуючої групи з приєднаною до неї реакційноздатною групою;
- R<sub>6</sub> являє собою -H, -R, -OR, -SR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, галоген або зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою;
- Z і Z' незалежно вибрані з -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CR<sub>7</sub>R<sub>8</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>na</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-NR<sub>9</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>na</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>na</sub>- і -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>na</sub>-;
- n' і na' є однаковими або різними та вибрані з 0, 1, 2 і 3;

$R_7$  і  $R_8$  є однаковими або різними і кожний з них незалежно вибраний з -H, -OH, -SH, -COOH, -NHR', мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-$ , амінокислоти, пептидної одиниці, яка несе від 2 до 6 амінокислот, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

5  $R_9$  незалежно вибраний з -H, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера полі етиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-$ ;

A і A' є однаковими або різними і, незалежно, вибрані з -O-, оксо (-C(=O)-), -CRR'O-, -CRR'-, -S-, -CRR'S-, -NR<sub>5</sub>- і -CRR'N(R<sub>5</sub>)-,

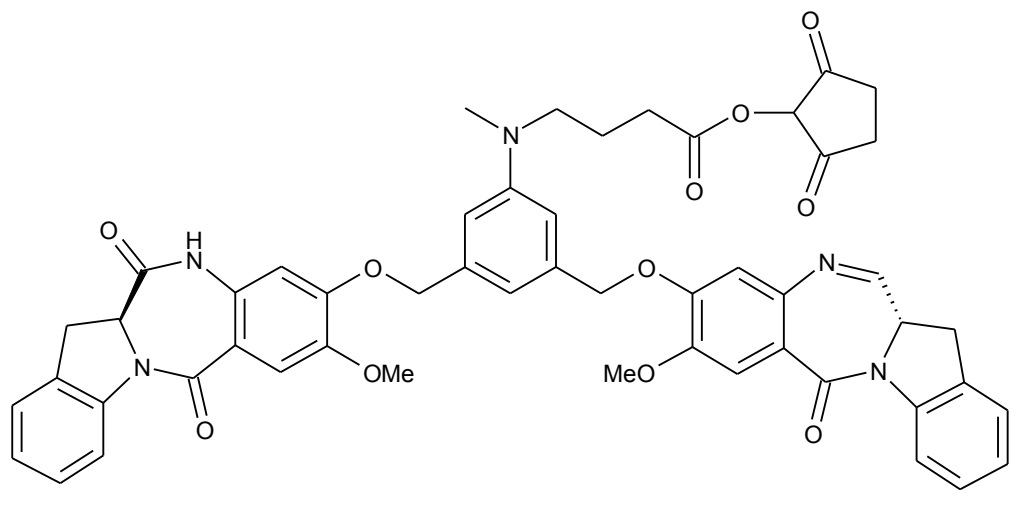
10  $R_5$ , у кожному випадку, незалежно являє собою -H або необов'язково заміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

D і D' є однаковими або різними і, незалежно, відсутні або вибрані з групи, яка складається з необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, амінокислоти, пептиду, який несе від 2 до 6 амінокислот, і мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-$ ;

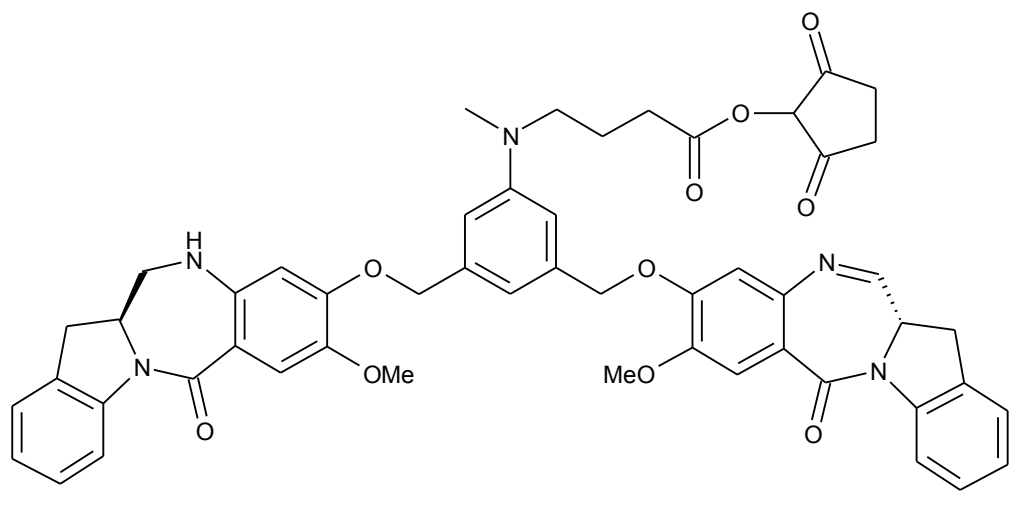
15 L відсутня, являє собою зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою, мономер поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-$ , лінійний, розгалужений або циклічний алкіл або алкеніл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, фенільну групу, 3-18-членне гетероциклічне кільце або 5-18-членне гетероарильне кільце, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P, де алкіл або алкеніл необов'язково заміщені зв'язуючою групою з

20 приєднаною до неї реакційноздатною групою, феніл або гетероциклічне або гетероарильне кільце можуть бути необов'язково заміщені, причому замітник може являти собою зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою;

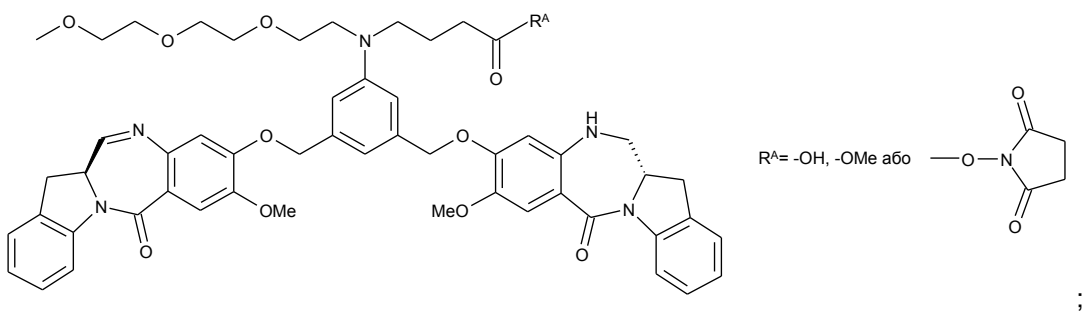
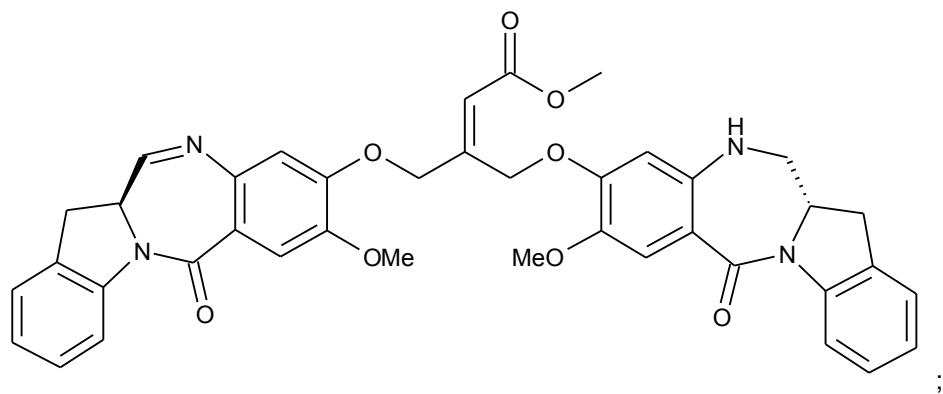
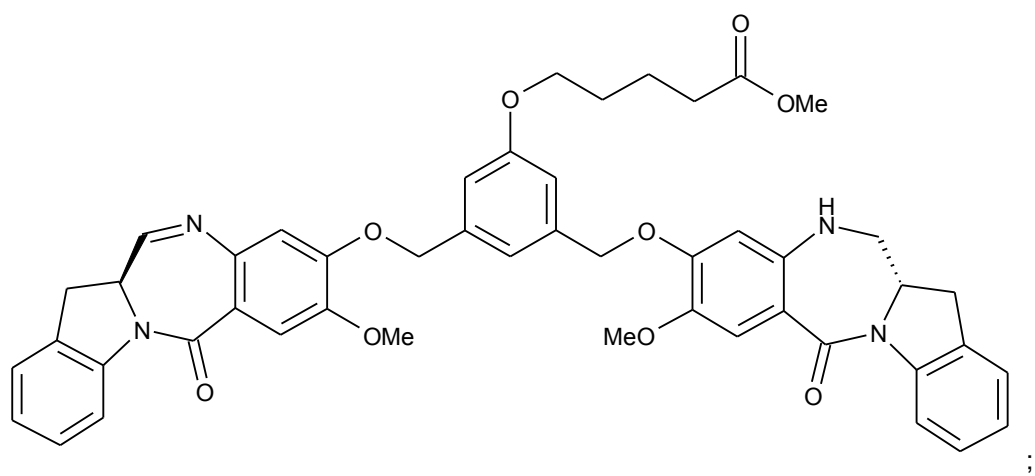
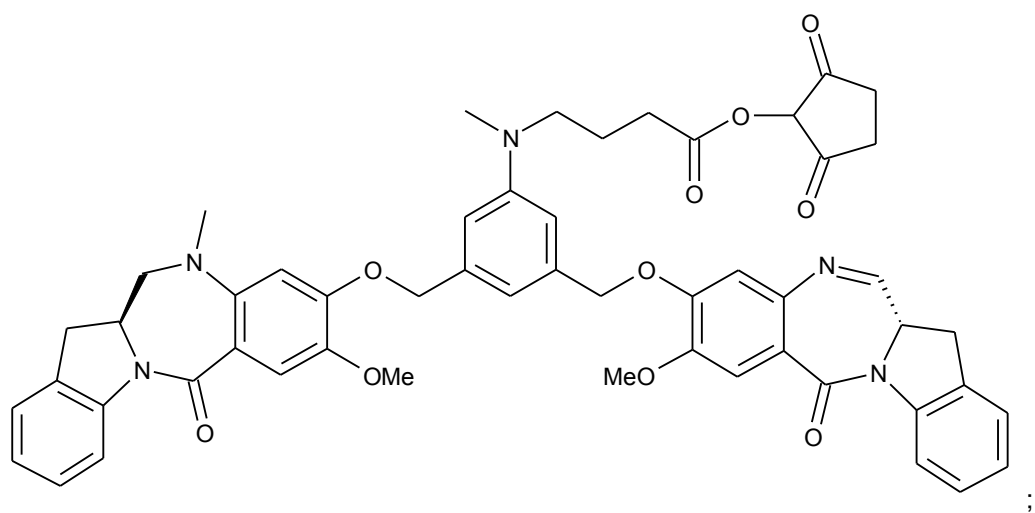
за умови, що сполука не є будь-якою з наступних сполук:

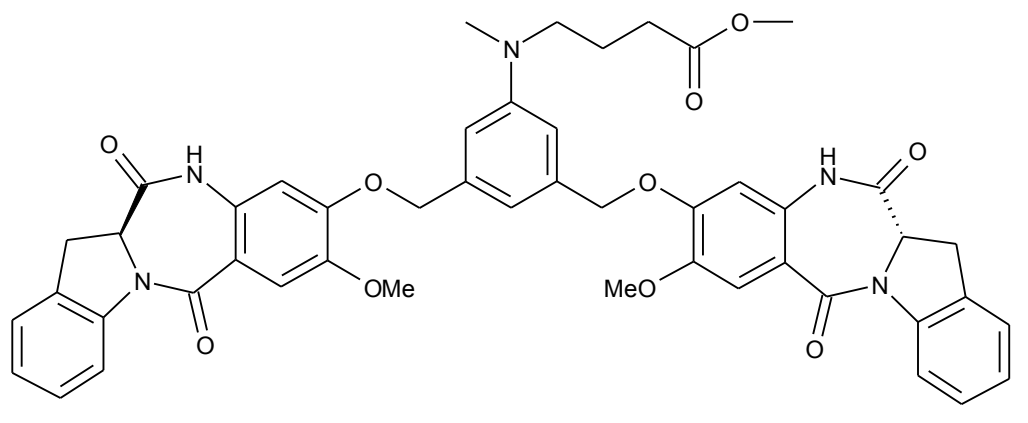
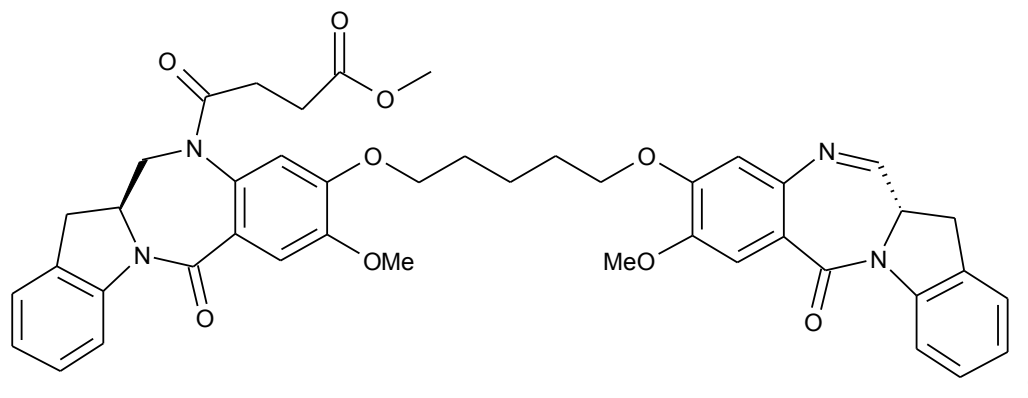
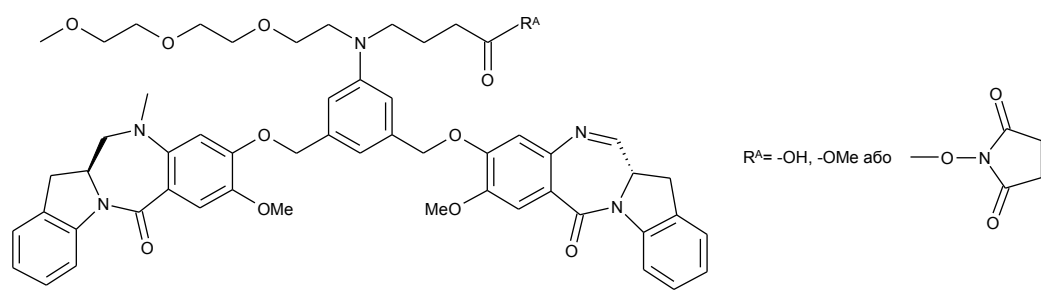


25 ;

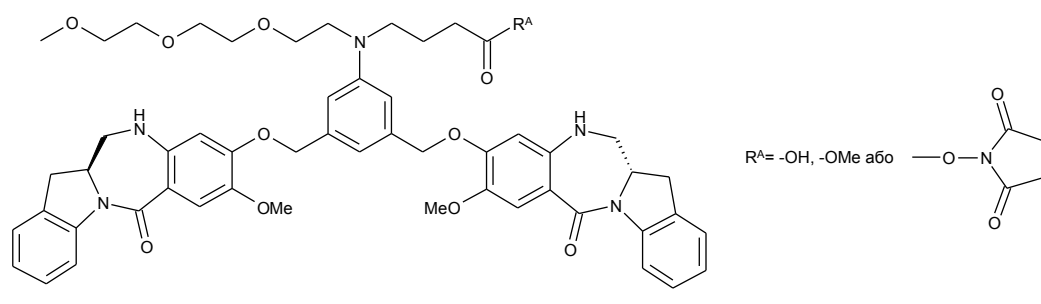


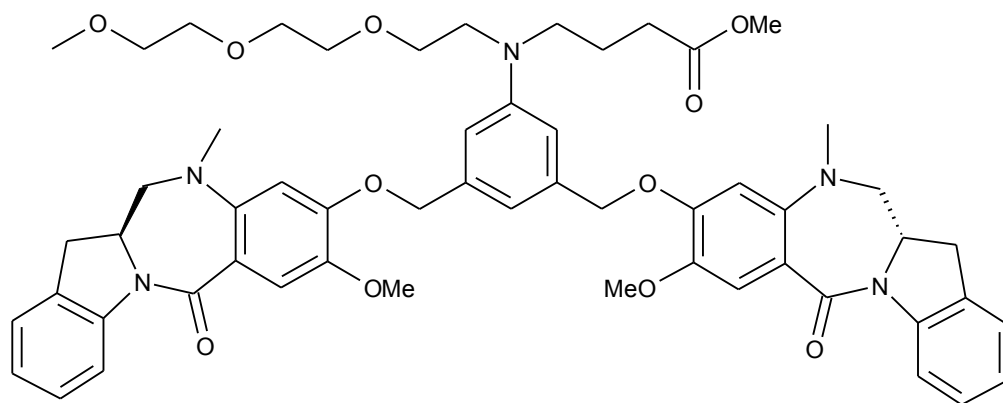
;





5

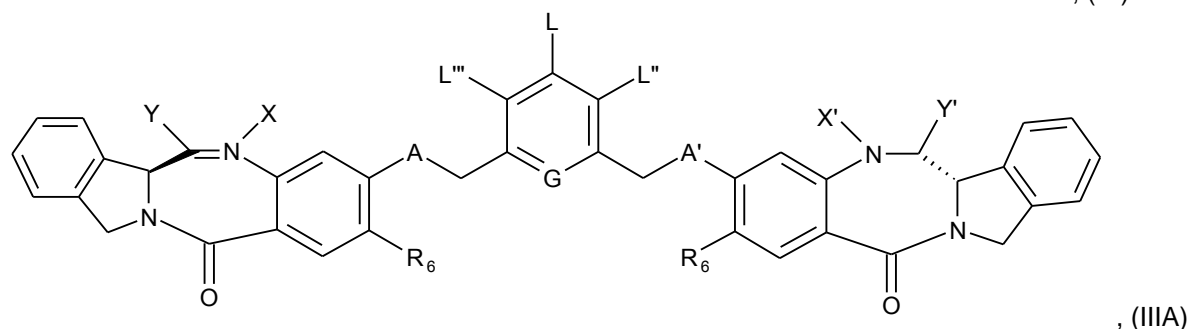
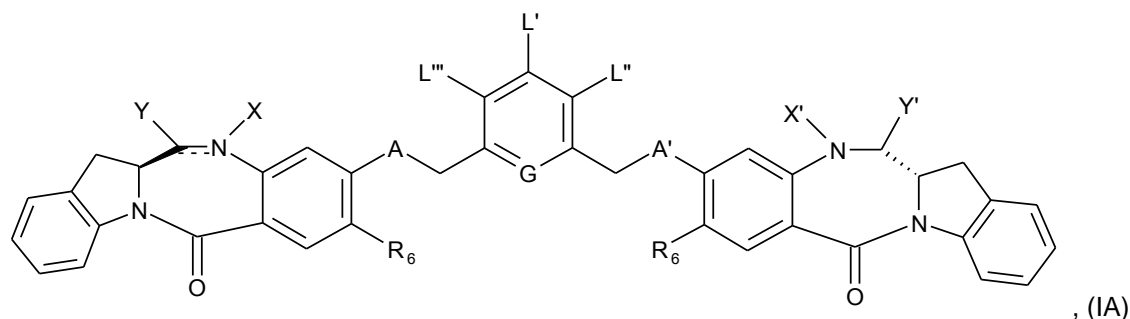


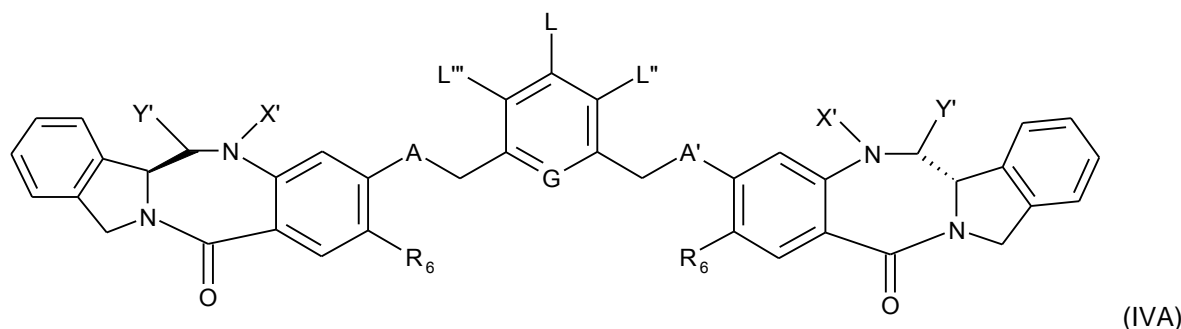


2. Сполука за п. 1, яка **відрізняється** тим, що Y являє собою відхідну групу, вибрану з -OR, -OCOR', -OCOOR', -OCONR'R'', -NR'R'', -NR'COR'', -NR'NR'R'', необов'язково заміщений 5- або 6-членний азотовмісний гетероцикл (наприклад, піперидин, тетрагідропірол, піразол, морфолін тощо), гуанідиній, представлений -NR'(C=NH)NR'R'', амінокислоту або пептид, представлений -NRCOP', причому P' являє собою амінокислоту або поліпептид, який містить від 2 до 20 амінокислотних залишків, -SR, -SOR', -SO<sub>2</sub>M, -SO<sub>3</sub>M, -OSO<sub>3</sub>M, галоген, ціаногрупу та азидну групу.

3. Сполука за п. 1 або 2, яка **відрізняється** тим, що L відсутня або вибрана з необов'язково заміщеної фенільної групи і необов'язково заміщеної піридинільної групи, де фенільна та піридинільна група несе зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою, або L являє собою аміногрупу, яка несе зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою (тобто -N(зв'язуюча група)-), або L являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл або алкеніл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю й який несе зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою.

4. Сполука за п. 1 або 2, яка **відрізняється** тим, що зазначена сполука представлена будь-якою з наступних формул:



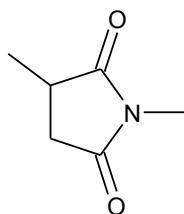


або її фармацевтично прийнятною сіллю, де:

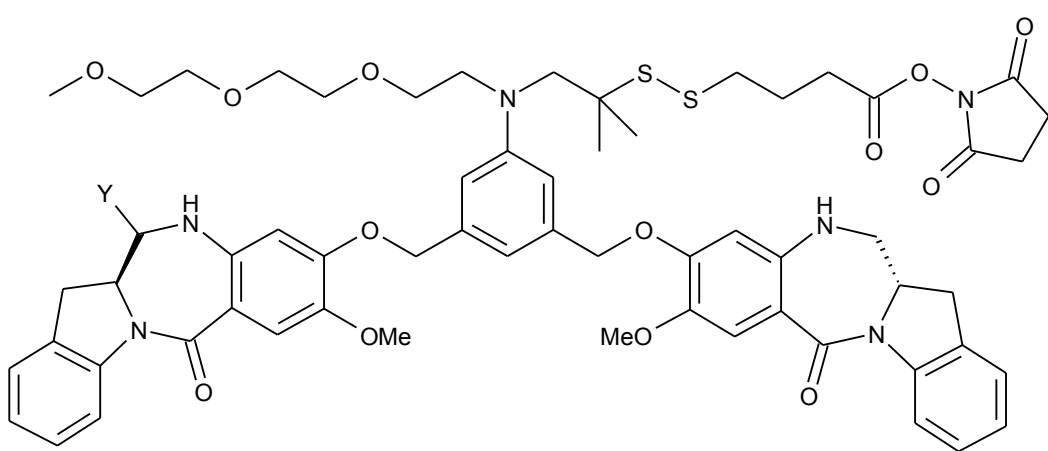
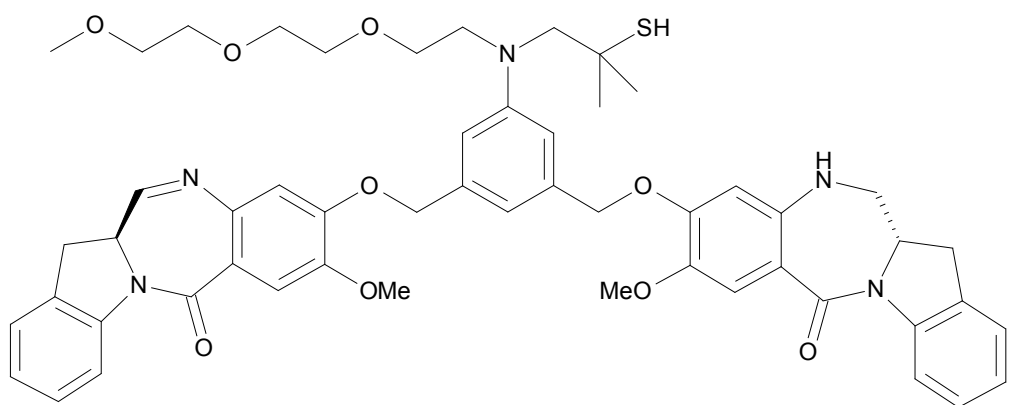
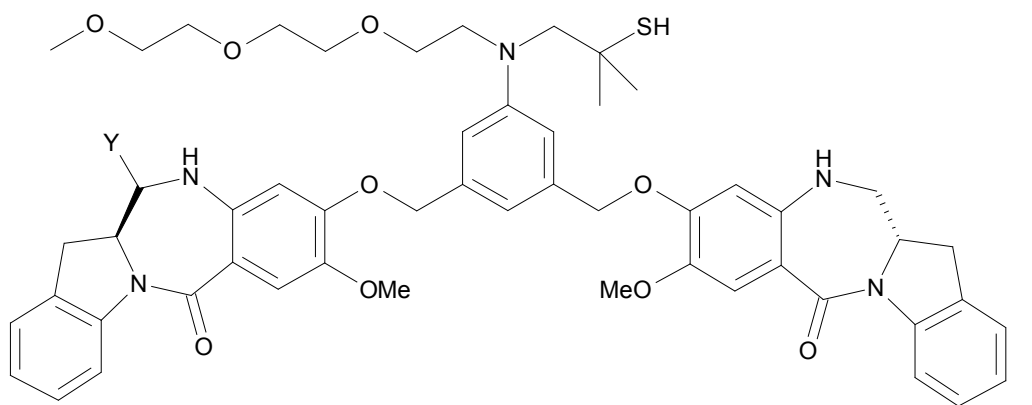
- 5 L', L'' і L''' є однаковими або різними і, незалежно, вибрані з -H, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-R^c$ , галогену, гуанідинію  $[-NH(C=NH)NH_2]$ , -OR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, -NR'COR'', -SR, сульфоксиду, представленого -SOR', сульфону, представленого -SO<sub>2</sub>R', сульфонату -SO<sub>3</sub>M, сульфату -OSO<sub>3</sub>M, сульфонаміду, представленого -SO<sub>2</sub>NR'R'', ціаногрупи, азидної групи, -COR', -OCOR', -OCONR'R'' і зв'язуючої
- 10 групи з приєднаною до неї реакційноздатною групою, за умови, що тільки одна з L', L'' і L''' являє собою зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою; і G вибраний з -CH- або -N-.
5. Сполука за п. 4, яка **відрізняється** тим, що одна з L', L' або L''' являє собою зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою, у той час як інші являють собою -H.
- 15 6. Сполука за п. 5, яка **відрізняється** тим, що L' являє собою зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою, а L'' і L''' являють собою -H.
7. Сполука за п. 5 або 6, яка **відрізняється** тим, що як A, так і A' обидва являють собою -O-, R<sub>6</sub> являє собою -OMe, а G являє собою -CH-.
8. Сполука за пп. 5, 6 або 7, яка **відрізняється** тим, що L' представлена наступною формулою:
- 20  $-W'-R^x-V-R^y-J$ ,  
де:  
W' і V є однаковими або різними і кожна з них незалежно відсутня або вибрана з -CR<sup>e</sup>R<sup>e</sup>-, -O-, -O-C(=O)-, -C(=O)-O-, -S-, -SO-, -SO<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-S-, -CH<sub>2</sub>O-, -CH<sub>2</sub>NR<sup>e</sup>-, -O-(C=O)O-, -O-(C=O)N(R<sup>e</sup>)-, -N(R<sup>e</sup>)-, -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)-, -C(=O)-N(R<sup>e</sup>)-, -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)O-, -N(C(=O)R<sup>e</sup>)C(=O)-, -N(C(=O)R<sup>e</sup>)-, -(O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, -SS- або -C(=O)-, або амінокислоти, або пептиду, який містить від 2 до 8 амінокислот;
- 25 R<sup>x</sup> і R<sup>y</sup> є однаковими або різними і кожна з них незалежно відсутня або являє собою необов'язково заміщений лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, арил, який містить від 6 до 10 атомів вуглецю, або 3-8-членне гетероциклічне кільце, яке несе від 1 до 3 гетероатомів, вибраних із O, N або S;
- 30 R<sup>e</sup> і R<sup>e</sup> є однаковими або різними і вибрані з -H, лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, або  $-(CH_2-CH_2-O)_n-R^k$ , де R<sup>k</sup> являє собою -H, лінійний, розгалужений, циклічний алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю, який, необов'язково, несе вторинну аміногрупу (наприклад, -NHR<sup>101</sup>) або третинну аміногрупу (-NR<sup>101</sup>R<sup>102</sup>), або 5- або 6-членний азотовмісний гетероцикл, наприклад піперидин або морфолін,
- 35 де кожний з R<sup>101</sup> і R<sup>102</sup> незалежно являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю; переважно кожний R<sup>101</sup> і R<sup>102</sup> незалежно являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю; n являє собою ціле число від 1 до 24; J включає реакційноздатну групу, зв'язану з нею, і вибрана з maleimide, haloacetamide, -SH, -SSR<sup>d</sup>, -CH<sub>2</sub>SH, -CH(Me)SH, -C(Me)<sub>2</sub>SH, -NHR<sup>c1</sup>, -CH<sub>2</sub>NHR<sup>c1</sup>, -NR<sup>c1</sup>NH<sub>2</sub>, -COOH і -COE, де -COE являє собою реакційноздатний складний ефір, вибраний з N-гідроксисукцинімідного ефіру, N-гідроксисульфосукцинімідного ефіру, нітрофенілового (наприклад, 2- або 4-нітрофенілового) ефіру, динітрофенілового (наприклад, 2,4-динітрофенілового) ефіру, сульфотетрафторфенілового (наприклад, 4-сульфо-2,3,5,6-тетрафторфенілового) ефіру і пентафторфенілового ефіру, не обмежуючись ними, а R<sup>c1</sup> являє
- 45 собою -H або заміщений або незаміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю; а  
R<sup>d</sup> вибраний з фенілу, нітрофенілу (наприклад, 2- або 4-нітрофенілу), динітрофенілу (наприклад, 2- або 4-нітрофенілу), карбоксинітрофенілу (наприклад, 3-карбокси-4-нітрофенілу), піридилу або нітропіридилу (наприклад, 4-нітропіридилу).
- 50 9. Сполука за п. 8, яка **відрізняється** тим, що J являє собою -SH, -SSR<sup>d</sup>, maleimide або N-гідроксисукцинімідний ефір.



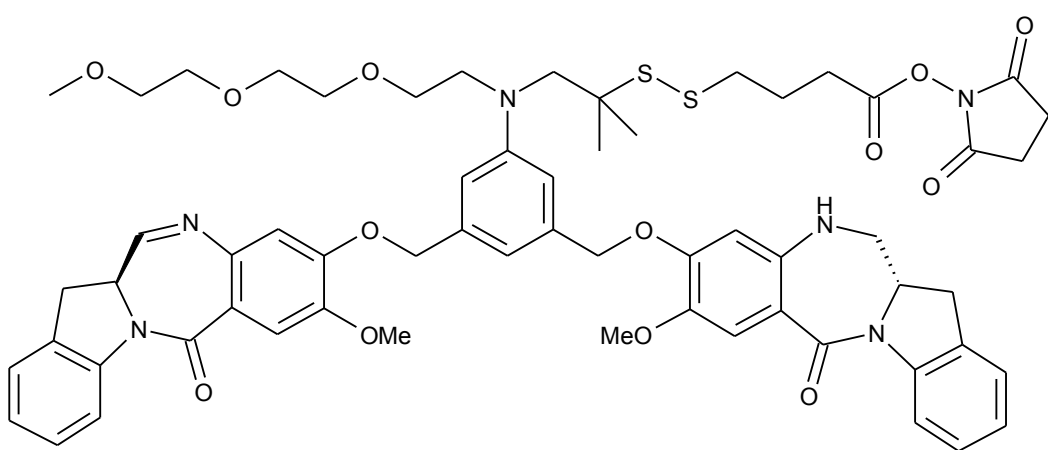
10. Сполука за п. 8 або 9, яка **відрізняється** тим, що:  
 $R^e$  являє собою -H або -Me;  
 $R^e$  являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю, або -  
 $(CH_2-CH_2-O)_n-R^k$ ;
- 5  $n$  являє собою ціле число від 2 до 8; а  
 $R^k$  являє собою -H, -Me або  $-CH_2CH_2-NMe_2$ .
11. Сполука за будь-яким із пп. 8-10, яка **відрізняється** тим, що V являє собою амінокислоту або пептид, який містить від 2 до 8 амінокислот.
- 10 12. Сполука за п. 11, яка **відрізняється** тим, що V являє собою валін-цитрулін, gly-gly-gly або ala-leu-ala-leu.
13. Сполука за п. 8, яка **відрізняється** тим, що:  $W'$  являє собою -O-,  $-N(R^e)$ - або  $-N(R^e)-C(=O)-$ ;  
 $R^e$  являє собою -H, лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, або  $-(CH_2-CH_2-O)_n-R^k$ ;  
 $R^k$  являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю;
- 15 V відсутній або являє собою  $-(O-CH_2-CH_2)_n-$ ,  $-C(=O)-NH-$ ,  $-S-$ ,  $-NH-C(=O)-$ ;  
 $R^y$  відсутній або являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю; а  
J являє собою -SH,  $-SSR^d$  або -COE.
14. Сполука за п. 8, яка **відрізняється** тим, що:
- 20  $W'$  являє собою -O-,  $-N(R^e)$  або  $-N(R^e)-C(=O)-$ ;  
 $R^e$  являє собою -H, -Me або  $-(CH_2-CH_2-O)_n-Me$ ;  
 $n$  являє собою ціле число від 2 до 6;  
 $R^x$  являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який несе від 1 до 6 атомів вуглецю;  
V і  $R^y$  відсутні; а
- 25 J являє собою -COE.
15. Сполука за п. 13 або 14, яка **відрізняється** тим, що -COE являє собою N-гідроксисукцинімідний ефір.
16. Сполука за п. 8, яка **відрізняється** тим, що  $L'$  представлена наступною формулою:  
 $-W'-[CR_1''R_2'']_a-V-[Cy]_{0-1}-[CR_3''R_4'']_b-COE$ ,
- 30 де:  
кожний з  $R_1''$ ,  $R_2''$  і  $R_3''$  незалежно являє собою -H або -Me;  
 $R_4''$  являє собою -H, -Me,  $-SO_3H$  або  $-SO_3^+M^+$ , де  $M^+$  являє собою фармацевтично прийнятний катіон;  
a являє собою ціле число від 0 до 2, b являє собою ціле число від 0 до 3; а Cy являє собою
- 35 необов'язково заміщене 5-членне гетероциклічне кільце, яке несе гетероатом N, переважно Cy являє собою

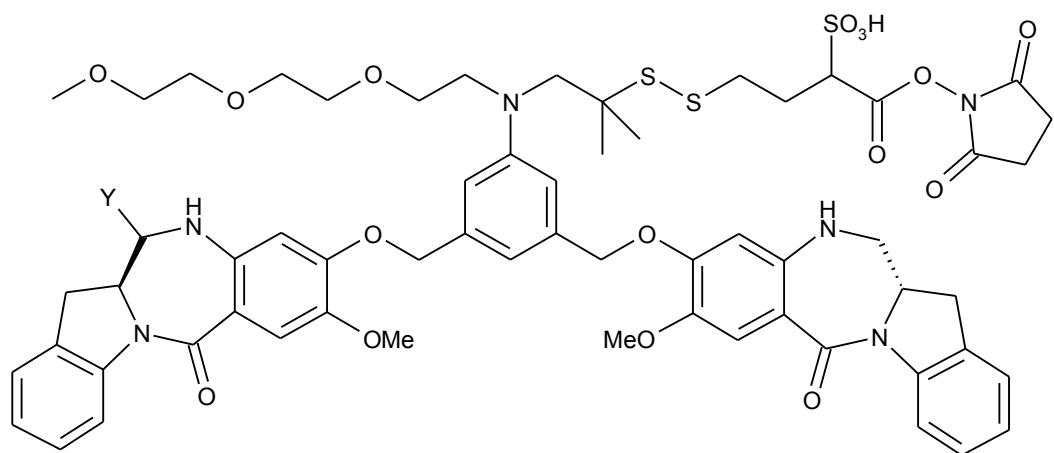


- 40 17. Сполука за п. 8 або 16, яка **відрізняється** тим, що  $W'$  являє собою  $-N(R^e)-$ .
18. Сполука за пп. 8, 16 або 17, яка **відрізняється** тим, що  $R^e$  являє собою  $-(CH_2-CH_2-O)_{2-6}-R^k$ , де  $R^k$  являє собою -H, лінійний, розгалужений, циклічний алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю.
19. Сполука за пп. 8, 16, 17 або 18, яка **відрізняється** тим, що V являє собою -S- або -SS-.
- 45 20. Сполука за пп. 8, 16, 17, 18 або 19, яка **відрізняється** тим, що  $L'$  представлена наступною формулою:  
 $-NR^e-[CR_1''R_2'']_a-S-[CR_3''R_4'']_b-COE$ .
21. Сполука за пп. 8, 16, 17, 18 або 19, яка **відрізняється** тим, що являє собою:

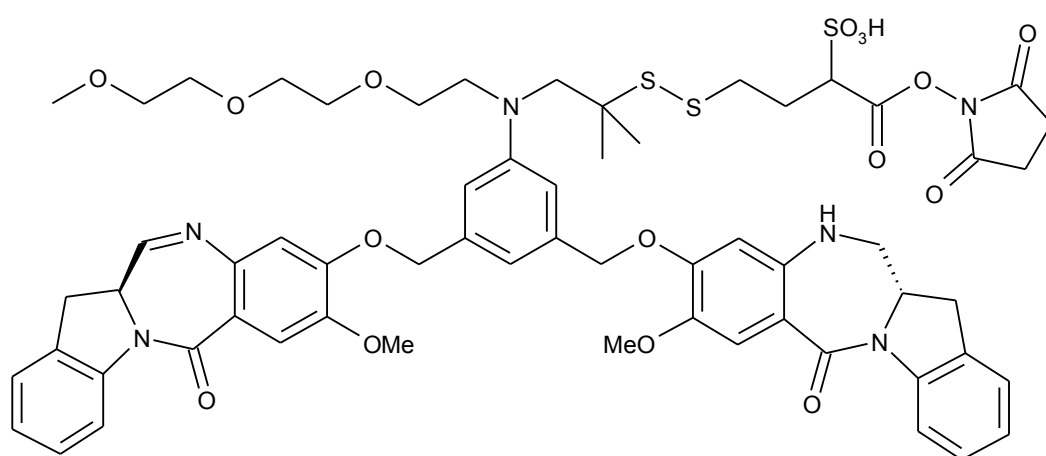


5





або



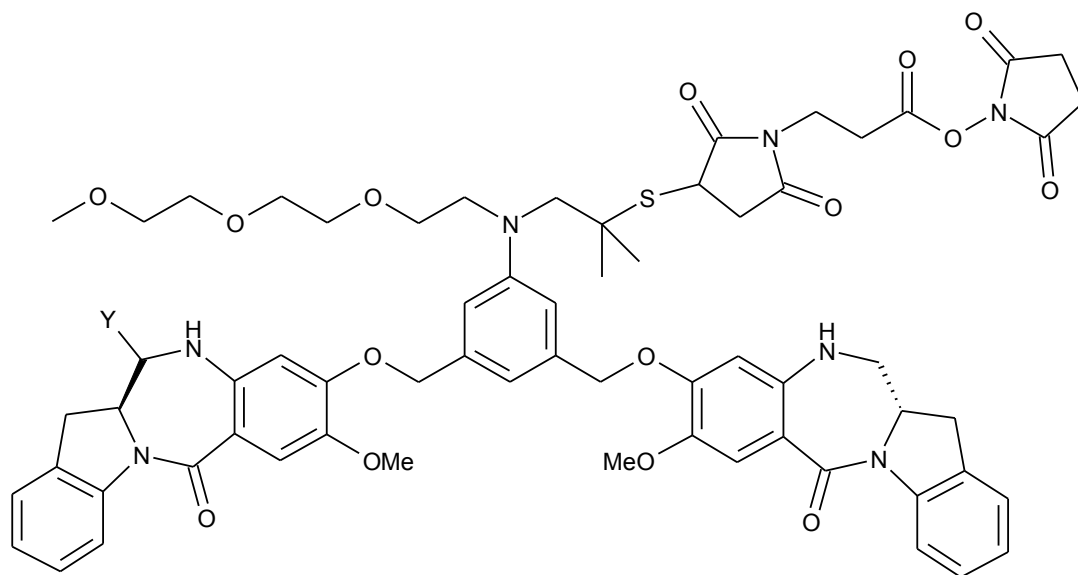
5

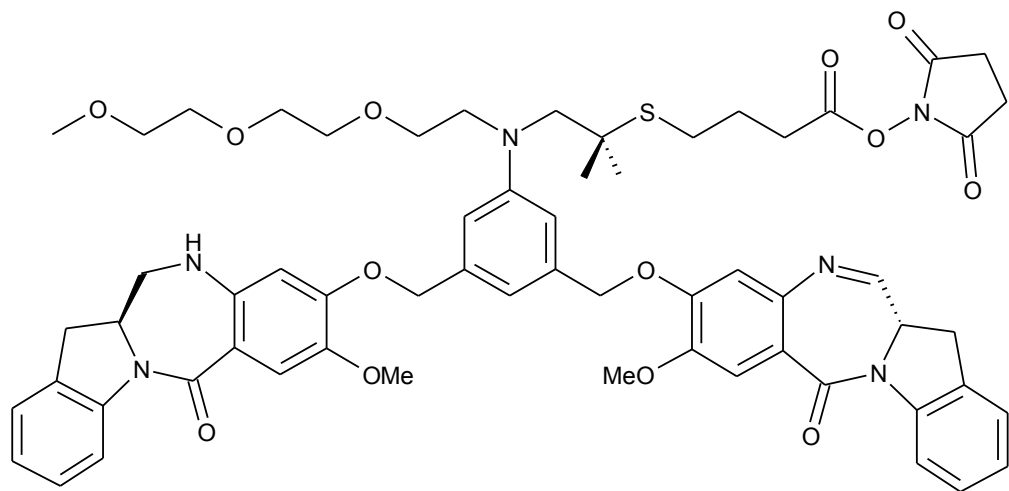
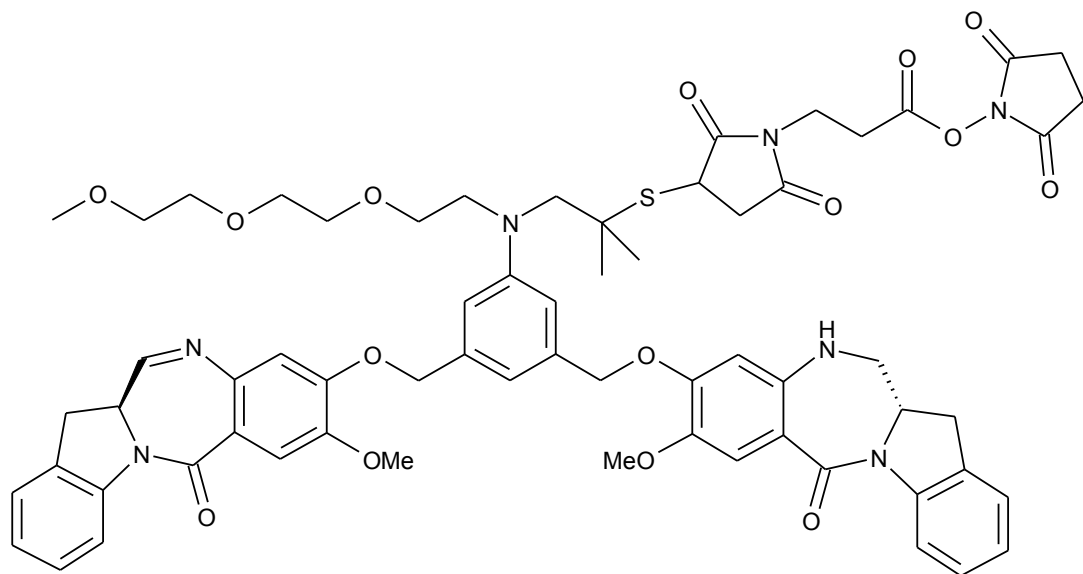
або її фармацевтично прийнятна сіль, де Y являє собою -H або  $-SO_3M$  (наприклад, Y являє собою  $-SO_3M$ ), а M являє собою -H або фармацевтично прийнятний катіон.

22. Сполука за пп. 8, 16, 17, 18 або 19, яка **відрізняється** тим, що L' представлена наступною формулою:

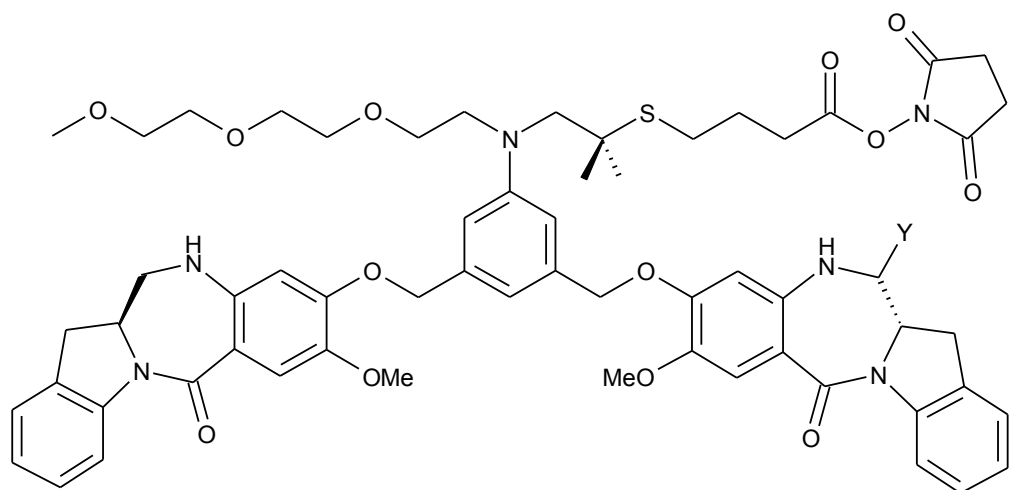
10  $-NR^e-[CR_1''R_2'']_a-S-Cy-[CR_3''R_4'']_b-COE$ .

23. Сполука за пп. 8, 16, 17, 18, 19 або 22, яка **відрізняється** тим, що являє собою:



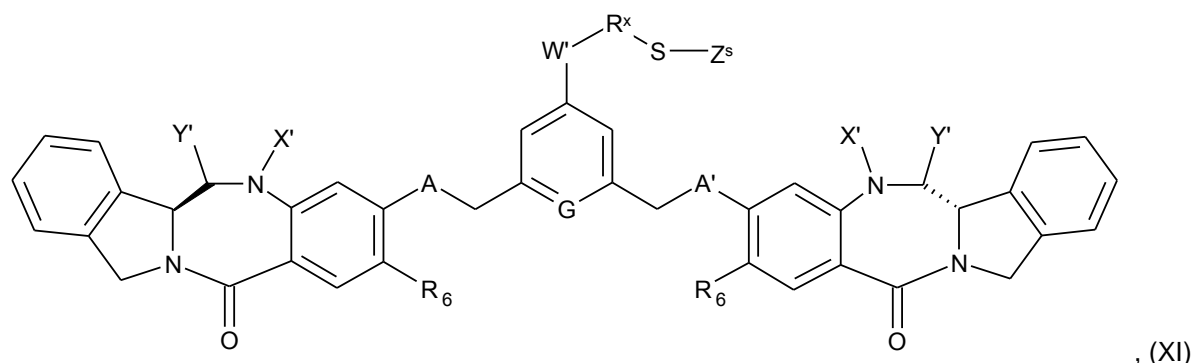
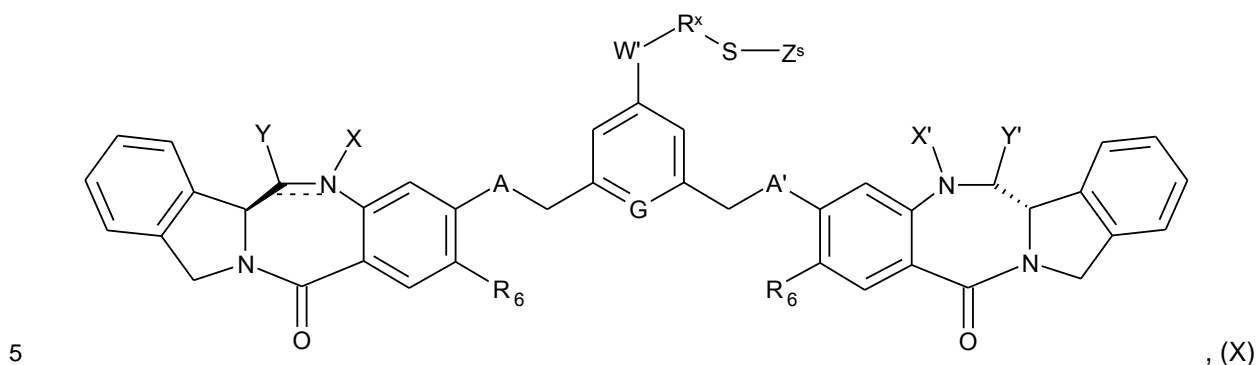
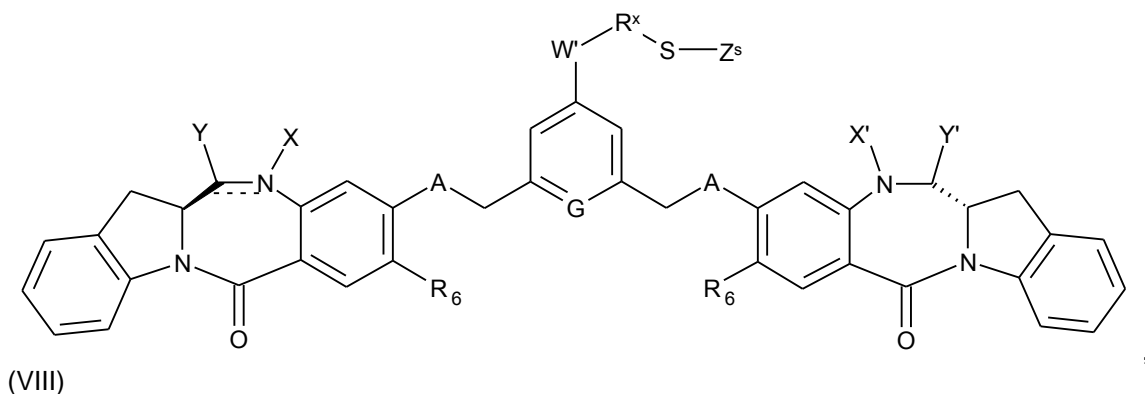


5



або її фармацевтично прийнятна сіль, де Y являє собою -H або -SO<sub>3</sub>M (наприклад, Y являє собою -SO<sub>3</sub>M), а M являє собою -H або фармацевтично прийнятний катіон.

10 24. Сполука за пп. 1, 2, 4 або 8, яка **відрізняється** тим, що зазначена сполука представлена будь-якою з наступних формул:



або її фармацевтично прийнятною сіллю, де:

- 10 подвійна лінія  $\text{---}$  між N і C являє собою одинарний зв'язок або подвійний зв'язок, за умови, що, коли вона являє собою подвійний зв'язок, X відсутня, а Y являє собою -H, а коли вона являє собою одинарний зв'язок, X вибраний з -H, зв'язуючої групи з приєднаною до неї реакційноздатною групою або аміноблокуючою групою (переважно X являє собою -H); Y вибраний з -H, -OR, -OCOR', -SR, -NR'R'', -SO<sub>3</sub>M, -SO<sub>2</sub>M або -OSO<sub>3</sub>M, де M являє собою -H або катіон, наприклад Na<sup>+</sup> або K<sup>+</sup>;
- 15 R являє собою -H, необов'язково заміщений лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, або ПЕГ-групу -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup>, де n являє собою ціле число від 1 до 24, а R<sup>c</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю;
- 20 R' і R'' є однаковими або різними і вибрані з -H, -OH, -OR, -NRR<sup>g</sup>, -COR, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного арилу, який містить від 6 до 18 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, вибраних із O, S, N і P, ПЕГ-групи -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup>, де n являє собою ціле число від 1 до 24, переважно n дорівнює 2, 4 або 8; а R<sup>g</sup> являє собою -H, необов'язково заміщений лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, або ПЕГ-групу -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup>;
- 25

X' вибраний з групи, яка складається з -H, -OH, заміщеного або незаміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, фенілу й аміноблокуючої групи;

Y' вибраний з групи, яка складається з -H, оксогрупи, заміщеного або незаміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

A і A' вибрані з -O- і -S-;

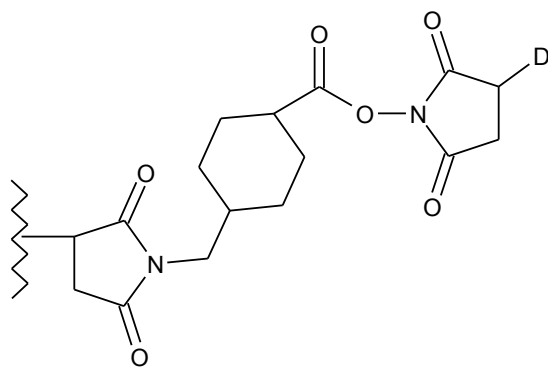
W' відсутній або вибраний з -O-, -N(R<sup>e</sup>)-, -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)-, -N(C(=O)R<sup>e</sup>)-, -S- або -CH<sub>2</sub>-S-, -CH<sub>2</sub>NR<sup>e</sup>-;

R<sup>x</sup> відсутній або вибраний з лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

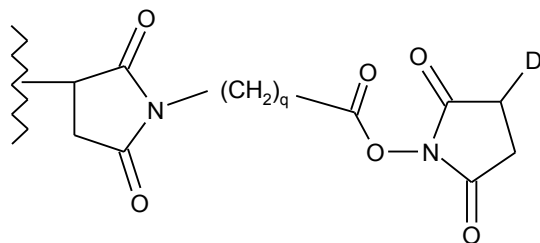
R<sup>e</sup> являє собою -H, лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, або -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-R<sup>k</sup>, де R<sup>k</sup> являє собою -H, лінійний, розгалужений, циклічний алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю, який необов'язково несе вторинну аміногрупу (наприклад, -NHR<sup>101</sup>) або третинну аміногрупу (-NR<sup>101</sup>R<sup>102</sup>), або 5- або 6-членний азотовмісний гетероцикл, наприклад піперидин або морфолін, де кожний з R<sup>101</sup> і R<sup>102</sup> незалежно являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;

G вибраний з -CH- або -N-;

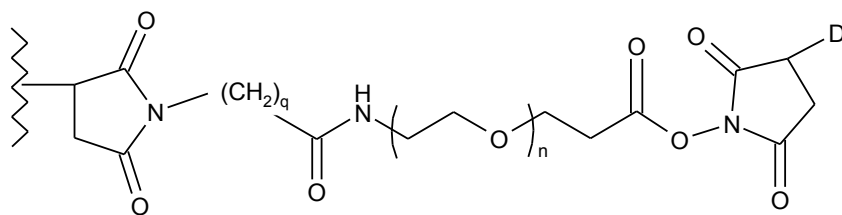
Z<sup>s</sup> являє собою -H або вибраний з будь-якої з наступних формул:



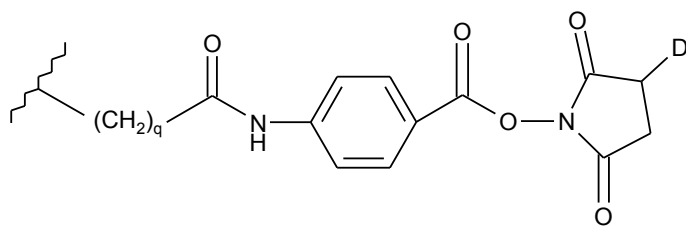
, (a1)



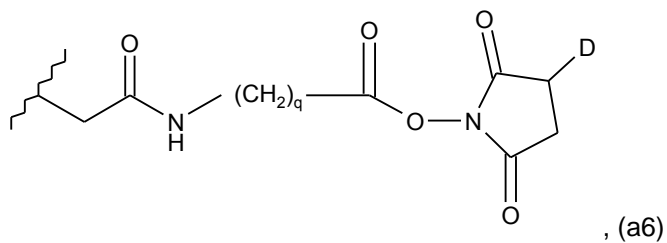
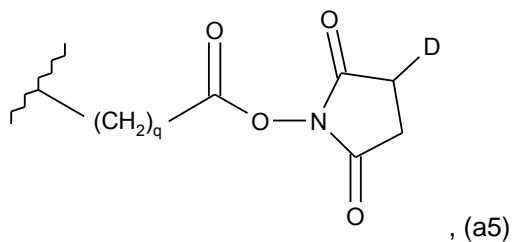
, (a2)



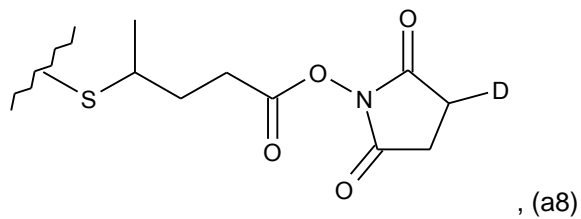
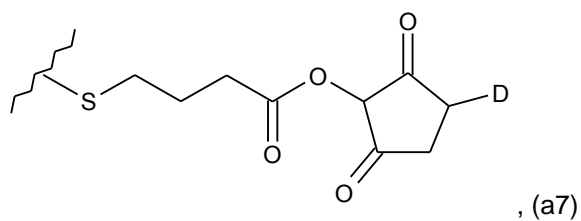
, (a3)



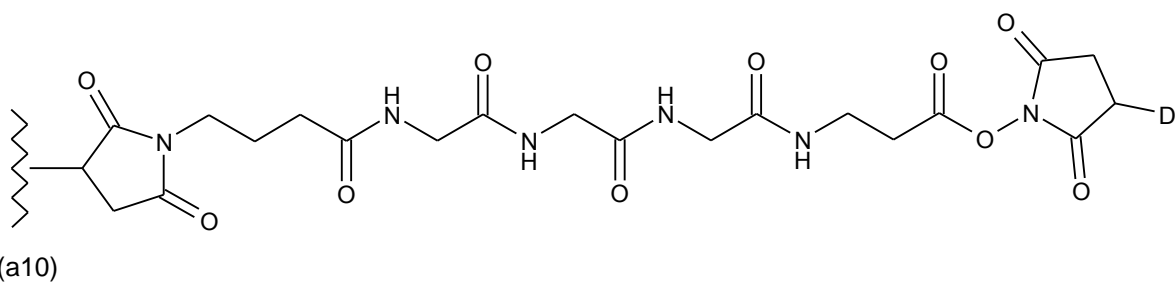
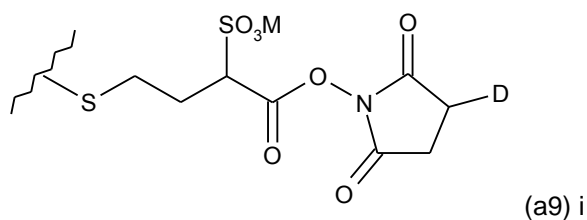
, (a4)



5



10



де:

15

q являє собою ціле число від 1 до 5;

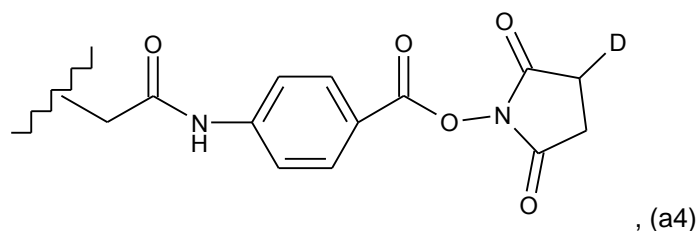
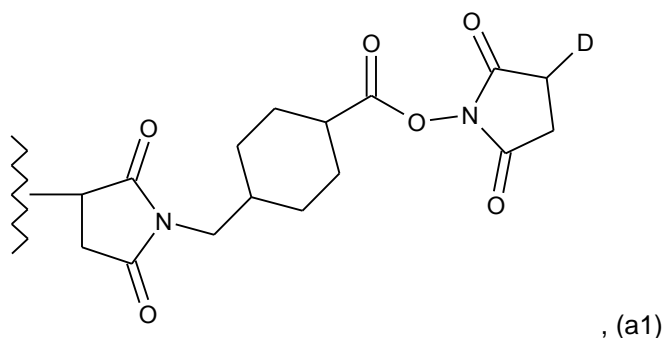
p являє собою ціле число від 2 до 6;

D являє собою -H або -SO<sub>3</sub>M;

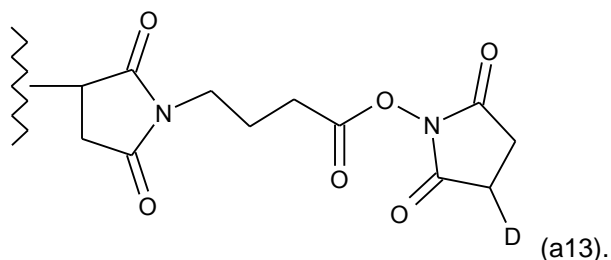
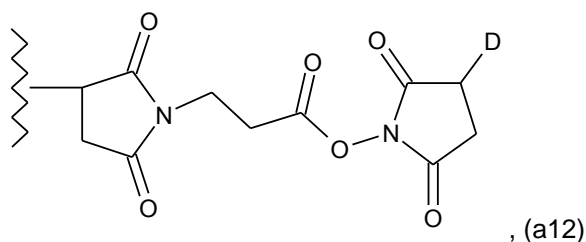
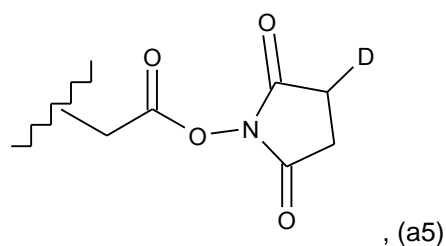
M являє собою -H або катіон, наприклад Na<sup>+</sup> або K<sup>+</sup>.

20

25. Сполука за п. 24, яка **відрізняється** тим, що Z<sup>s</sup> представлена будь-якою з наступних формул:



5



10

26. Сполука за п. 24 або 25, яка **відрізняється** тим, що W' являє собою -N(R<sup>e</sup>)-.

27. Сполука за п. 26, яка **відрізняється** тим, що R<sup>e</sup> являє собою -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-R<sup>k</sup>, де R<sup>k</sup> являє собою -H, лінійний, розгалужений, циклічний алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю.

15

28. Сполука за п. 27, яка **відрізняється** тим, що R<sup>k</sup> являє собою -H або -Me, n дорівнює 4, а q дорівнює 2.

29. Сполука за п. 28, яка **відрізняється** тим, що R<sup>x</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю.

20

30. Сполука за п. 28, яка **відрізняється** тим, що R<sup>x</sup> являє собою -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-(CR<sup>f</sup>R<sup>g</sup>)-, де кожний з R<sup>f</sup> і R<sup>g</sup>, незалежно вибраний з -H або лінійного або розгалуженого алкілу, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю; а p дорівнює 0, 1, 2 або 3.

31. Сполука за п. 30, яка **відрізняється** тим, що R<sup>f</sup> і R<sup>g</sup> є однаковими або різними і вибрані з -H і -Me; а p дорівнює 1.

32. Сполука за будь-яким із пп. 24-31, яка **відрізняється** тим, що:



подвійна лінія  $\text{---}$  між N і C являє собою одинарний зв'язок або подвійний зв'язок, за умови, що, коли вона являє собою подвійний зв'язок, X відсутня, а Y являє собою -H, а коли вона являє собою одинарний зв'язок, X являє собою -H; Y являє собою -OH або  $\text{-SO}_3\text{M}$ ;

5 X' і Y' обидва являють собою -H;

A і A' обидва являють собою -O-;

$\text{R}_6$  являє собою -OMe; а

$\text{R}^x$  являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю.

10 33. Сполука за будь-яким із пп. 1-32, яка **відрізняється** тим, що подвійна лінія  $\text{---}$  між N і C являє собою подвійний зв'язок.

34. Сполука за будь-яким із пп. 1-31, яка **відрізняється** тим, що подвійна лінія  $\text{---}$  між N і C являє собою одинарний зв'язок, X являє собою -H, зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою, або аміноблокуючу групу; а Y вибраний з -H, -OR, -OCOR', -SR, -NR'R'', необов'язково заміщеного 5- або 6-членного азотовмісного гетероциклу,  $\text{-SO}_3\text{M}$ ,  $\text{-SO}_2\text{M}$  і сульфату  $\text{-OSO}_3\text{M}$ .

15 35. Сполука за п. 34, яка **відрізняється** тим, що Y вибраний з  $\text{-SO}_3\text{M}$ , -OH, -OMe, -OEt або -NHOH.

36. Сполука за п. 35, яка **відрізняється** тим, що Y являє собою  $\text{-SO}_3\text{M}$  або -OH.

37. Сполука за будь-яким із пп. 34-36, яка **відрізняється** тим, що M являє собою -H,  $\text{Na}^+$  або  $\text{K}^+$ .

20 38. Сполука за будь-яким із пп. 1-37, яка **відрізняється** тим, що W, якщо присутній, являє собою  $\text{C=O}$ .

39. Сполука за будь-яким із пп. 1-38, яка **відрізняється** тим, що Z і Z', якщо присутні, являють собою  $\text{-CH}_2\text{-}$ .

25 40. Сполука за будь-яким із пп. 1-39, яка **відрізняється** тим, що X' вибраний з групи, яка складається з -H, -OH, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, фенілу, зв'язуючої групи з приєднаною до неї реакційноздатною групою й аміноблокуючої групи.

41. Сполука за п. 40, яка **відрізняється** тим, що X' являє собою -H, -OH, -Me або зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою.

30 42. Сполука за п. 41, яка **відрізняється** тим, що X' являє собою -H.

43. Сполука за будь-яким із пп. 1-42, яка **відрізняється** тим, що Y' вибраний з групи, яка складається з -H, оксогрупи, заміщеного або незаміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю.

44. Сполука за п. 43, яка **відрізняється** тим, що Y' являє собою -H або оксо.

35 45. Сполука за п. 44, яка **відрізняється** тим, що Y' являє собою -H.

46. Сполука за будь-яким із пп. 1-45, яка **відрізняється** тим, що A і A' є однаковими або різними і вибрані з -O-, -S-,  $\text{-NR}_5\text{-}$  і оксогрупи  $\text{-(C=O)-}$ .

47. Сполука за п. 46, яка **відрізняється** тим, що A і A' є однаковими або різними і вибрані з -O- і -S-.

40 48. Сполука за п. 47, яка **відрізняється** тим, що A і A' являють собою -O-.

49. Сполука за будь-яким із пп. 1-48, яка **відрізняється** тим, що D і D', якщо присутні, є однаковими або різними і, незалежно, вибрані з мономера поліетиленгліколю  $\text{(-OCH}_2\text{CH}_2\text{)}_n$ , де n являє собою ціле число від 1 до 24, амінокислоти, пептиду, який несе від 2 до 6 амінокислот, або лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, де алкіл, алкеніл та алкініл, необов'язково, заміщені одним або більше замісниками, незалежно вибраними із групи, яка складається з галогену, -OR,  $\text{-NR'COR'}$ , -SR і -COR'.

50. Сполука за п. 49, яка **відрізняється** тим, що D і D' являють собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю.

50 51. Сполука за пп. 1, 2, 4 або 24, яка **відрізняється** тим, що:

подвійна лінія  $\text{---}$  між N і C являє собою подвійний зв'язок;

Y являє собою -H;

W являє собою  $\text{C=O}$ ;

$\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$ ,  $\text{R}_1'$ ,  $\text{R}_2'$ ,  $\text{R}_4$  і  $\text{R}_4'$  являють собою -H;

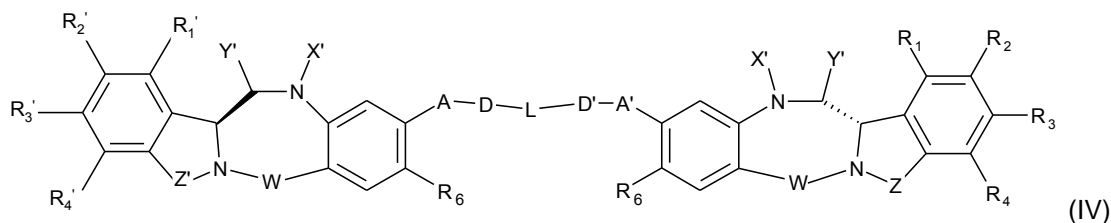
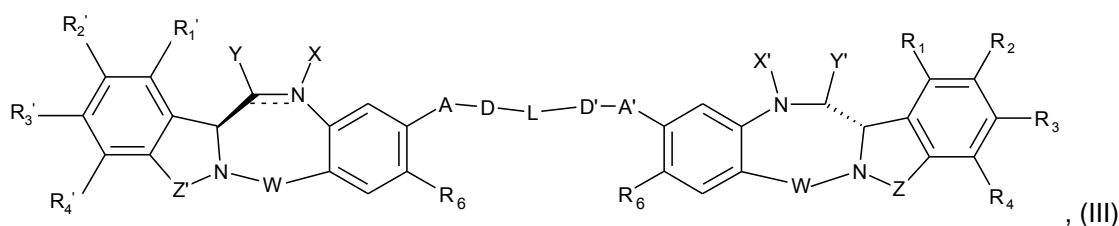
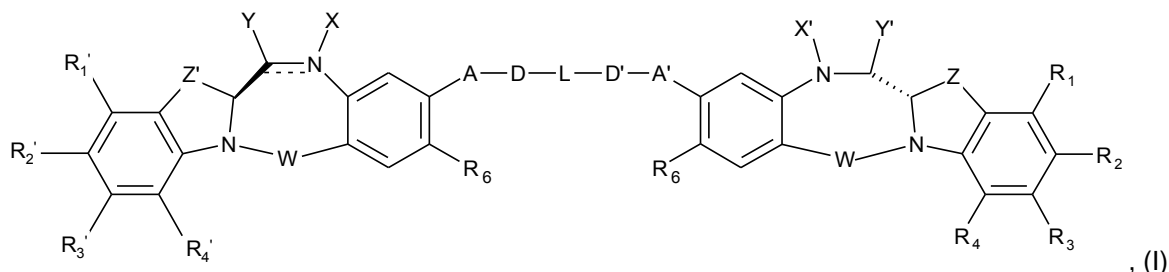
55 один із  $\text{R}_3$  або  $\text{R}_3'$ , необов'язково, являє собою зв'язуючу групу з приєднаною до неї реакційноздатною групою, а інший являє собою -H;

$\text{R}_6$  являє собою -OMe;

Z і Z' являють собою  $\text{-CH}_2\text{-}$ ;

X' являє собою -H;  
 Y' являє собою -H; а  
 А і А' являють собою -O-.

52. Кон'югат, який включає: цитотоксичну сполуку й агент, який зв'язується з клітинами (СВА), причому зазначена цитотоксична сполука включає зв'язуючу групу, яка ковалентно приєднує цитотоксичну сполуку до СВА, і зазначена цитотоксична сполука представлена будь-якою з наступних формул:



- 15 або її фармацевтично прийнятною сіллю, де:

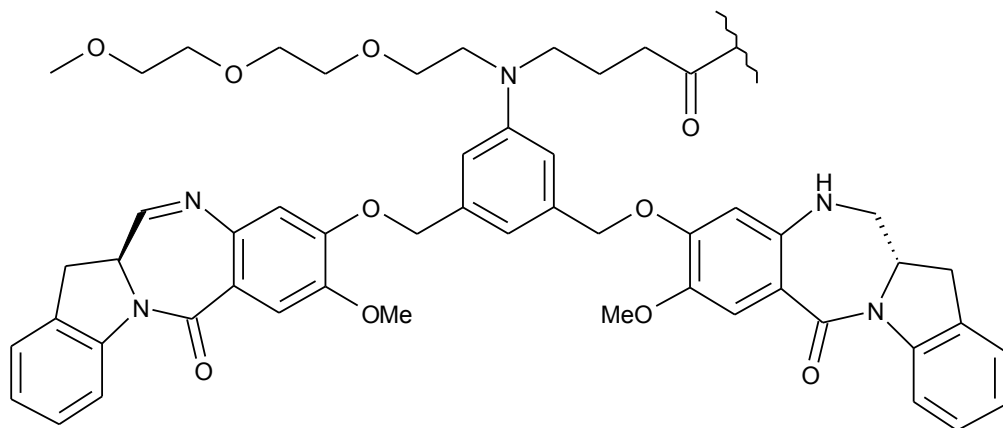
подвійна лінія  $\text{---}$  між N і C являє собою одинарний зв'язок або подвійний зв'язок, за умови, що, коли вона являє собою подвійний зв'язок, X відсутня, а Y являє собою -H або лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, а коли вона являє собою одинарний зв'язок, X являє собою -H, зв'язуючу групу або аміноблокуючу групу; Y являє собою -H або групу, яка відходить, вибрану з -OR, -OCOR', -OCOOR', -OCONR'R'', -NR'R'', -NR'COR'', -NR'NR'R'', необов'язково заміщений 5- або 6-членний азотовмісний гетероцикл (наприклад, піперидин, тетрагідропірол, піразол, морфолін), гуанідиній, представлений -NR'(C=NH)NR'R'', амінокислоту або пептид, представлений -NRCOP', причому P' являє собою амінокислоту або поліпептид, який містить від 2 до 20 амінокислотних залишків, -SR, -SOR', -SO<sub>2</sub>M, -SO<sub>3</sub>M, -OSO<sub>3</sub>M, галоген, ціаногрупу й азидну групу; або Y являє собою сульфат (HSO<sub>3</sub>, HSO<sub>2</sub> або сіль HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>3</sub><sup>2-</sup> або HSO<sub>2</sub><sup>-</sup>, утворену катіоном), метабісульфіт (H<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), моно-, ди-, три- і тетратіофосфат (PO<sub>3</sub>SH<sub>3</sub>, PO<sub>2</sub>S<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, POS<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, PS<sub>4</sub>H<sub>2</sub> або сіль PO<sub>3</sub>S<sup>3-</sup>, PO<sub>2</sub>S<sub>2</sub><sup>3-</sup>, POS<sub>3</sub><sup>3-</sup> або PS<sub>4</sub><sup>3-</sup>, утворену катіоном), складний ефір тіофосфату (R'<sup>i</sup>O)<sub>2</sub>PS(OR'<sup>i</sup>), R'<sup>i</sup>S-, R'<sup>i</sup>SO, R'<sup>i</sup>SO<sub>2</sub>, R'<sup>i</sup>SO<sub>3</sub>, тіосульфат (HS<sub>2</sub>O<sub>3</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), дитіоніт (HS<sub>2</sub>O<sub>4</sub> або сіль S<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup>, утворену катіоном), фосфордитіоат (P(=S)(OR'<sup>k</sup>)(S)(OH) або його сіль, утворену катіоном), гідроксамову кислоту (R'<sup>k</sup>C(=O)NOH або сіль, утворену катіоном), формальдегідсульфоксилат (HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup> або сіль HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup>, утворену катіоном, наприклад, HOCH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub><sup>-</sup>Na<sup>+</sup>) або їх суміш, де R'<sup>i</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю та заміщений щонайменше одним замісником, вибраним із -N(R'<sup>j</sup>)<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>H, -SO<sub>3</sub>H і -PO<sub>3</sub>H; R'<sup>i</sup> необов'язково може бути додатково заміщений замісником для алкілу, описаним тут; R'<sup>j</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю; R'<sup>k</sup> являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, арил, гетероциклічний або гетероарил;

40 M являє собою -H або катіон;

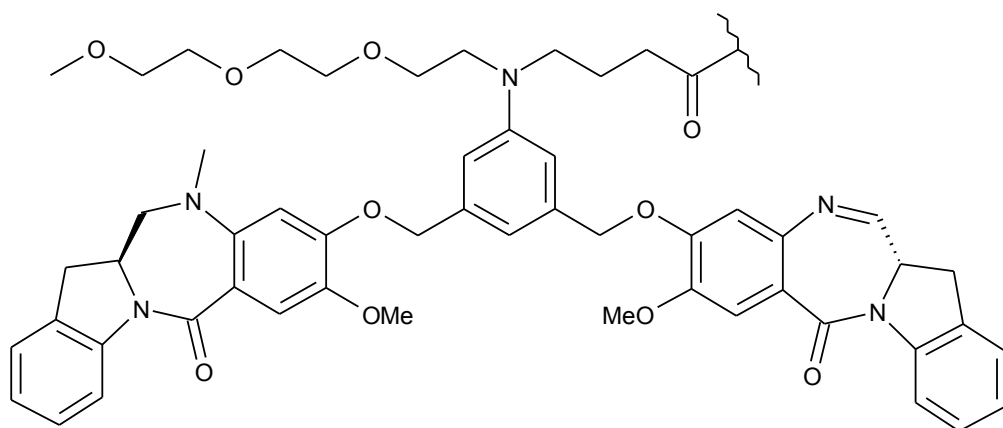
- R, у кожному випадку, незалежно вибраний з групи, яка складається з -H, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(CH_2CH_2O)_n-R^C$ , необов'язково заміщеного арилу, який містить від 6 до 18 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню та сірки, або необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P; кожний з R' і R'', незалежно вибраний з -H, -OH, -OR, -NHR, -NR<sub>2</sub>, -COR, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(CH_2CH_2O)_n-R^C$  і необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P;
- R<sup>C</sup> являє собою -H або заміщений або незаміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, або зв'язуючу групу;
- n являє собою ціле число від 1 до 24;
- W вибраний з C=O, C=S, CH<sub>2</sub>, BH, SO і SO<sub>2</sub>;
- X' вибраний з -H, аміноблокуючої групи, зв'язуючої групи, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(CH_2CH_2O)_n-R^C$ , необов'язково заміщеного арилу, який містить від 6 до 18 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню та сірки, і необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P;
- Y' вибраний з -H, оксогрупи, зв'язуючої групи, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, необов'язково заміщеного 6-18-членного арилу, необов'язково заміщеного 5-18-членного гетероарильного кільця, яке містить один або більше гетероатомів, незалежно вибраних із азоту, кисню та сірки, необов'язково заміщеного 3-18-членного гетероциклічного кільця, яке містить від 1 до 6 гетероатомів;
- кожний з R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>1'</sub>, R<sub>2'</sub>, R<sub>3'</sub> і R<sub>4'</sub>, незалежно вибраний з групи, яка складається з -H, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-R^C$ , галогену, гуанідинію [-NH(C=NH)NH<sub>2</sub>], -OR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, -NCO, -NR'COR'', -SR, сульфоксиду, представленого -SOR', сульфону, представленого -SO<sub>2</sub>R', сульфонату -SO<sub>3</sub>M<sup>+</sup>, сульфату -OSO<sub>3</sub><sup>-</sup> M<sup>+</sup>, сульфонаміді, представленого -SO<sub>2</sub>NR'R'', ціаногрупи, азидної групи, -COR', -OCOR', -OCONR'R'' і зв'язуючої групи;
- R<sub>6</sub> являє собою -H, -R, -OR, -SR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, галоген або зв'язуючу групу;
- Z і Z', незалежно вибрані з  $-(CH_2)_{n-}$ ,  $-(CH_2)_n-CR_7R_8-(CH_2)_{na-}$ ,  $-(CH_2)_n-NR_9-(CH_2)_{na-}$ ,  $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_{na-}$  і  $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_{na-}$ ;
- n' і na' є однаковими або різними і вибрані з 0, 1, 2 і 3;
- R<sub>7</sub> і R<sub>8</sub> є однаковими або різними і кожний з них незалежно вибраний з -H, -OH, -SH, -COOH, -NHR', мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-$ , амінокислоти, пептидної одиниці, яка несе від 2 до 6 амінокислот, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;
- R<sub>9</sub>, незалежно вибраний з -H, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-$ ;
- A і A' є однаковими або різними і, незалежно вибрані з -O-, оксо(-C(=O)-), -CRR'O-, -CRR'-, -S-, -CRR'S-, -N(R<sub>5</sub>)- і -CRR'N(R<sub>5</sub>)-;
- R<sub>5</sub>, у кожному випадку, незалежно являє собою -H або необов'язково заміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;
- D і D' є однаковими або різними і, незалежно відсутні або вибрані з групи, яка складається з необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, амінокислоти, пептиду, який несе від 2 до 6 амінокислот, і мономера поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-$ ;
- L відсутня, являє собою зв'язуючу групу, мономер поліетиленгліколю  $-(OCH_2CH_2)_n-$ , лінійний, розгалужений або циклічний алкіл або алкеніл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, фенільну групу, 3-18-членне гетероциклічне кільце або 5-18-членне гетероарильне кільце, яке містить від 1 до 6 гетероатомів, незалежно вибраних із O, S, N і P, де алкіл або алкеніл

необов'язково заміщені зв'язуючою групою; феніл або гетероциклічне або гетероарильне кільце можуть бути необов'язково заміщені, причому замісник може являти собою зв'язуючу групу; причому сполука не є

5

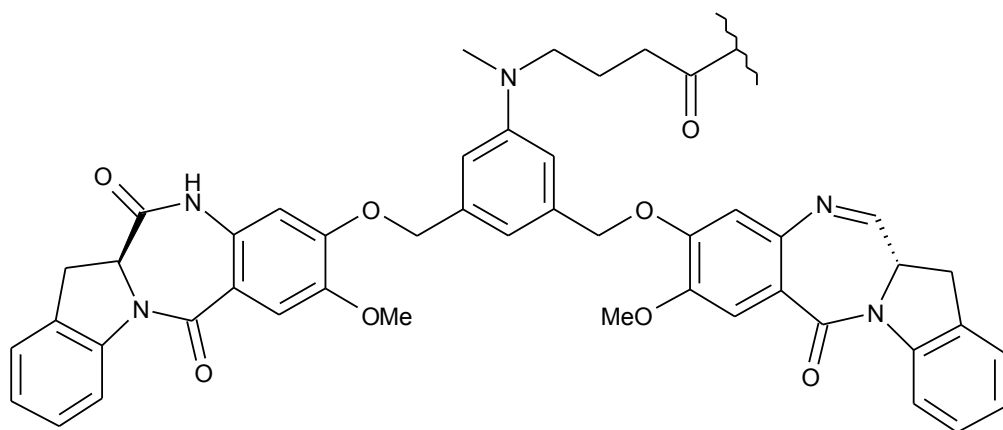


;

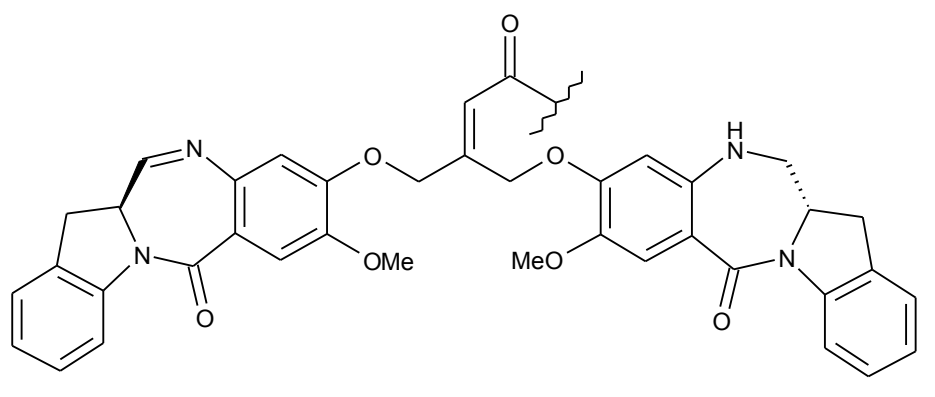
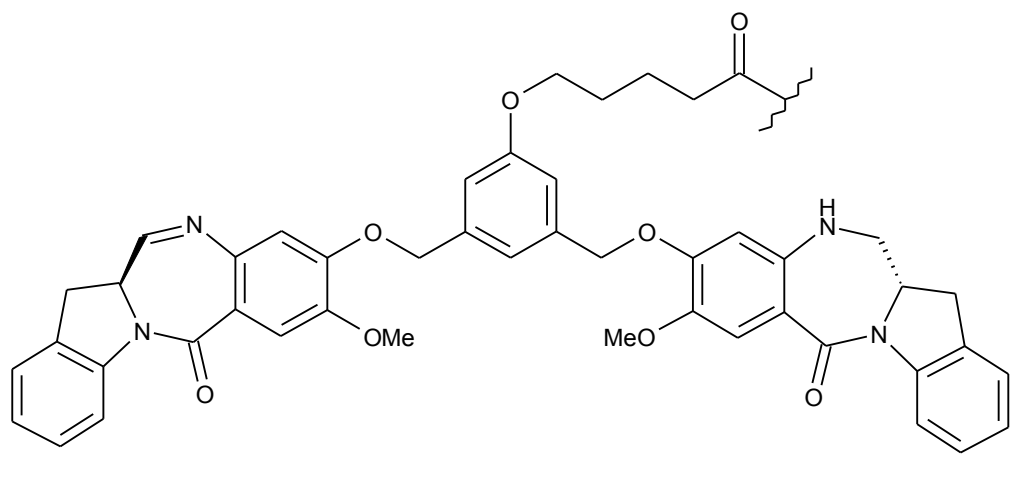
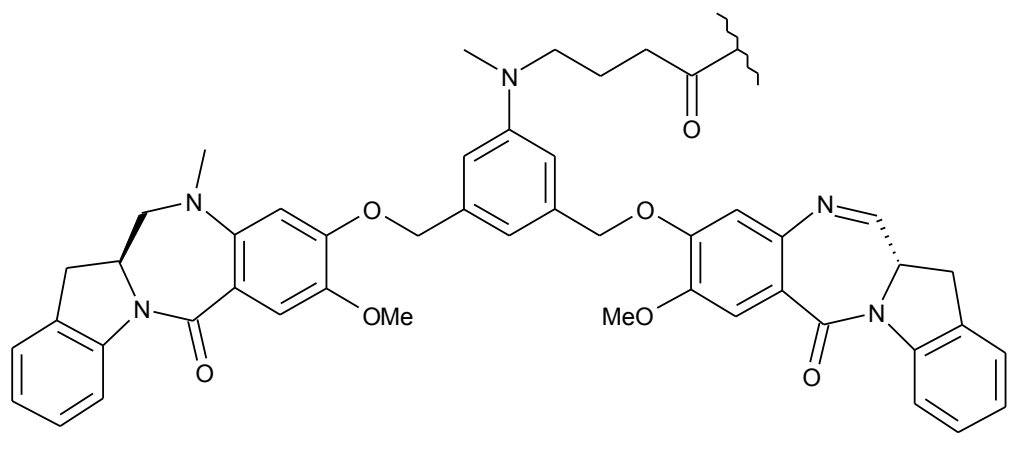
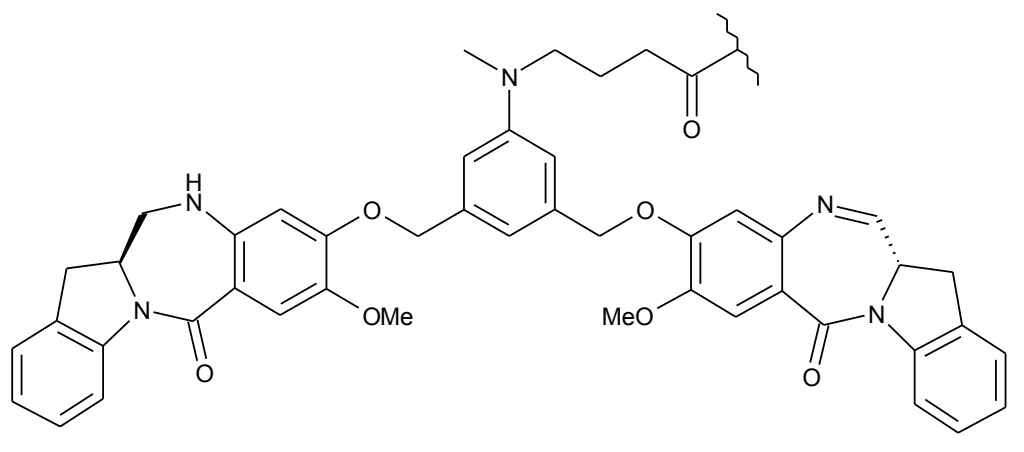


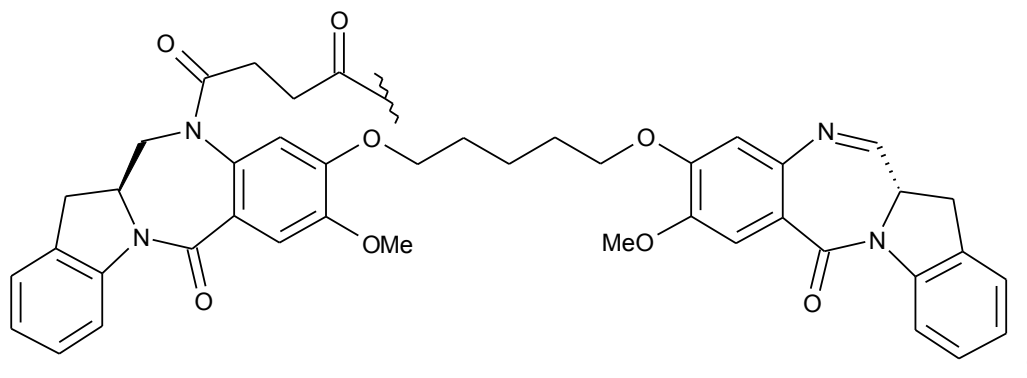
;

10

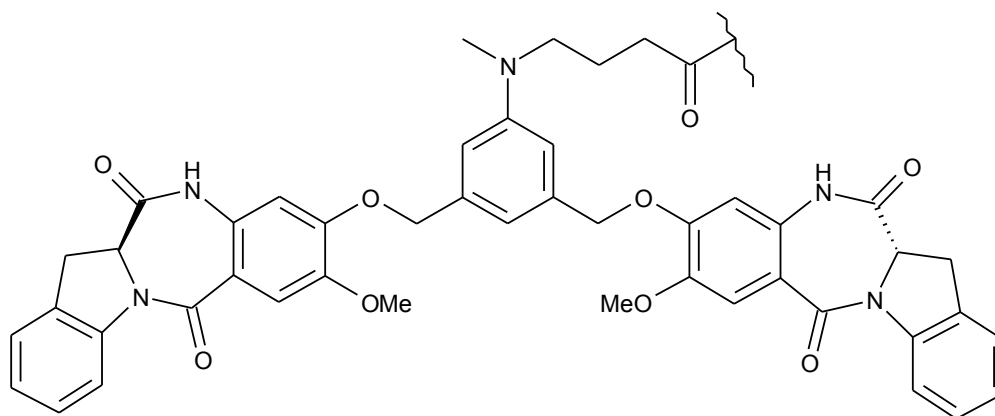


;



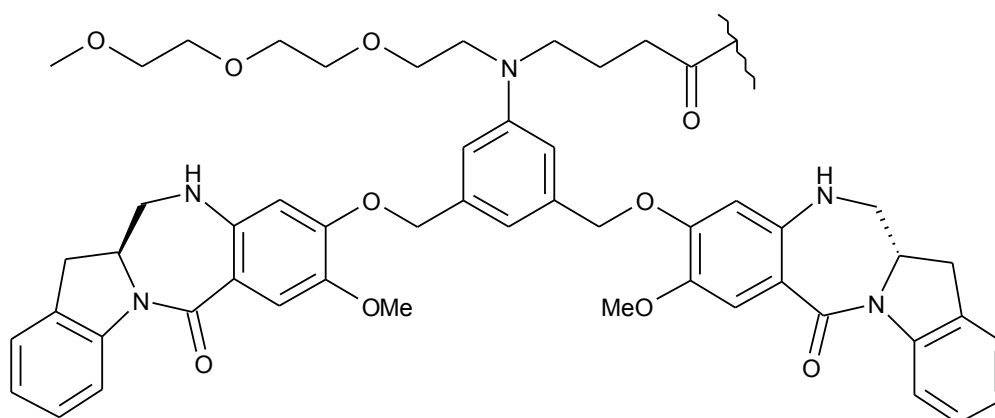


;

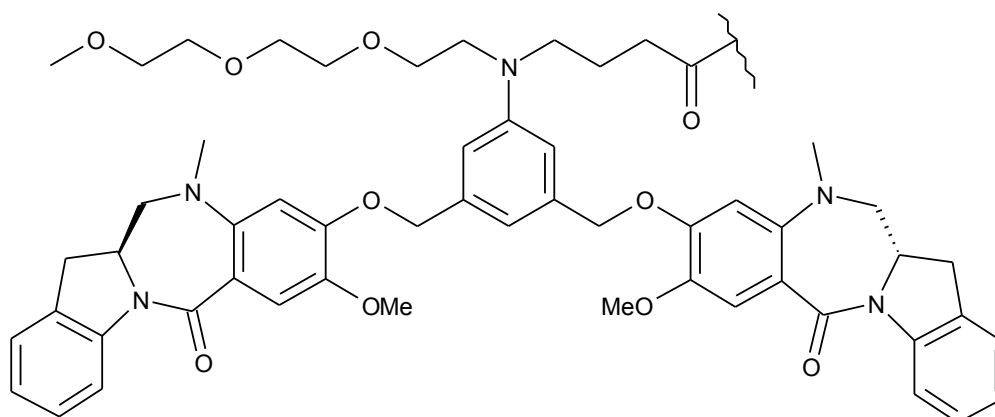


;

5



a60

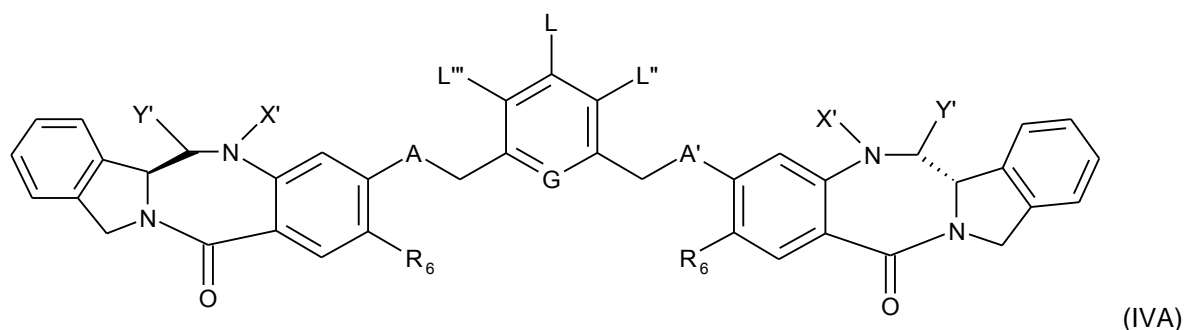
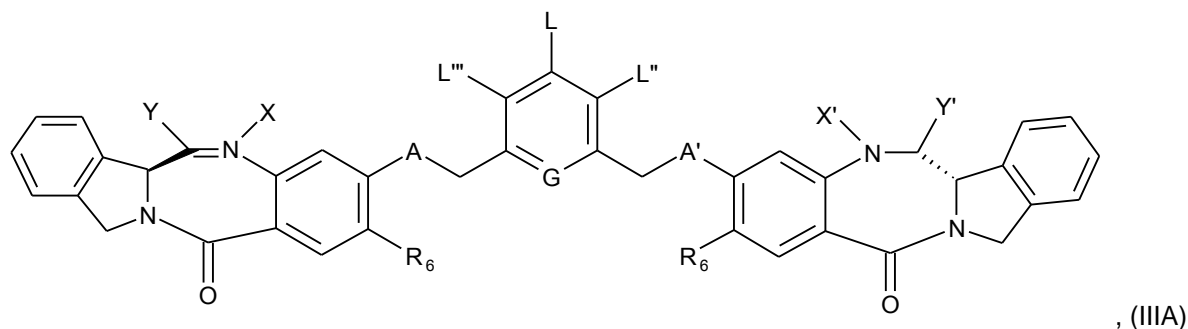
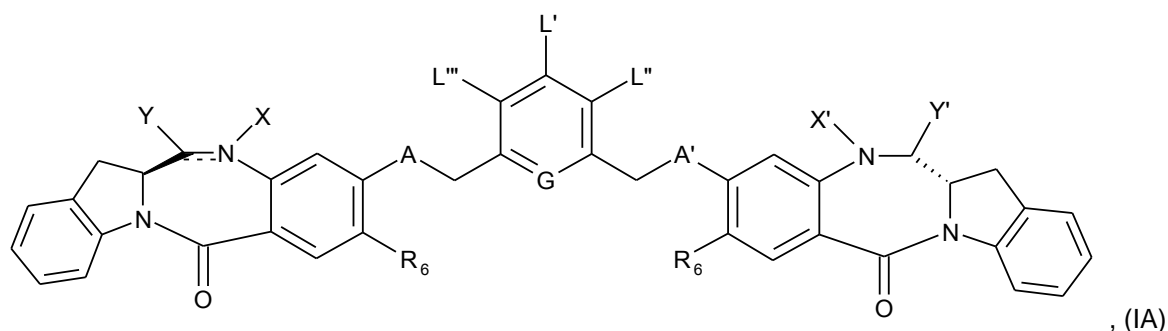


.

53. Кон'югат за п. 52, який **відрізняється** тим, що Y являє собою відхідну групу, вибрану з -OR, -OCOR', -OCOOR', -OCONR'R'', -NR'R'', -NR'COR'', -NR'NR'R'', необов'язково заміщений 5- або 6-членний азотовмісний гетероцикл (наприклад, піперидин, тетрагідропірол, піразол, морфолін і т. д.), гуанідиній, представлений -NR'(C=NH)NR'R'', амінокислоту або пептид, представлений -NRCOP', причому P' являє собою амінокислоту або поліпептид, який містить від 2 до 20 амінокислотних залишків, -SR, -SOR', -SO<sub>2</sub>M, -SO<sub>3</sub>M, -OSO<sub>3</sub>M, галоген, ціаногрупу та азидну групу.

54. Кон'югат за п. 52 або 53, який **відрізняється** тим, що L відсутня або вибрана з необов'язково заміщеної фенільної групи і необов'язково заміщеної піридинільної групи, де фенільна та піридинільна група несуть зв'язуючу групу, або L являє собою аміногрупу, яка несе зв'язуючу групу (тобто -N(зв'язуюча група)-), або L являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл або алкеніл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю та несе зв'язуючу групу.

55. Кон'югат за п. 52 або 53, який **відрізняється** тим, що зазначена сполука представлена будь-якою з наступних формул:



або її фармацевтично прийнятною сіллю, де:

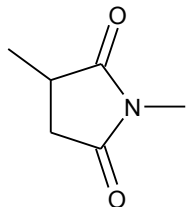
L', L'' і L''' є однаковими або різними і незалежно вибрані з -H, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, мономера поліетиленгліколю -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup>, галогену, гуанідинію [-NH(C=NH)NH<sub>2</sub>], -OR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, -NR'COR'', -SR, сульфоксиду, представленого -SOR', сульфону, представленого -SO<sub>2</sub>R', сульфонату -SO<sub>3</sub>M, сульфату -OSO<sub>3</sub>M, сульфонаміду, представленого -SO<sub>2</sub>NR'R'', ціаногрупи, азидної групи, -COR', -OCOR', -OCONR'R'' і зв'язуючої групи, за умови, що тільки одна з L', L'' і L''' являє собою зв'язуючу групу; а G вибраний з -CH- або -N-.

56. Кон'югат за п. 55, який **відрізняється** тим, що одна з L', L'' або L''' являє собою зв'язуючу групу, а інші являють собою -H.

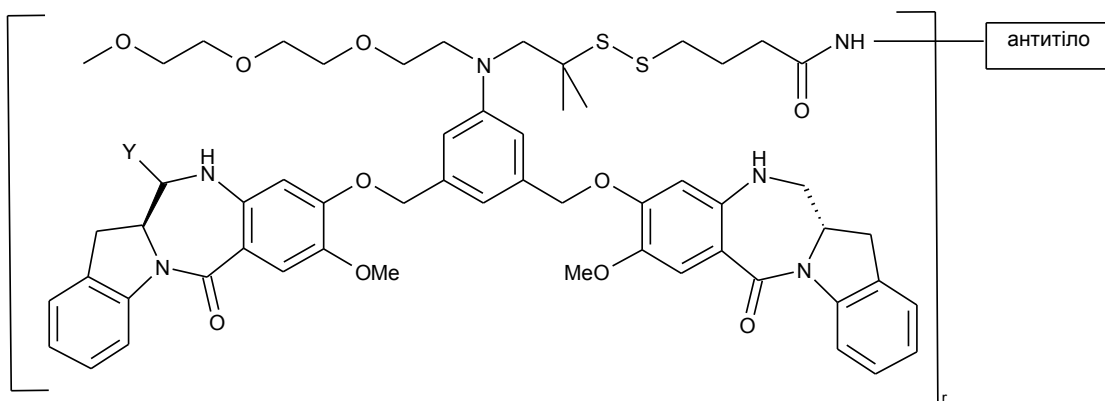
57. Кон'югат за п. 56, який **відрізняється** тим, що L' являє собою зв'язуючу групу, а L'' і L''' являє собою -H.
58. Кон'югат за п. 56 або 57, який **відрізняється** тим, що як A, так і A' являють собою -O-, R<sub>6</sub> являє собою -OMe, а G являє собою -CH-.
59. Кон'югат за пп. 56, 57 або 58, який **відрізняється** тим, що L' представлена наступною формулою:  
 $-W'-R^x-V-R^y-J$ ,  
 де:  
 W' і V є однаковими або різними і кожний з них незалежно відсутній або вибраний з -CR<sup>e</sup>R<sup>e'</sup>-, -O-, -O-C(=O)-, -C(=O)-O-, -S-, -SO-, -SO<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-S-, -CH<sub>2</sub>O-, -CH<sub>2</sub>NR<sup>e</sup>-, -O-(C=O)O-, -O-(C=O)N(R<sup>e</sup>)-, -N(R<sup>e</sup>)-, -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)-, -C(=O)-N(R<sup>e</sup>), -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)O-, -N(C(=O)R<sup>e</sup>)C(=O)-, -N(C(=O)R<sup>e</sup>)-, -(O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, -SS- або -C(=O)-, або амінокислоти або пептиду, який містить від 2 до 8 амінокислот;  
 R<sup>x</sup> і R<sup>y</sup> є однаковими або різними і кожний з них незалежно відсутній або являє собою необов'язково заміщений лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, арил, який містить від 6 до 10 атомів вуглецю, або 3-8-членне гетероциклічне кільце, яке несе від 1 до 3 гетероатомів, вибраних із O, N або S;  
 R<sup>e</sup> і R<sup>e'</sup> є однаковими або різними і вибрані з -H, лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, або -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-R<sup>k</sup>, де R<sup>k</sup> являє собою -H, лінійний, розгалужений, циклічний алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю, який необов'язково несе вторинну аміногрупу (наприклад, -NHR<sup>101</sup>) або третинну аміногрупу (-NR<sup>101</sup>R<sup>102</sup>), або 5- або 6-членний азотовмісний гетероцикл, наприклад піперидин або морфолін, де кожний з R<sup>101</sup> і R<sup>102</sup> незалежно являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю; переважно кожний R<sup>101</sup> і R<sup>102</sup> незалежно являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю;  
 n являє собою ціле число від 1 до 24; а  
 J ковалентно зв'язана з CBA і вибрана з сукциніміду, ацетамідо, -S-, -SS-, -CH<sub>2</sub>S-, -CH(Me)S-, -C(Me)<sub>2</sub>S-, -NR<sup>c1</sup>-, -CH<sub>2</sub>NR<sup>c1</sup>-, -NR<sup>c1</sup>N- і -C(=O)-, де R<sup>c1</sup> являє собою -H або заміщений або незаміщений лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю.
60. Кон'югат за п. 59, який **відрізняється** тим, що J являє собою -S-, -SS-, сукцинімід або -C(=O)-.
61. Кон'югат за п. 59 або 60, який **відрізняється** тим, що:  
 R<sup>e'</sup> являє собою -H або -Me;  
 R<sup>e</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю, або -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-R<sup>k</sup>;  
 n являє собою ціле число від 2 до 8; а  
 R<sup>k</sup> являє собою -H, -Me або -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-NMe<sub>2</sub>.
62. Кон'югат за будь-яким із пп. 59-61, який **відрізняється** тим, що V являє собою амінокислоту або пептид, який містить від 2 до 8 амінокислот.
63. Кон'югат за п. 62, який **відрізняється** тим, що V являє собою валін-цитрулін, gly-gly-gly або ala-leu-ala-leu.
64. Кон'югат за п. 59, який **відрізняється** тим, що:  
 W' являє собою -O-, -N(R<sup>e</sup>)- або -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)-;  
 R<sup>e</sup> являє собою -H, лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, або -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-R<sup>k</sup>;  
 R<sup>x</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю;  
 V відсутній або являє собою -(O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, -C(=O)-NH-, -S-, -NH-C(=O)-;  
 R<sup>y</sup> відсутній або являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю; а
- J являє собою -S-, -SS- або -C(=O)-.
65. Кон'югат за п. 59, який **відрізняється** тим, що:  
 W' являє собою -O-, -N(R<sup>e</sup>)- або -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)-;  
 R<sup>e</sup> являє собою -H, -Me або -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-Me;  
 n являє собою ціле число від 2 до 6;  
 R<sup>x</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який несе від 1 до 6 атомів вуглецю;  
 V і R<sup>y</sup> відсутні; а  
 J являє собою -C(=O)-.
66. Кон'югат за п. 59, який **відрізняється** тим, що L' представлена наступною формулою:  
 $-W'-[CR_1R_2]_a-V-[Cy]_{0-1}-[CR_3R_4]_b-C(=O)-$ ,  
 де:



кожний з  $R_1''$ ,  $R_2''$  і  $R_3''$ , незалежно, являє собою -H або -Me;  
 $R_4''$  являє собою -H, -Me, -SO<sub>3</sub>H або -SO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, де M<sup>+</sup> являє собою фармацевтично прийнятний катіон;  
 а являє собою ціле число від 0 до 2, b являє собою ціле число від 0 до 3; а  
 5 Су являє собою необов'язково заміщене 5-членне гетероциклічне кільце, яке несе гетероатом N, переважно Су являє собою

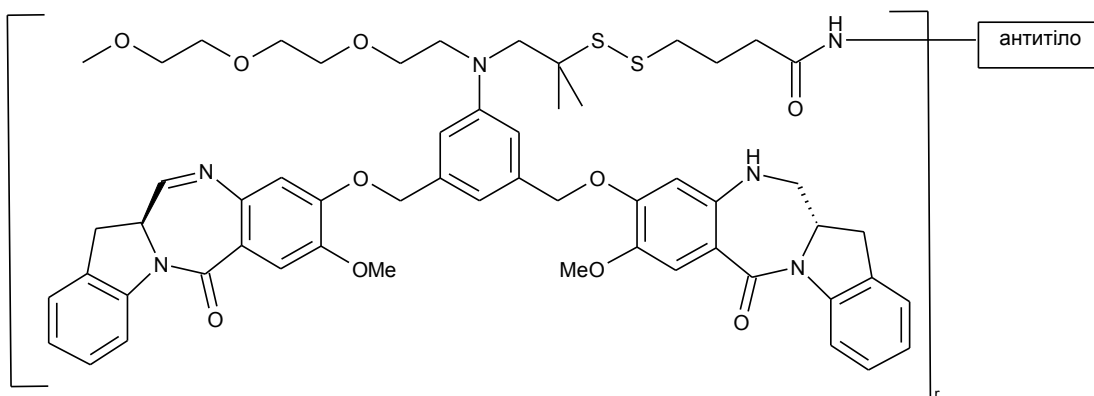


- 10 67. Кон'югат за п. 59 або 66, який **відрізняється** тим, що W' являє собою -N(R<sup>e</sup>)-.  
 68. Кон'югат за пп. 59, 66 або 67, який **відрізняється** тим, що R<sup>e</sup> являє собою -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>2-6</sub>-R<sup>k</sup>, де R<sup>k</sup> являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю.  
 69. Кон'югат за пп. 59, 66, 67 або 68, який **відрізняється** тим, що V являє собою -S- або -SS-.  
 70. Кон'югат за пп. 59, 66, 67, 68 або 69, який **відрізняється** тим, що L' представлена наступною формулою:  
 15 -NR<sup>e</sup>-[CR<sub>1</sub>''R<sub>2</sub>']<sub>a</sub>-S-[CR<sub>3</sub>''R<sub>4</sub>']<sub>b</sub>-C(=O)-.  
 71. Кон'югат за пп. 59, 66, 67, 68, 69 або 70, який **відрізняється** тим, що являє собою:

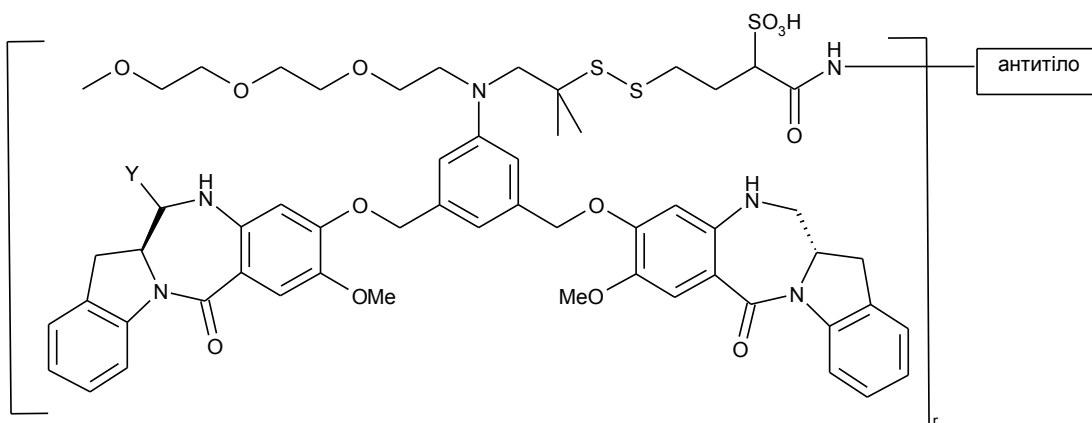


антитіло

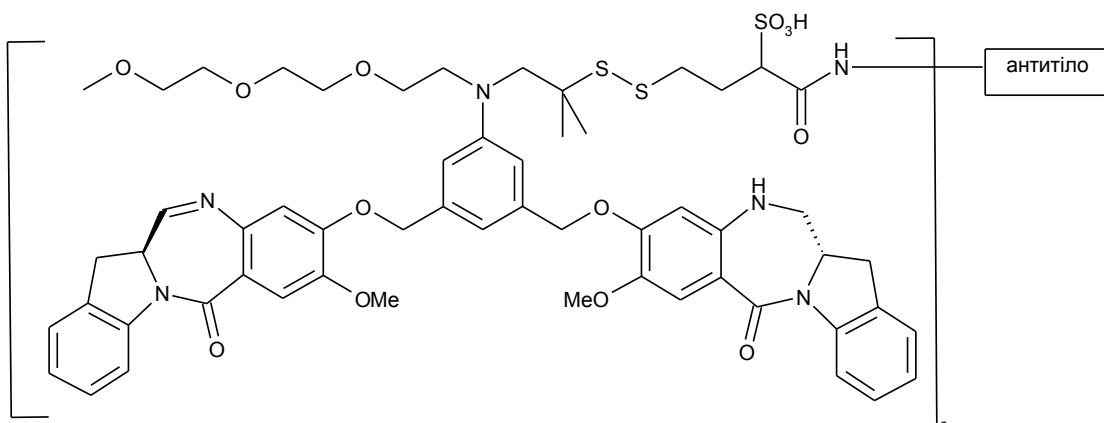
20



антитіло



або



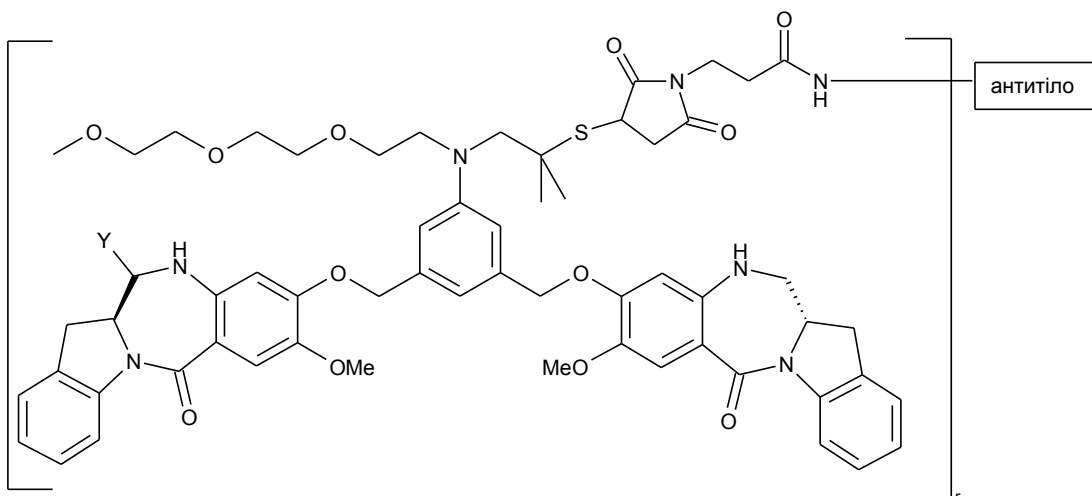
5 або його фармацевтично прийнятна сіль, де  $r$  являє собою ціле число від 1 до 10,  $Y$  являє собою  $-H$  або  $-SO_3M$  (наприклад,  $Y$  являє собою  $-SO_3M$ ), а  $M$  являє собою  $-H$  або фармацевтично прийнятний катіон.

72. Кон'югат за пп. 59, 66, 67, 68, 69, 70 або 71, який **відрізняється** тим, що антитіло являє собою huMy9-6.

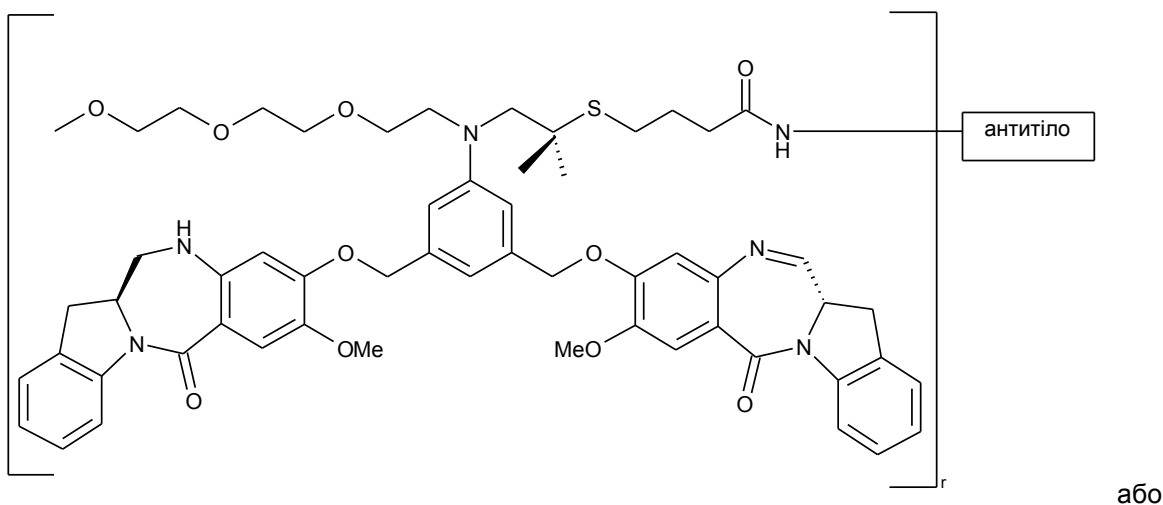
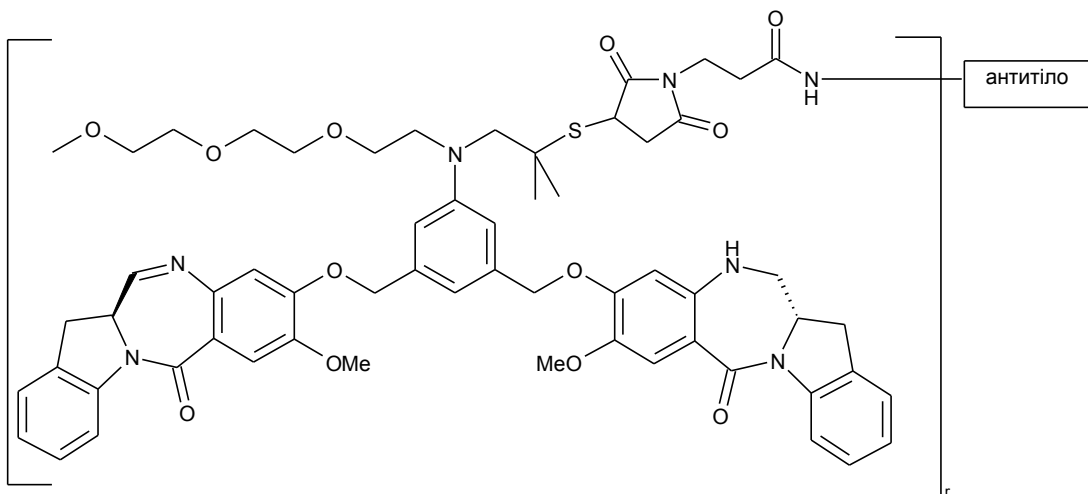
10 73. Кон'югат за пп. 59, 66, 67, 68 або 69, який **відрізняється** тим, що  $L'$  представлена наступною формулою:

$-NR^e-[CR_1''R_2'']_a-S-Cy-[CR_3''R_4'']_b-C(=O)-$ .

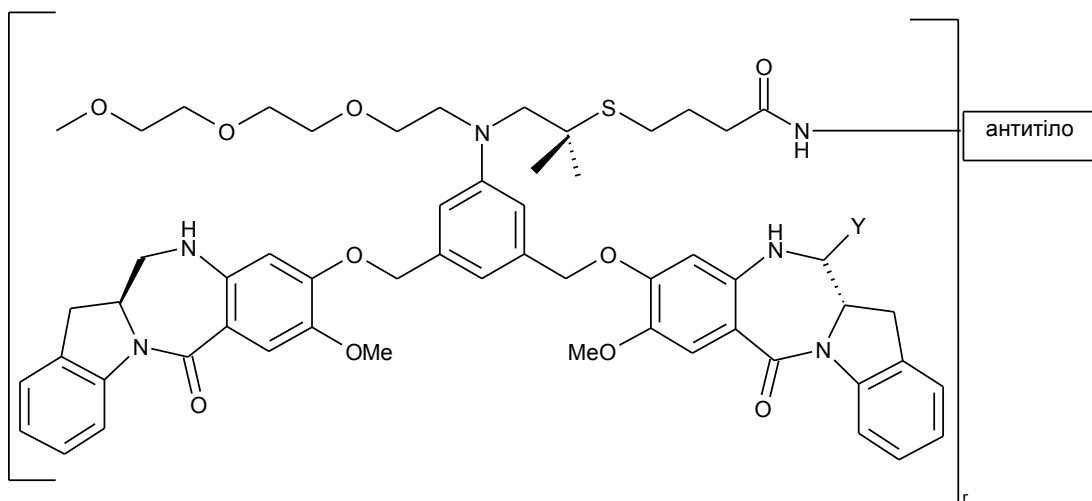
74. Кон'югат за пп. 59, 66, 67, 68, 69 або 73, який **відрізняється** тим, що являє собою:



15



або

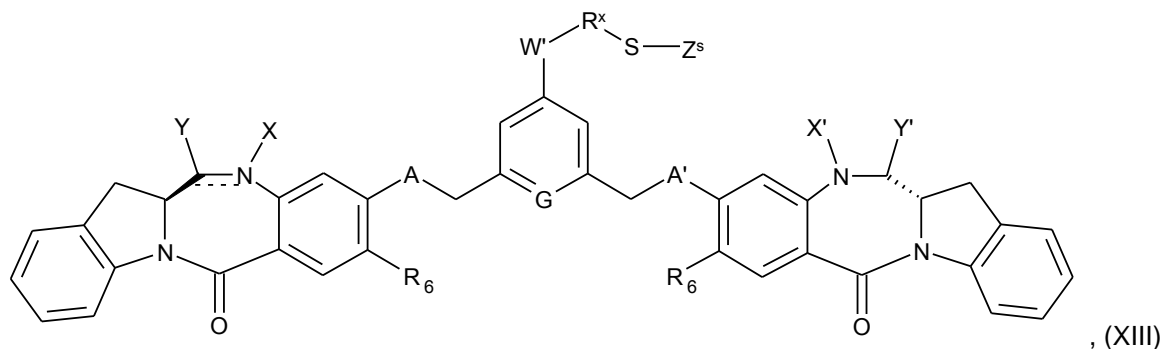


5

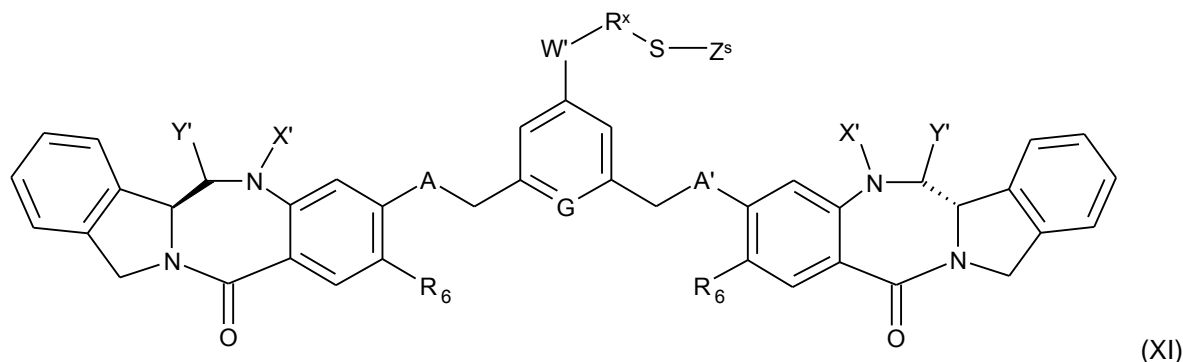
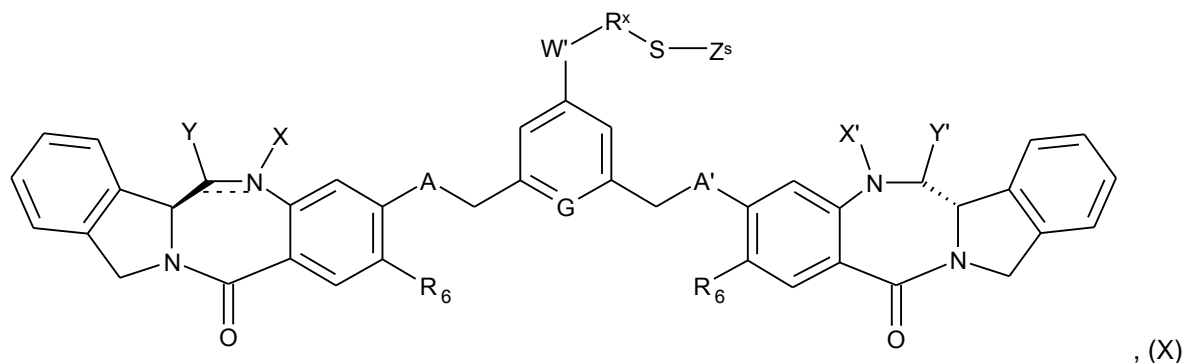
або його фармацевтично прийнятна сіль, де  $r$  являє собою ціле число від 1 до 10,  $Y$  являє собою  $-H$  або  $-SO_3M$  (наприклад,  $Y$  являє собою  $-SO_3M$ ), а  $M$  являє собою  $-H$  або фармацевтично прийнятний катіон.

75. Кон'югат за пп. 59, 66, 67, 68, 69, 73 або 74, який **відрізняється** тим, що антитіло являє собою huMy9-6.

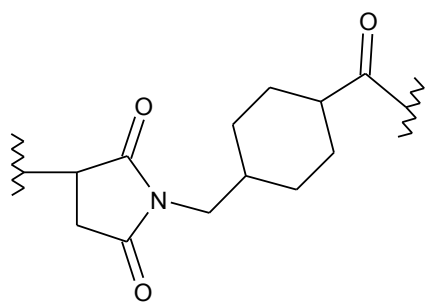
76. Кон'югат за п. 55, який **відрізняється** тим, що зазначена сполука представлена наступною формулою:



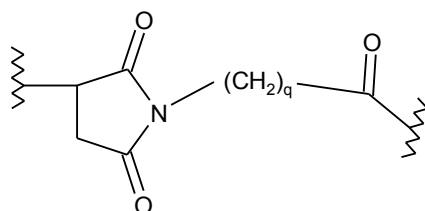
5



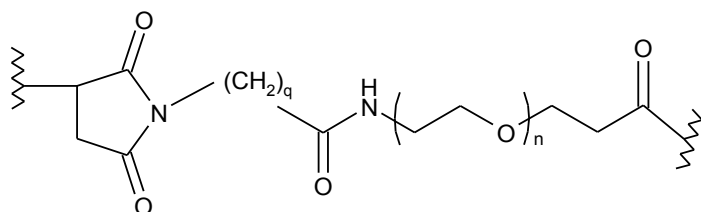
- 10 або її фармацевтично прийнятною сіллю, де:  
 $W'$  відсутній або вибраний з  $-O-$ ,  $-N(R^e)-$ ,  $-N(R^e)-C(=O)-$ ,  $-N(C(=O)R^e)-$ ,  $-S-$ ,  $-CH_2-S-$  або  $-CH_2NR^e-$ ;  
 $R^x$  відсутній або вибраний з лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;  
 $R^e$  являє собою  $-H$ , лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який  
15 містить від 1 до 10 атомів вуглецю, або  $-(CH_2-CH_2-O)_n-R^k$ , де  $R^k$  являє собою  $-H$ , лінійний, розгалужений, циклічний алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю, який необов'язково несе вторинну аміногрупу (наприклад,  $-NHR^{101}$ ) або третинну аміногрупу ( $-NR^{101}R^{102}$ ), або 5- або 6-членний азотовмісний гетероцикл, наприклад піперидин або морфолін, де кожний з  $R^{101}$  і  $R^{102}$   
20 незалежно являє собою лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, алкеніл або алкініл, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю;  
 $n$  являє собою ціле число від 2 до 6;  
 $Z^s$  приєднаний до СВА і вибраний з:  
вуглець-вуглецевого зв'язку;



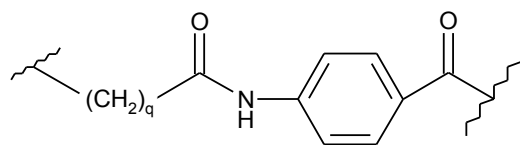
, (b1)



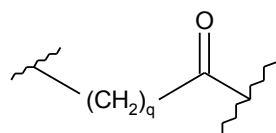
, (b2)



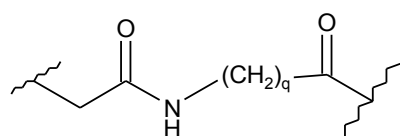
, (b3)



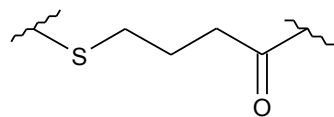
, (b4)



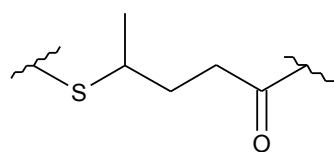
, (b5)



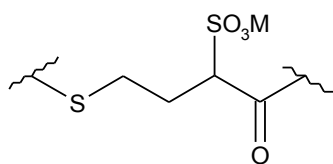
, (b6)



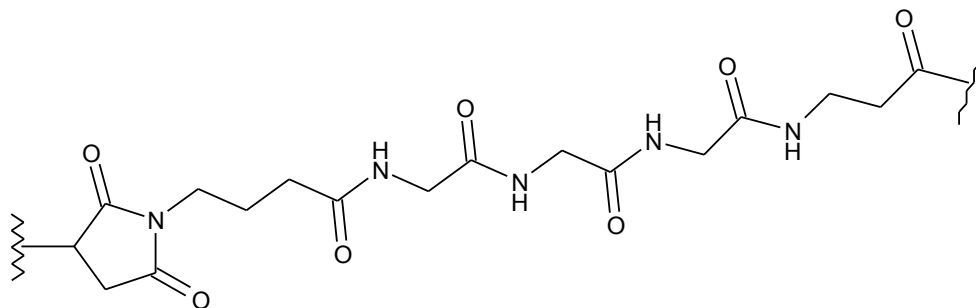
, (b7)



, (b8)



(b9) i



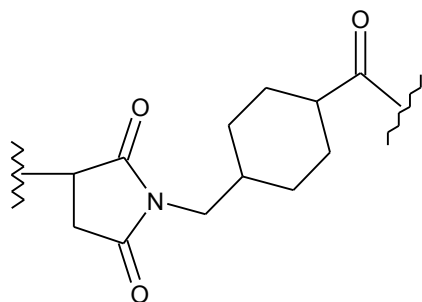
, (b10)

5 де:

q являє собою ціле число від 1 до 5; а

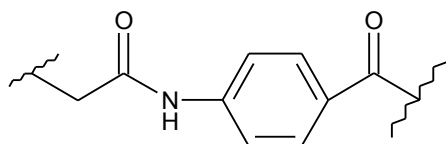
M являє собою -H або катіон, наприклад  $\text{Na}^+$  або  $\text{K}^+$ .

77. Кон'югат за п. 76, який **відрізняється** тим, що  $Z^s$  являє собою:

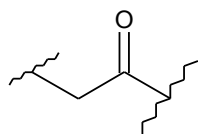


10

, (b1)

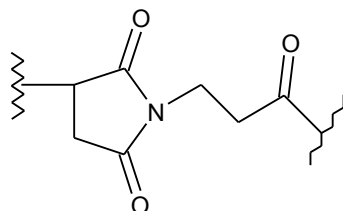


, (b4')

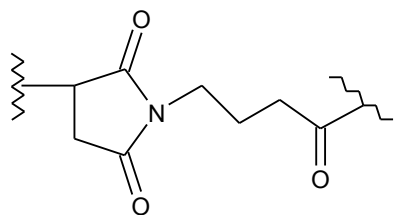


, (b5)

15



, (b12)



(b13).

78. Кон'югат за п. 76 або 77, який **відрізняється** тим, що  $W'$  являє собою  $-N(R^e)-$ .

79. Кон'югат за п. 78, який **відрізняється** тим, що  $R^e$  являє собою  $-(CH_2-CH_2-O)_n-R^k$ , де  $R^k$  являє собою -H, лінійний, розгалужений, циклічний алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю.

80. Кон'югат за п. 79, який **відрізняється** тим, що  $R^k$  являє собою -H або -Me,  $n$  дорівнює 4, а  $q$  дорівнює 2.

81. Кон'югат за п. 80, який **відрізняється** тим, що  $R^x$  являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю.

82. Кон'югат за п. 80, який **відрізняється** тим, що  $R^x$  являє собою  $-(CH_2)_p-(CR^fR^g)-$ , де кожний з  $R^f$  і  $R^g$  незалежно вибраний з H або лінійного або розгалуженого алкілу, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю; а  $p$  дорівнює 0, 1, 2 або 3.

83. Кон'югат за п. 82, який **відрізняється** тим, що  $R^f$  і  $R^g$  є однаковими або різними і вибрані з H і Me; а  $p$  дорівнює 1.

84. Кон'югат за будь-яким із пп. 76-83, який **відрізняється** тим, що:

подвійна лінія  $\text{-----}$  між N і C являє собою одинарний зв'язок або подвійний зв'язок, за умови, що, коли вона являє собою подвійний зв'язок, X відсутня, а Y являє собою -H, а коли вона являє собою одинарний зв'язок, X являє собою -H; Y являє собою -OH або  $-SO_3M$ ; M являє собою -H або фармацевтично прийнятний катіон (наприклад,  $Na^+$ );

X' і Y' обидва являють собою -H;

A і A' обидва являють собою -O-;

$R_6$  являє собою -OMe; а

$R^x$  являє собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю.

85. Кон'югат за будь-яким із пп. 52-84, який **відрізняється** тим, що подвійна лінія  $\text{-----}$  між N і C являє собою подвійний зв'язок.

86. Кон'югат за будь-яким із пп. 52-83, який **відрізняється** тим, що подвійна лінія  $\text{-----}$  між N і C являє собою одинарний зв'язок, X являє собою -H, зв'язуючу групу або аміноблокуючу групу; а Y вибраний з -H, -OR, -OCOR', -SR, -NR'R'', необов'язково заміщеного 5- або 6-членного азотовмісного гетероциклу,  $-SO_3M$ ,  $-SO_2M$  і сульфату  $-OSO_3M$ .

87. Кон'югат за п. 86, який **відрізняється** тим, що Y вибраний з  $-SO_3M$ , -OH, -OMe, -OEt або -NHOH.

88. Кон'югат за п. 87, який **відрізняється** тим, що Y являє собою  $-SO_3M$  або -OH.

89. Кон'югат за будь-яким із пп. 86-88, який **відрізняється** тим, що M являє собою -H,  $Na^+$  або  $K^+$ .

90. Кон'югат за будь-яким із пп. 52-89, який **відрізняється** тим, що W, якщо присутній, являє собою  $C=O$ .

91. Кон'югат за будь-яким із пп. 52-90, який **відрізняється** тим, що Z і Z', якщо присутні, являють собою  $-CH_2-$ .

92. Кон'югат за будь-яким із пп. 52-91, який **відрізняється** тим, що X' вибраний з групи, яка складається з -H, -OH, необов'язково заміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, фенілу, зв'язуючої групи й аміноблокуючої групи.

93. Кон'югат за п. 92, який **відрізняється** тим, що X' являє собою -H, -OH, -Me або зв'язуючу групу.

94. Кон'югат за п. 93, який **відрізняється** тим, що X' являє собою -H.

95. Кон'югат за будь-яким із пп. 52-94, який **відрізняється** тим, що Y' вибраний з групи, яка складається з -H, оксогрупи, заміщеного або незаміщеного лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю.

96. Кон'югат за п. 95, який **відрізняється** тим, що Y' являє собою -H або оксо.

97. Кон'югат за п. 96, який **відрізняється** тим, що Y' являє собою -H.

98. Кон'югат за будь-яким із пп. 52-97, який **відрізняється** тим, що A і A' є однаковими або різними і вибрані з -O-, -S-,  $-N(R_5)-$  і оксогрупи ( $C=O$ ).

99. Кон'югат за п. 98, який **відрізняється** тим, що A і A' є однаковими або різними і вибрані з -O- і -S-.

100. Кон'югат за п. 99, який **відрізняється** тим, що A і A' являють собою -O-.

101. Кон'югат за будь-яким із пп. 52-100, який **відрізняється** тим, що D і D', якщо присутні, є однаковими або різними і, незалежно, вибрані з мономера поліетиленгліколю  $(-OCH_2CH_2)_n$ , де n являє собою ціле число від 1 до 24, амінокислоти, пептиду, який несе від 2 до 6 амінокислот, або лінійного, розгалуженого або циклічного алкілу, алкенілу або алкінілу, який містить від 1 до 10 атомів вуглецю, де алкіл, алкеніл і алкініл, необов'язково, заміщені одним або більше замісниками, незалежно вибраними із групи, яка складається з галогену, -OR, -NR'COR", -SR і -COR'.

102. Кон'югат за п. 101, який **відрізняється** тим, що D і D' являють собою лінійний або розгалужений алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю.

103. Кон'югат за пп. 52, 53, 55 або 76, який **відрізняється** тим, що:

подвійна лінія  $\overline{\quad\quad}$  між N і C являє собою подвійний зв'язок;

Y являє собою -H;

W являє собою C=O;

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>1'</sub>, R<sub>2'</sub>, R<sub>4</sub> і R<sub>4'</sub> являють собою -H;

один із R<sub>3</sub> або R<sub>3'</sub>, необов'язково, являє собою зв'язуючу групу, а інший являє собою -H;

R<sub>6</sub> являє собою -OMe;

Z і Z' являють собою -CH<sub>2</sub>-;

X' являє собою -H;

Y' являє собою -H; а

A і A' являють собою -O-.

104. Кон'югат за будь-яким із пп. 52-103, який **відрізняється** тим, що включає 1-10 цитотоксичних сполук, причому кожна цитотоксична сполука включає зв'язуючу групу, яка приєднує зазначену цитотоксичну сполуку до CBA, і кожна цитотоксична сполука у складі кон'югата однакова.

105. Кон'югат за будь-яким із пп. 52-104, який **відрізняється** тим, що агент, який зв'язується з клітинами, зв'язується з клітинами-мішенями, вибраними з пухлинних клітин, клітин, інфікованих вірусом, клітин, інфікованих мікроорганізмами, клітин, інфікованих паразитами, аутоімунних клітин, активованих клітин, мієлоїдних клітин, активованих Т-клітин, В-клітин або меланоцитів; клітин, які експресують CD4, CD6, CD 19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD37, CD38, CD40, CD44, CD56, ErCAM, CanAg, CALLA або антигени Her-2, антигени Her-3; або клітин, які експресують рецептор інсуліноподібного фактора росту, рецептор епідермального фактора росту і рецептор фолату.

106. Кон'югат за п. 105, який **відрізняється** тим, що агент, який зв'язується з клітинами, є антитілом, одноланцюжковим антитілом, фрагментом антитіла, який специфічно зв'язується з клітиною-мішенню, моноклональним антитілом, одноланцюжковим моноклональним антитілом або фрагментом моноклонального антитіла, який специфічно зв'язується з клітиною-мішенню, химерним антитілом, фрагментом химерного антитіла, який специфічно зв'язується з клітиною-мішенню, доменним антитілом, фрагментом доменного антитіла, який специфічно зв'язується з клітиною-мішенню, лімфокином, гормоном, вітаміном, фактором росту, колонієстимулюючим фактором або молекулою транспорту поживних речовин.

107. Кон'югат за п. 106, який **відрізняється** тим, що антитіло є антитілом з модифікованою поверхнею, одноланцюжковим антитілом з модифікованою поверхнею або фрагментом антитіла з модифікованою поверхнею.

108. Кон'югат за п. 106, який **відрізняється** тим, що антитіло є моноклональним антитілом, одноланцюжковим моноклональним антитілом або фрагментом моноклонального антитіла.

109. Кон'югат за п. 106, який **відрізняється** тим, що антитіло є гуманізованим антитілом, гуманізованим одноланцюжковим антитілом або фрагментом гуманізованого антитіла.

110. Фармацевтична композиція, яка включає кон'югат за будь-яким із пп. 52-109 і фармацевтично прийнятний носій.

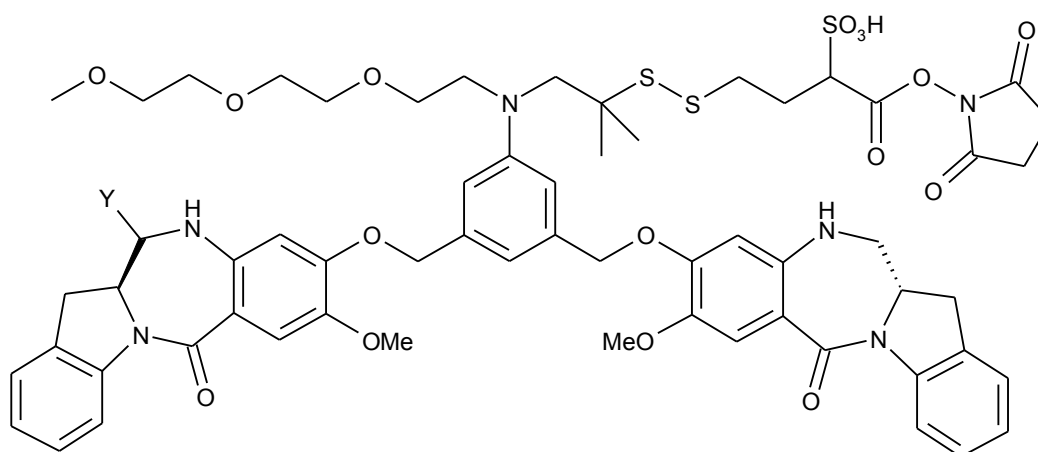
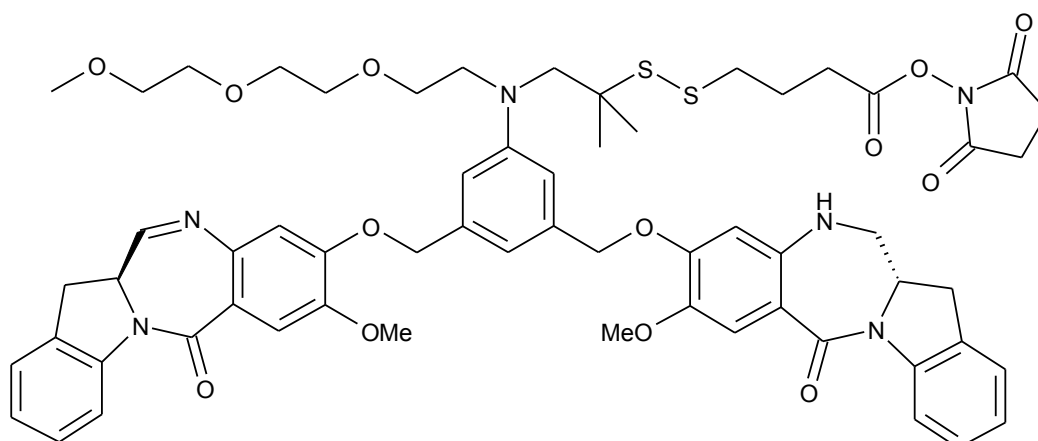
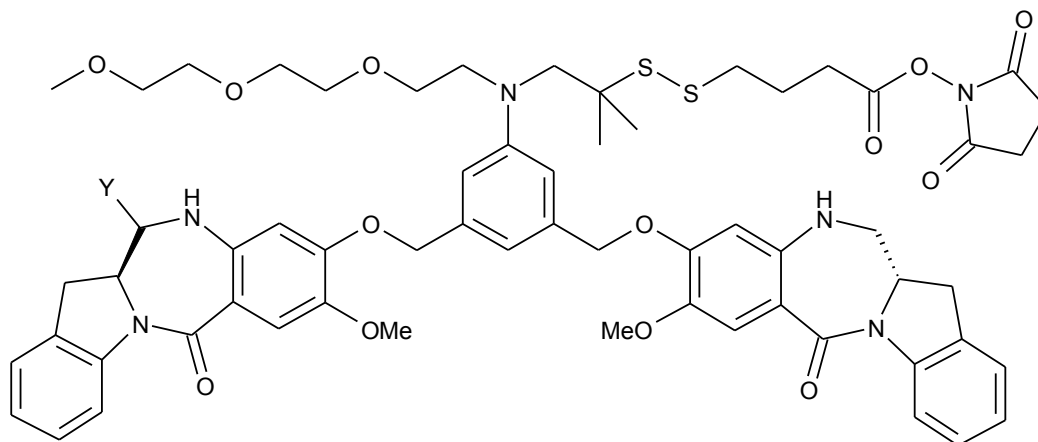
111. Спосіб інгібування аномального клітинного росту або лікування проліферативного розладу, аутоімунного розладу, деструктивного розладу кісток, інфекційного захворювання, вірусного захворювання, фіброзного захворювання, нейродегенеративного захворювання, панкреатиту або захворювання нирок у ссавця, який включає введення зазначеному ссавцеві терапевтично ефективної кількості сполуки за будь-яким із пп. 1-51 або кон'югата за будь-яким із пп. 52-109 і, необов'язково, хіміотерапевтичного агента.

112. Спосіб інгібування аномального клітинного росту або лікування проліферативного розладу, аутоімунного розладу, деструктивного розладу кісток, інфекційного захворювання, вірусного

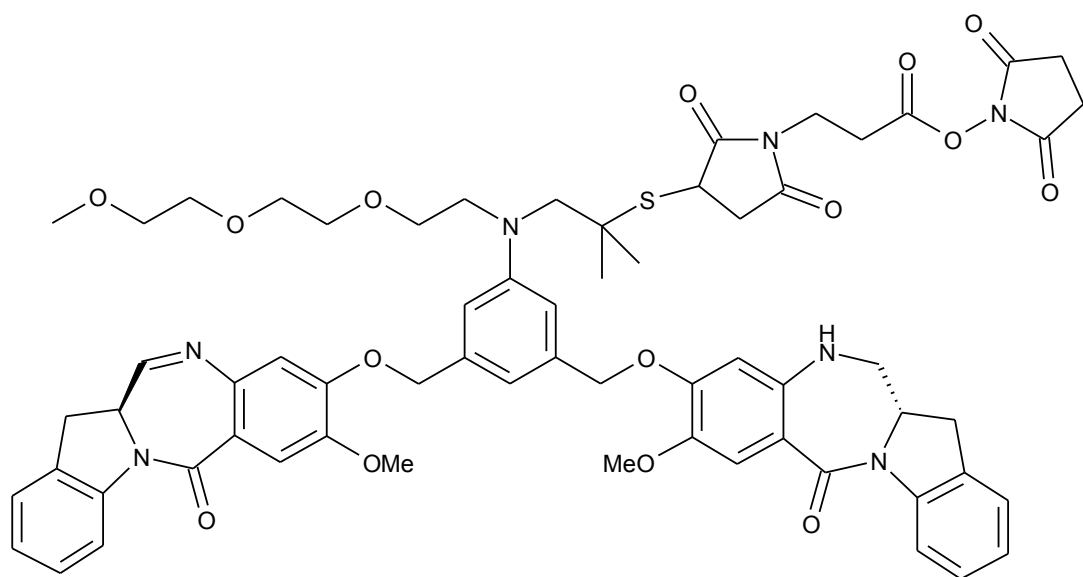
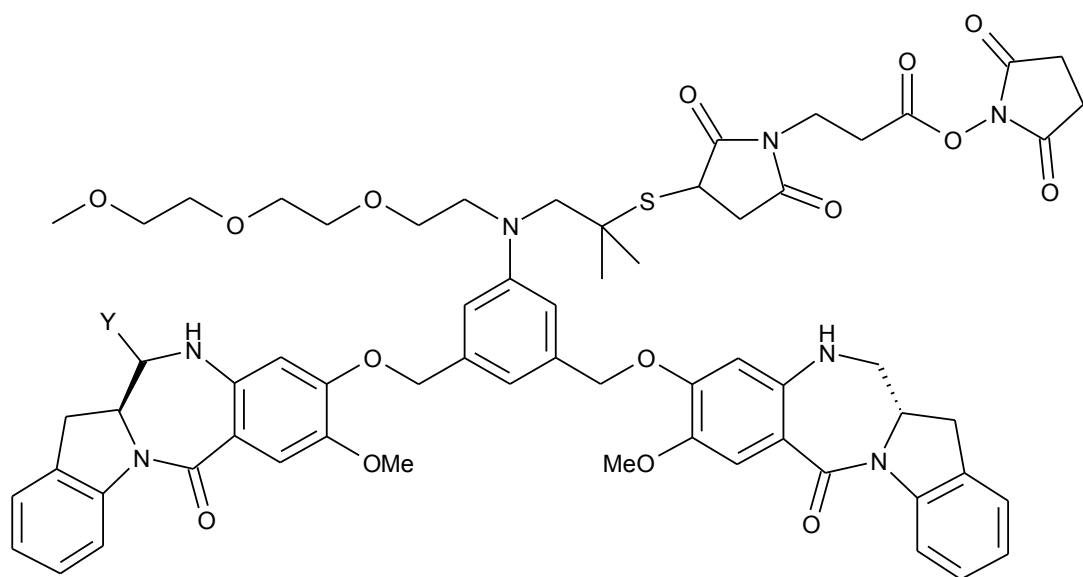


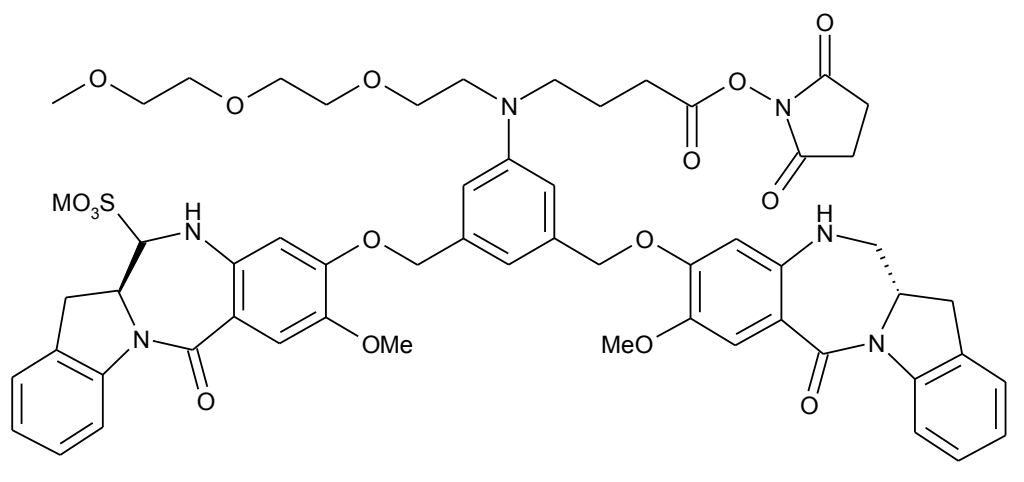
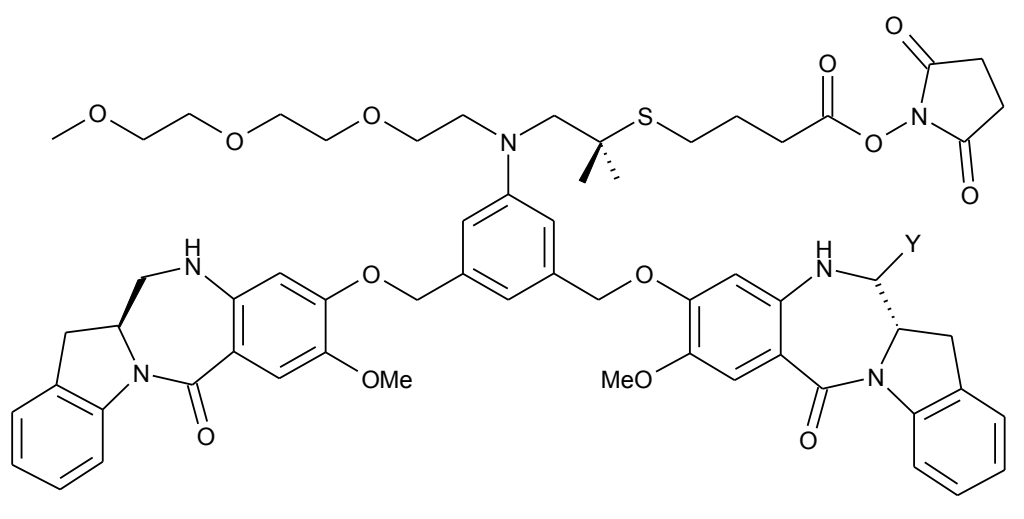
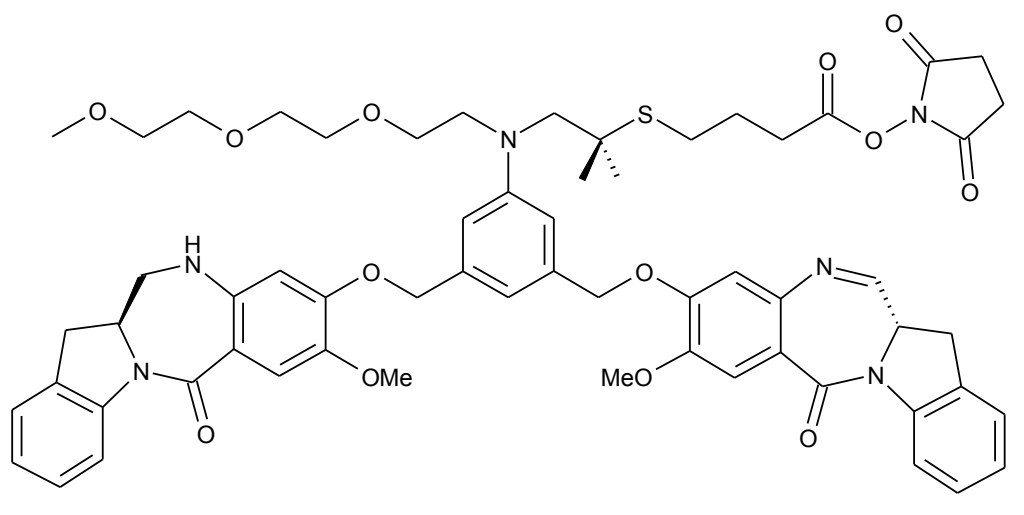
захворювання, фіброзного захворювання, нейродегенеративного захворювання, панкреатиту або захворювання нирок у ссавця, який включає введення зазначеному ссавцеві терапевтично ефективної кількості сполуки або кон'югата і, необов'язково, хіміотерапевтичного агента, причому сполука або кон'югат являють собою:

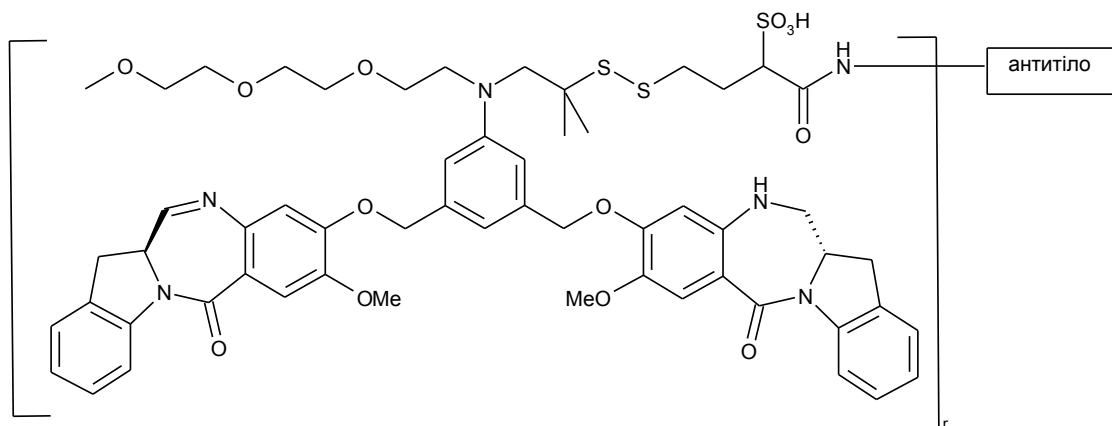
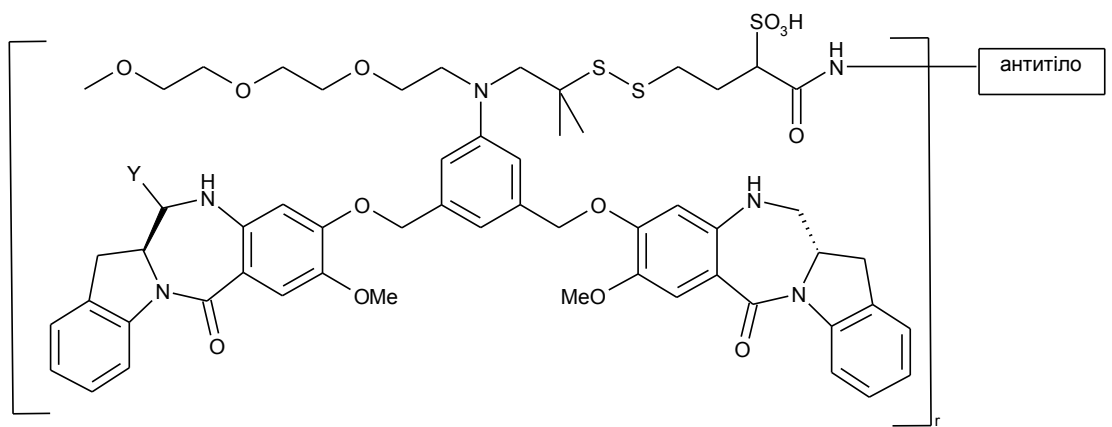
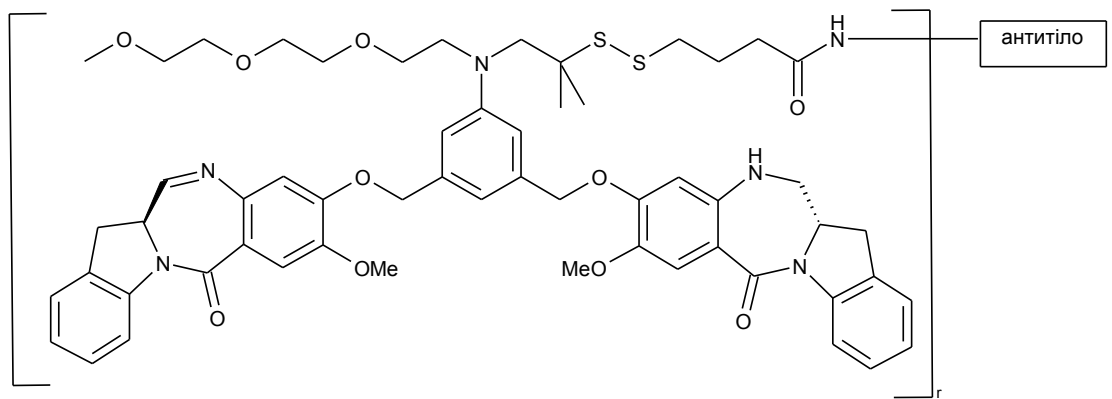
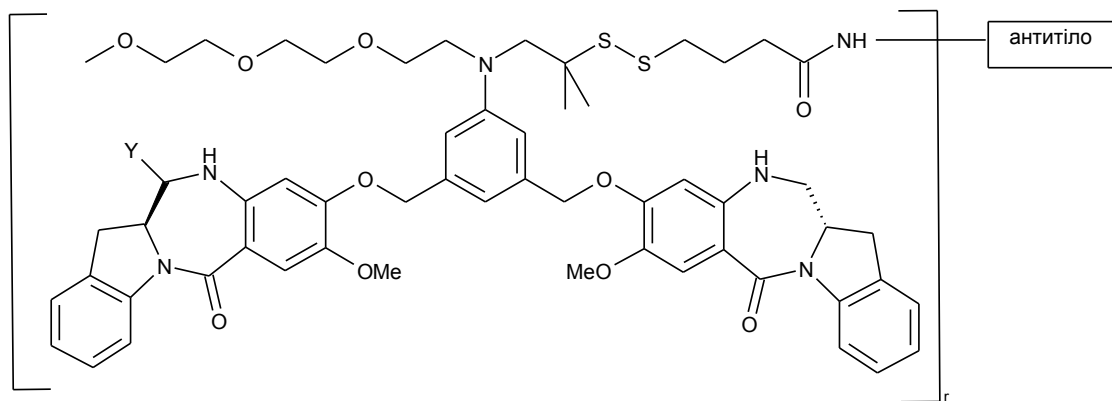
5



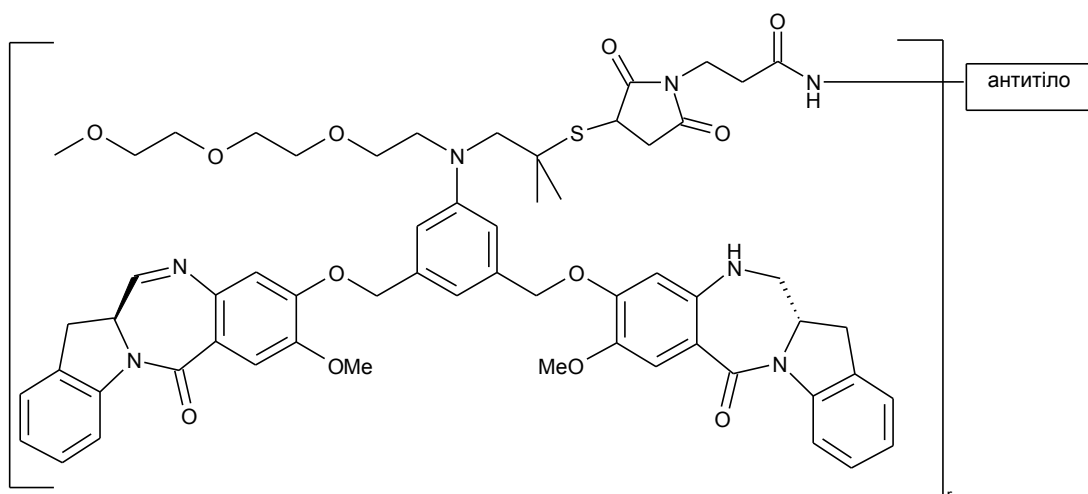
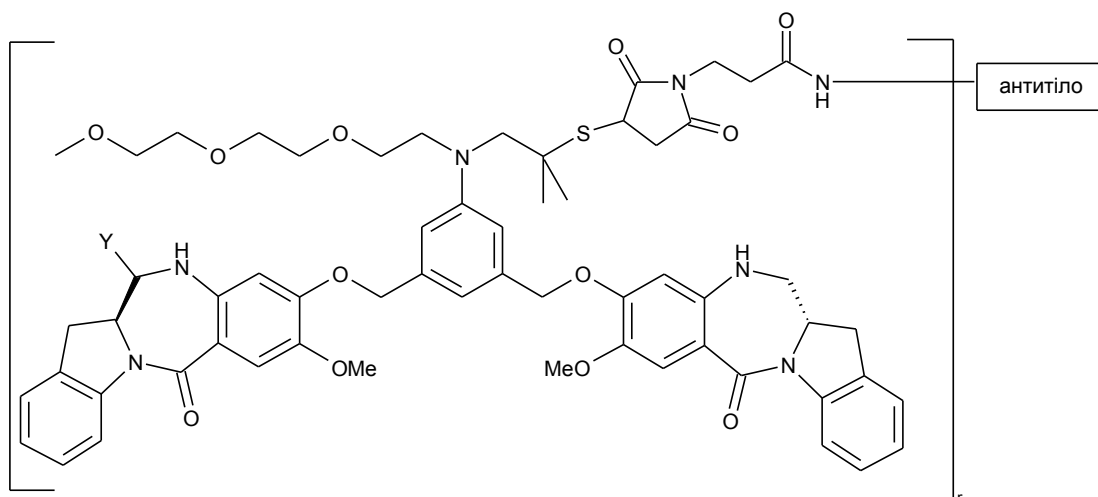
10



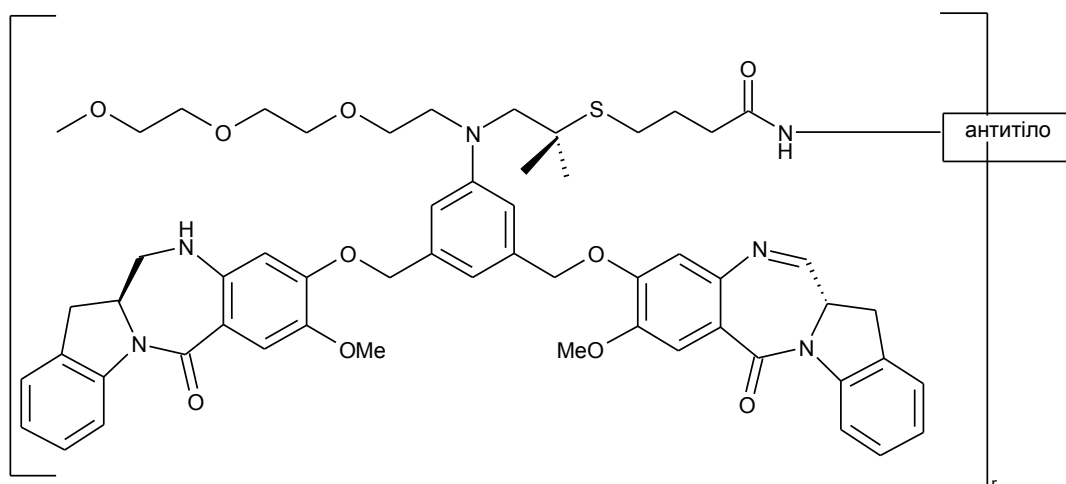


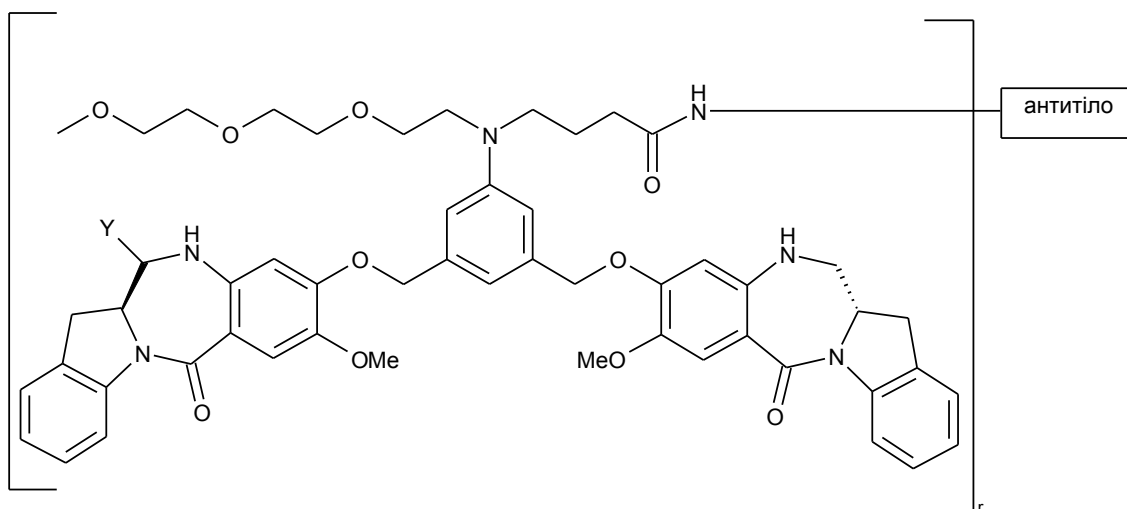
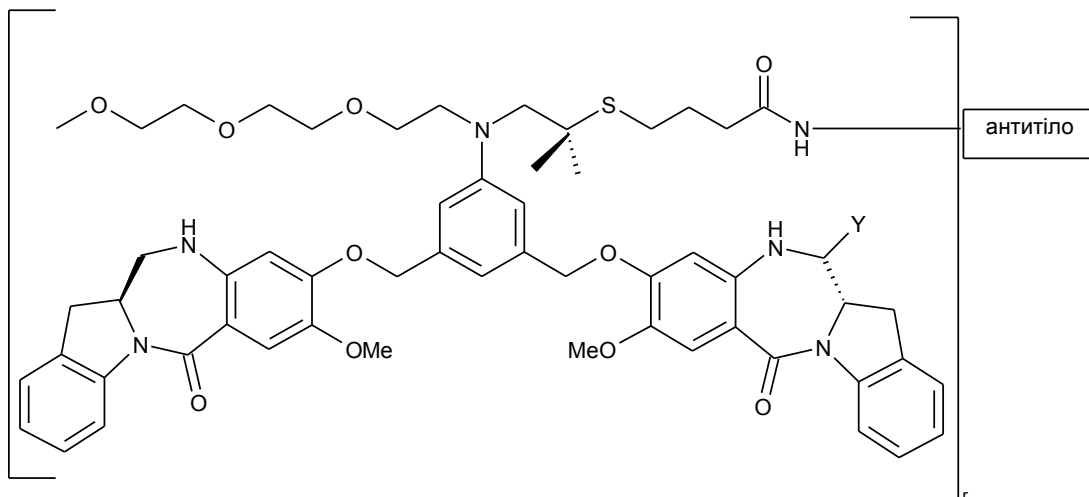


5

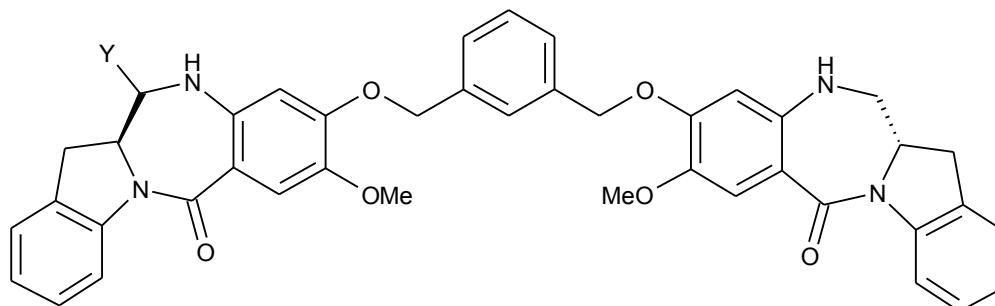


5





- 5 або її фармацевтично прийнятна сіль, де  $g$  являє собою ціле число від 1 до 10,  $Y$  являє собою -  
H або  $-SO_3M$  (наприклад,  $Y$  являє собою  $-SO_3M$ ), а  $M$  являє собою -H або фармацевтично  
прийнятний катіон.
113. Спосіб інгібування аномального клітинного росту або лікування проліферативного розладу,  
аутоімунного розладу, деструктивного розладу кісток, інфекційного захворювання, вірусного  
10 захворювання, фіброзного захворювання, нейродегенеративного захворювання, панкреатиту  
або захворювання нирок у ссавця, який включає введення зазначеному ссавцеві терапевтично  
ефективної кількості сполуки наступної формули:



або її фармацевтично прийнятної солі, яка **відрізняється** тим, що Y являє собою -H або -SO<sub>3</sub>M (наприклад, Y являє собою -SO<sub>3</sub>M), а M являє собою -H або фармацевтично прийнятний катіон, і, необов'язково, хіміотерапевтичного агента.

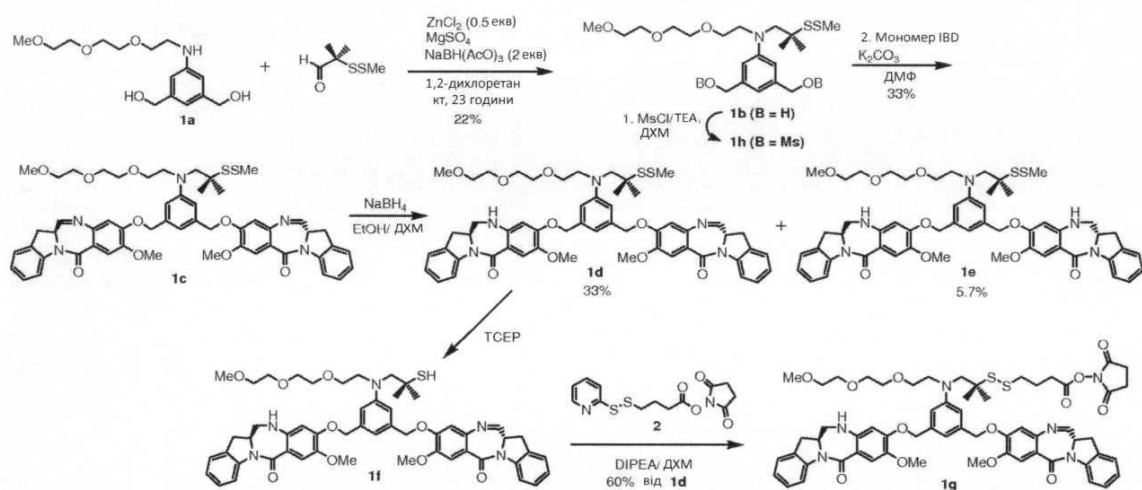
114. Спосіб за будь-яким із пп. 111-113, який **відрізняється** тим, що зазначений другий хіміотерапевтичний агент вводять зазначеному ссавцеві послідовно або один за іншим.

115. Спосіб за будь-яким із пп. 111-114, який **відрізняється** тим, що призначений для лікування стану, вибраного з раку, ревматоїдного артриту, розсіяного склерозу, реакції трансплантат проти хазяїна (РТПХ), відторгнення трансплантата, вовчака, міозиту, інфекції та імунodefіциту.

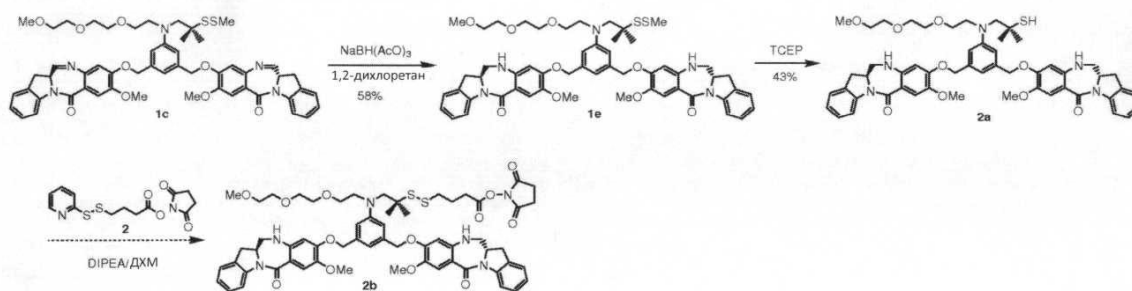
116. Спосіб за будь-яким із пп. 111-115, який **відрізняється** тим, що призначений для лікування раку.

117. Спосіб за п. 115 або 116, який **відрізняється** тим, що рак вибраний з раку молочної залози, раку товстої кишки, раку головного мозку, раку передміхурової залози, раку нирок, раку підшлункової залози, раку яєчників, раку голови та шиї, меланому, раку ободової та прямої кишки, раку шлунка, плоскоклітинного раку, дрібноклітинного раку легень, недрібноклітинного раку легень, карциноми з клітин Меркеля, гліобластоми, нейробластоми, злоякісних захворювань лімфатичних органів і гематологічних злоякісних новоутворень, включаючи лейкоз (гострий лімфобластний лейкоз (ГЛЛ), гострий мієлобластний лейкоз (ГМЛ), хронічний лімфоцитарний лейкоз (ХЛЛ), хронічний мієлолейкоз (ХМЛ), гострий моноцитарний лейкоз (AMOL), волосатоклітинний лейкоз (ВКЛ), Т-клітинний пролімфоцитарний лейкоз (Т-ПЛЛ), крупноклітинний гранулолімфоцитарний лейкоз, Т-клітинний лейкоз дорослих), лімфому (дрібноклітинну лімфоцитарну лімфому (SLL), ходжкінську лімфому (з нодулярним склерозом, змішаноклітинну, багату лімфоцитами, збіднену або незбіднену лімфоцитами і нодулярну ходжкінську лімфому з перевагою лімфоцитів), неходжкінські лімфоми (усіх підтипів), хронічний лімфоцитарний лейкоз/дрібноклітинну лімфоцитарну лімфому, В-клітинний пролімфоцитарний лейкоз, лімфоплазмоцитарну лімфому (наприклад, макроглобулінемію Вальденстрема), лімфому з клітин крайової зони селезінки, плазмоцитарні новоутворення (плазмаклітинну мієлому, плазмацитому, хвороби відкладання моноклональних імуноглобулінів, хвороби важких ланцюгів), екстранодальну В-клітинну лімфому з клітин крайової зони (MALT-лімфому), В-клітинну лімфому з клітин крайової зони лімфовузлів (NMZL), фолікулярну лімфому, лімфому з клітин мантийної зони, дифузійну крупноклітинну В-клітинну лімфому, крупноклітинну В-клітинну лімфому середостіння (тимусу), внутрішньосудинну крупноклітинну В-клітинну лімфому, первинну випітну лімфому, лімфому/лейкоз Беркіта, Т-клітинний пролімфоцитарний лейкоз, Т-клітинний крупноклітинний гранулолімфоцитарний лейкоз, агресивний NK-клітинний лейкоз, Т-клітинний лейкоз/лімфому дорослих, екстранодальну NK/Т-клітинну лімфому (назального типу), Т-клітинну лімфому ентеропатичного типу, печінково-селезінкову Т-клітинну лімфому, бластну NK-клітинну лімфому, фунгоїдну гранулему/синдром Сезарі, первинні шкірні CD30-позитивні Т-клітинні лімфопроліферативні розлади, первинну шкірну анапластичну крупноклітинну лімфому, лімфоматоїдний папулоз, ангіоімунобластну Т-клітинну лімфому, периферичну Т-клітинну лімфому (невизначену), анапластичну крупноклітинну лімфому, множинну мієлому (плазмаклітинну мієлому або хворобу Калера).

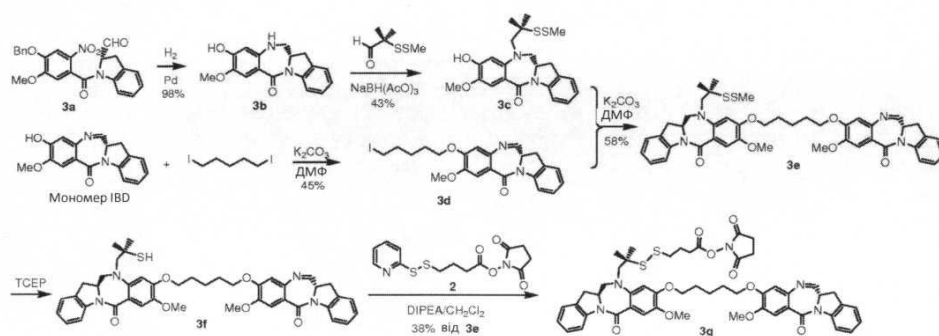
Фігура 1. Схема синтезу лінкера 1b і димерів 1d-g



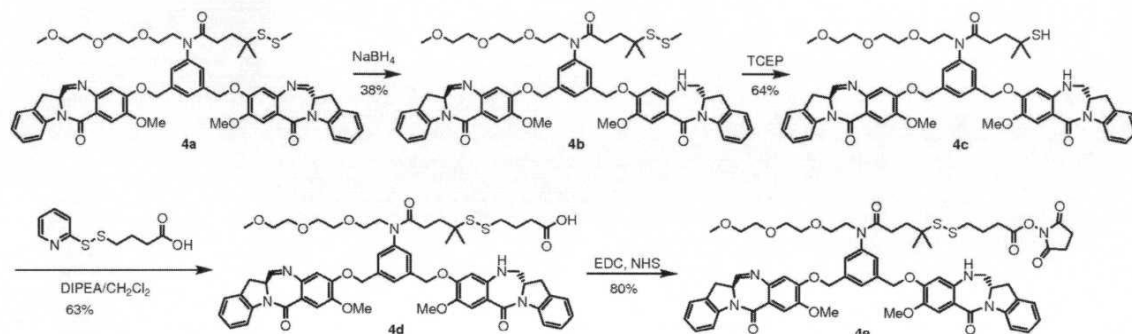
Фігура 2. Схема синтезу димерів 2a-b



Фігура 3. Схема синтезу димерів 3e-g

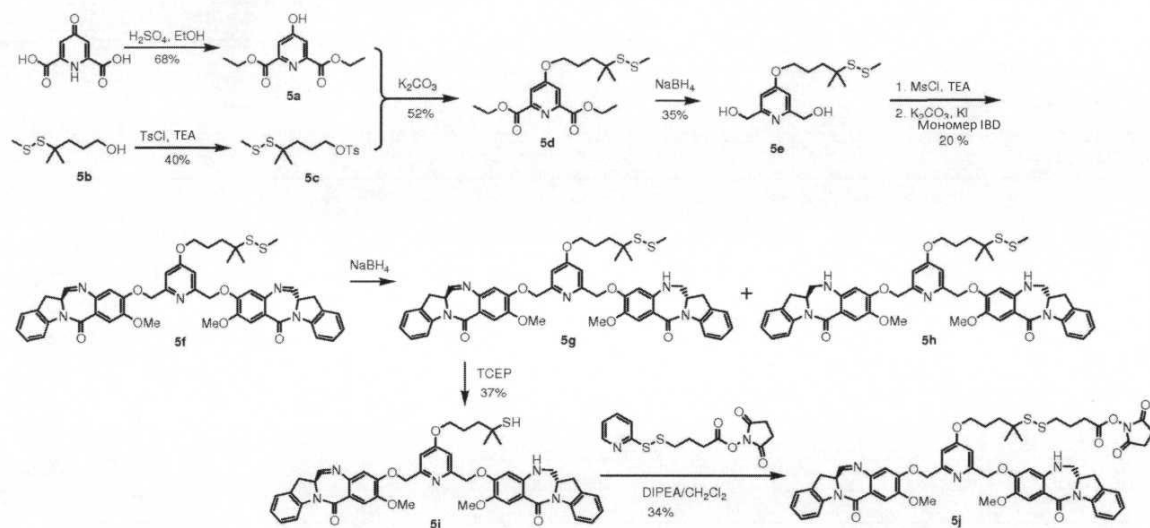


Фігура 4. Схема синтезу димерів 4b-e

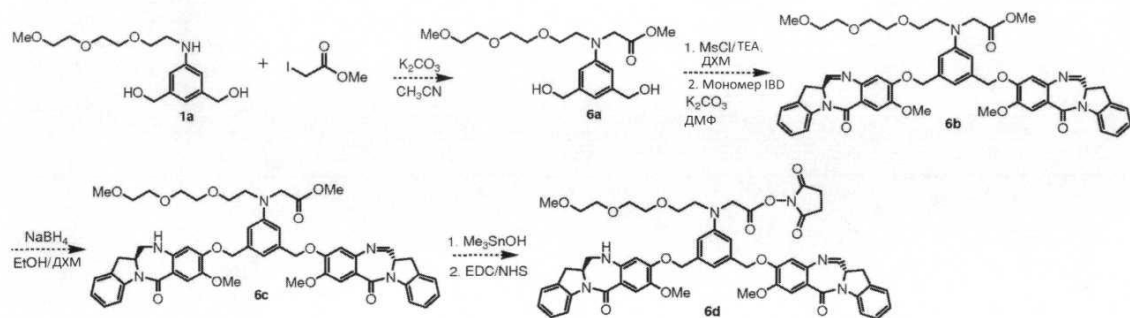




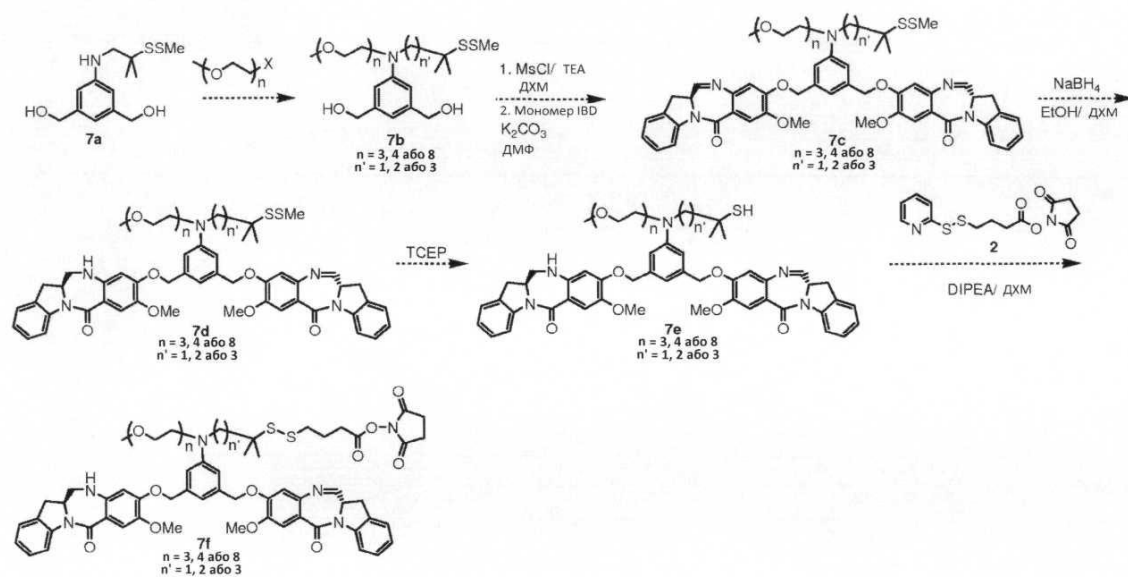
Фігура 5. Схема синтезу лінкера 5e та димерів 5g-j



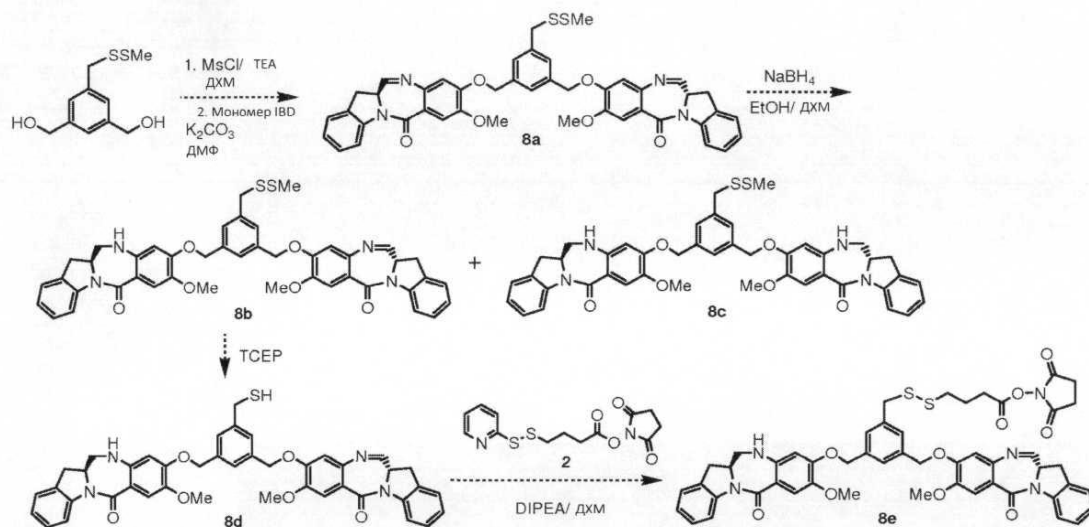
Фігура 6. Схема синтезу лінкера 6a та димерів 6c-d



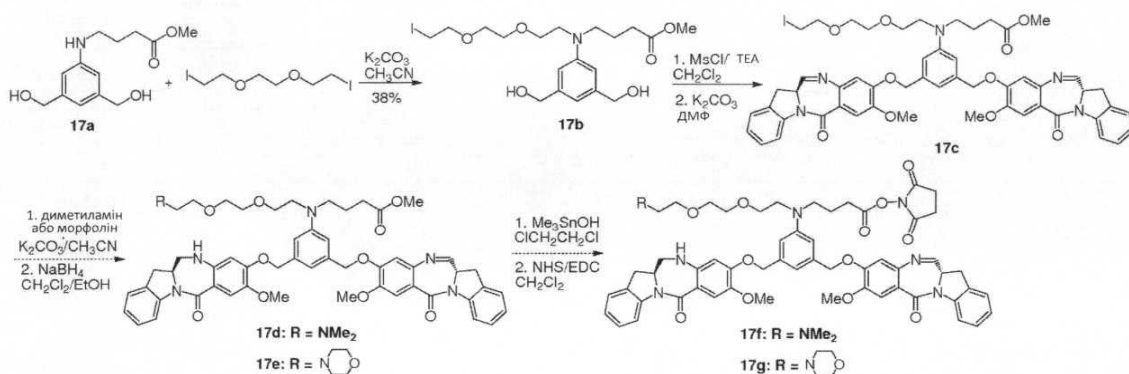
Фігура 7. Схема синтезу ПЕГ-модифікованих лінкерів 7b та димерів 7d-f



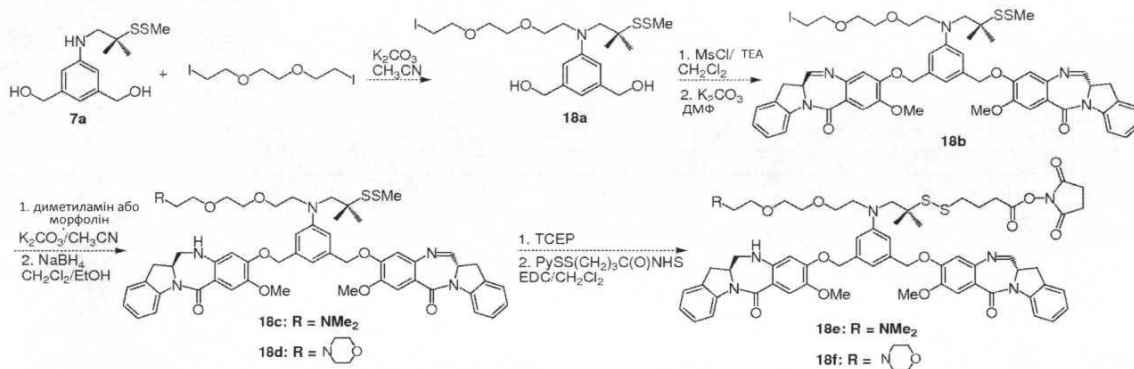
Фігура 8. Схема синтезу димерів 8b-e, що містять тиол



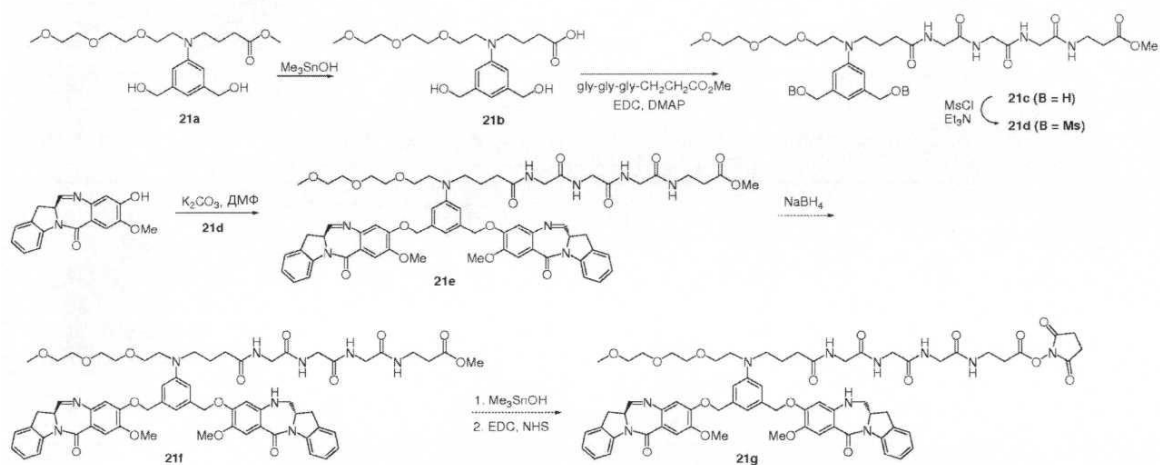
Фігура 9. Схема синтезу димерів 17d-g, що містять третинний амін



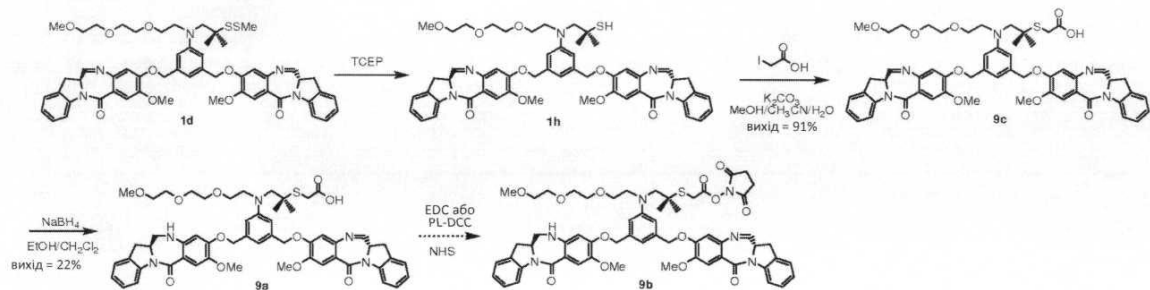
Фігура 10. Схема синтезу димерів 18c-f, що містять третинний амін



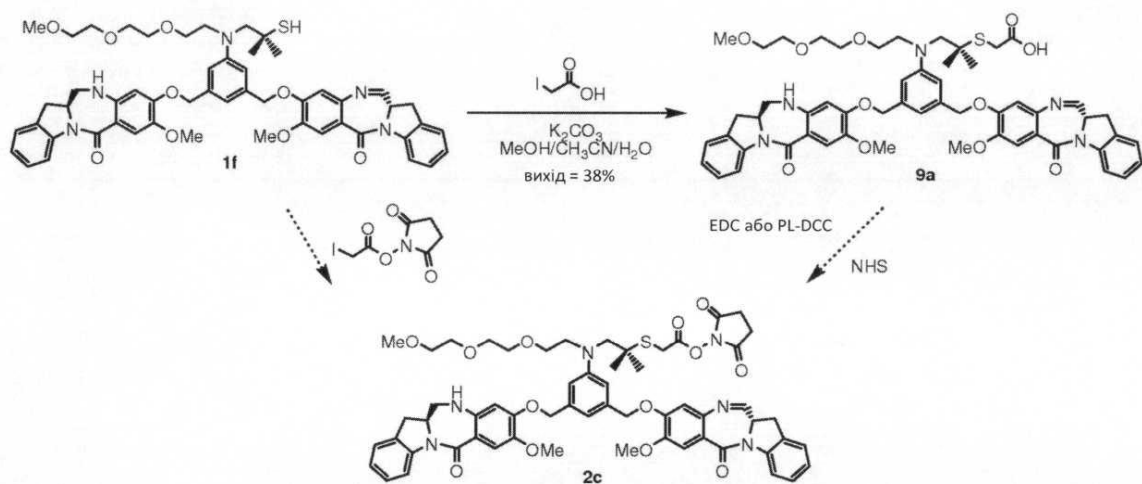
Фігура 11. Схема синтезу димерів 21f-g, що містять пептидний лінкер



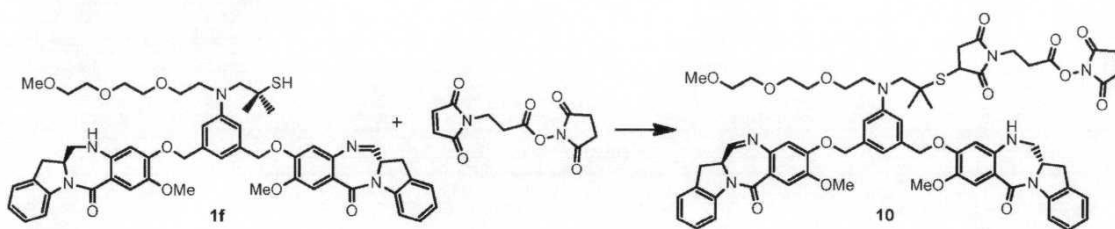
Фігура 12a. Схема синтезу димерів 9a-b для одноетапного приєднання через тіоацетильну групу



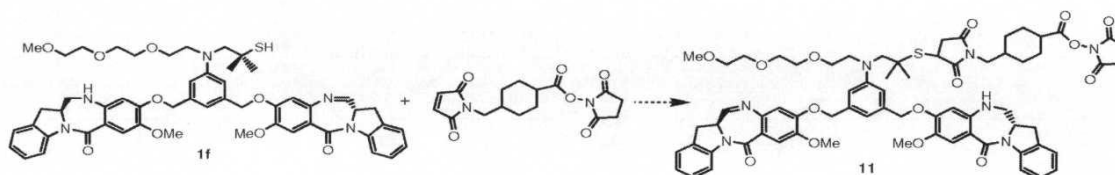
Фігура 12b. Альтернативна схема синтезу димерів 9a-b для одноетапного приєднання через тіоацетильну групу



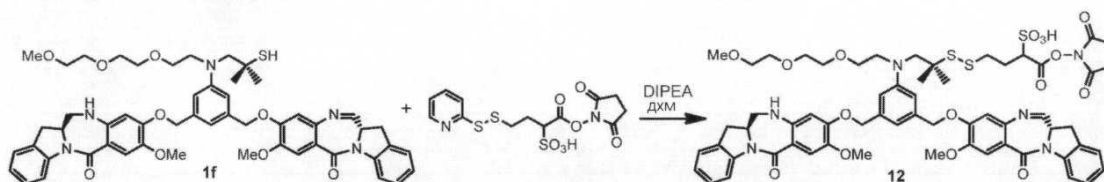
Фігура 13. Схема синтезу димера 10 для одноетапного приєднання через BMPS



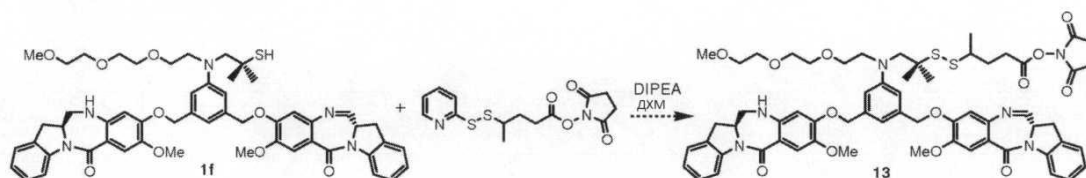
Фігура 14. Схема синтезу димера 11 для одноетапного приєднання через SMCC



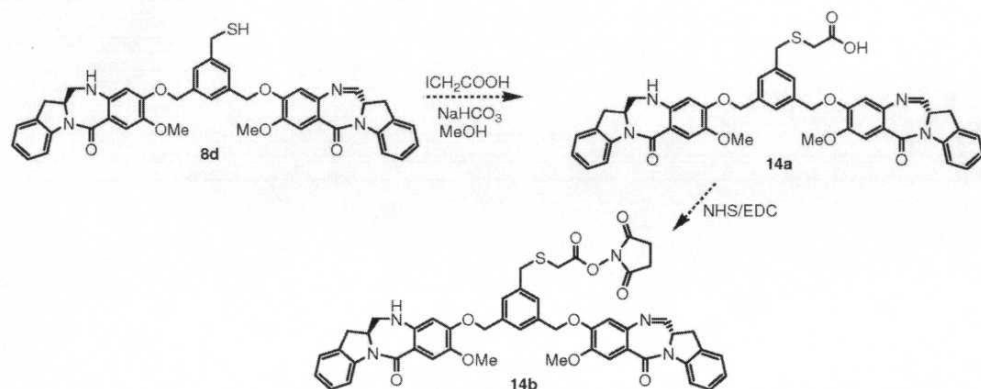
Фігура 15. Схема синтезу димера 12 для одноетапного приєднання через сульфо-SPDB



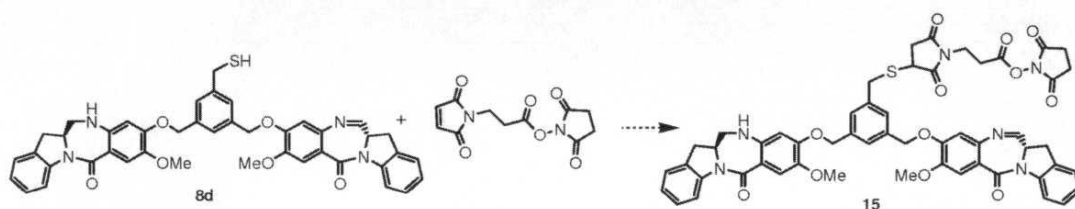
Фігура 16. Схема синтезу димера 13 для одноетапного приєднання через SPP



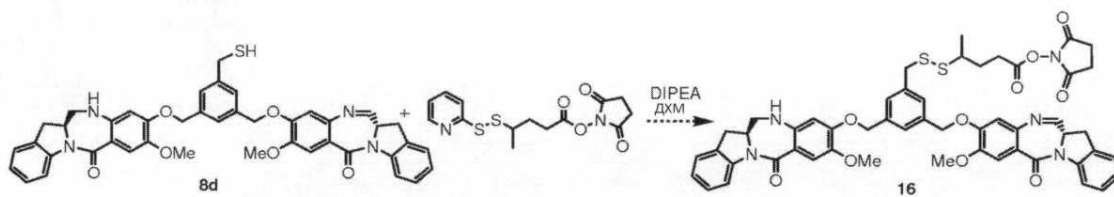
Фігура 17. Схема синтезу димерів 14a-b для одноетапного приєднання через тіоацетильну групу



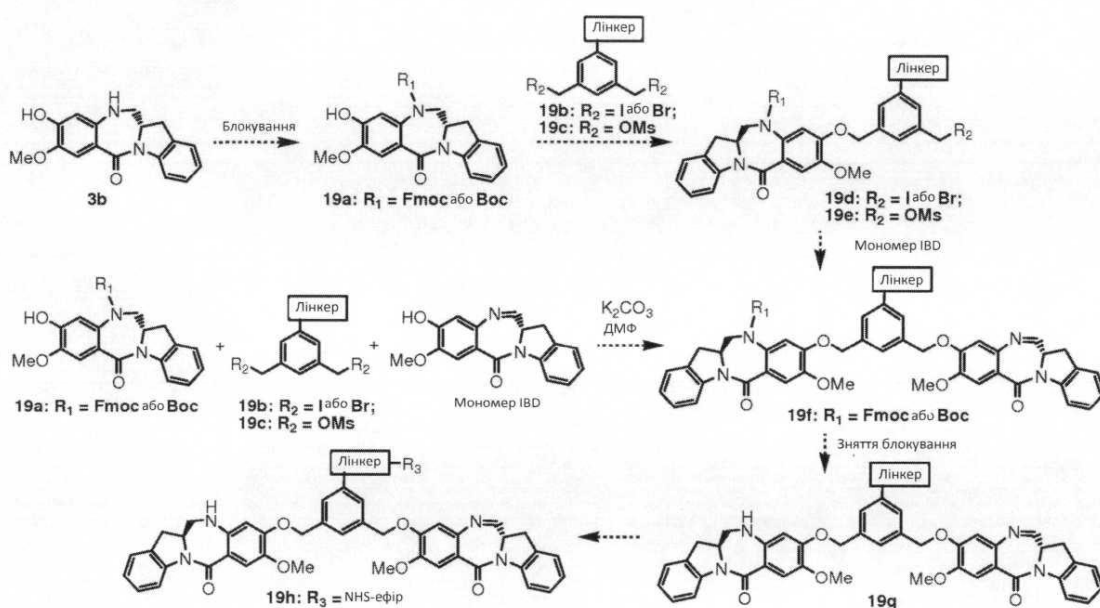
Фігура 18. Схема синтезу димера 15 для одноетапного приєднання через BMPS



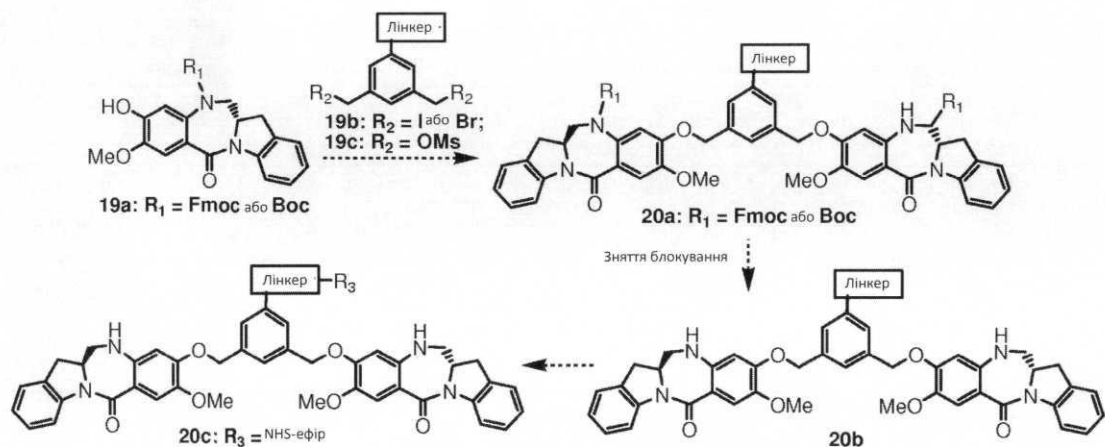
Фігура 19. Схема синтезу димера 16 для одноетапного приєднання через SPP



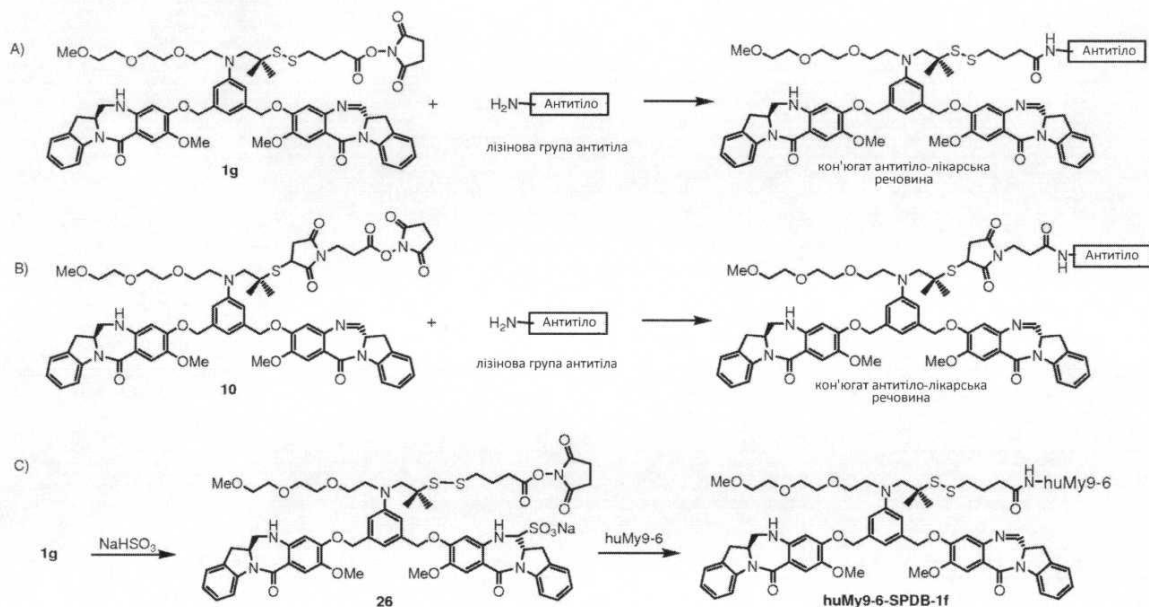
Фігура 20. Схема двоетапного синтезу моноімінового димера



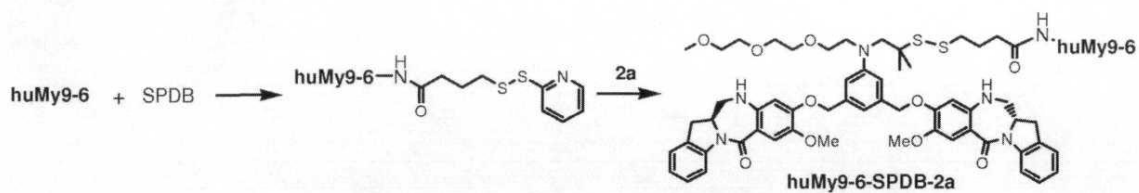
Фігура 21. Схема двоетапного синтезу дівідновленого димера



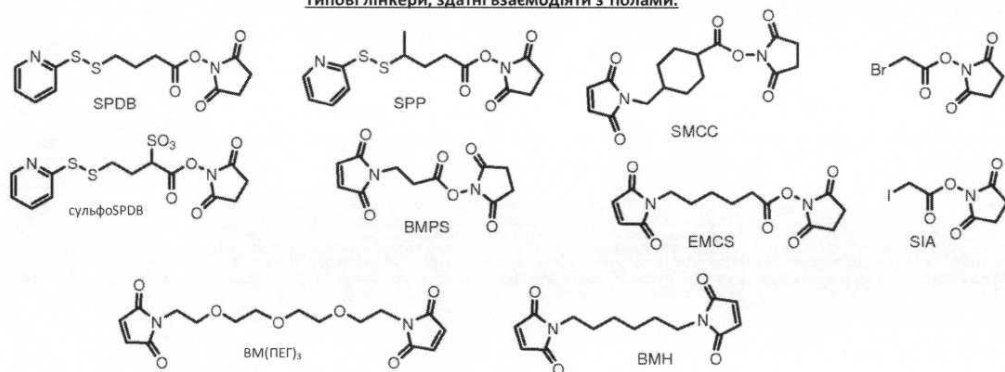
Фігура 22. Схема одноетапного кон'югування



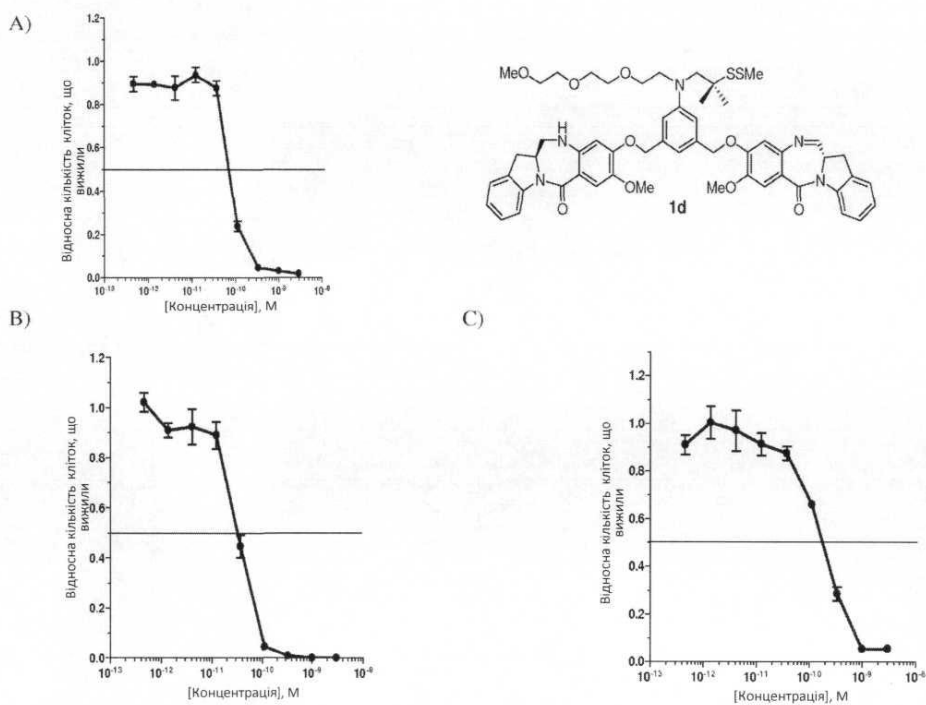
Фігура 23. Двоетапна схема кон'югування



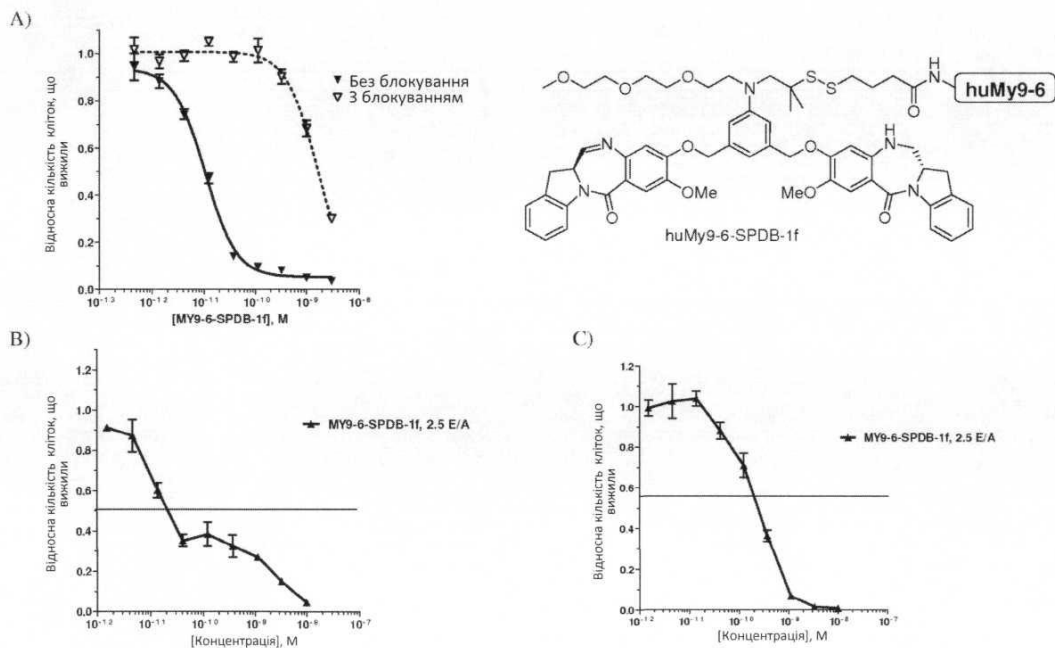
Типові лінкери, здатні взаємодіяти з тіолами:



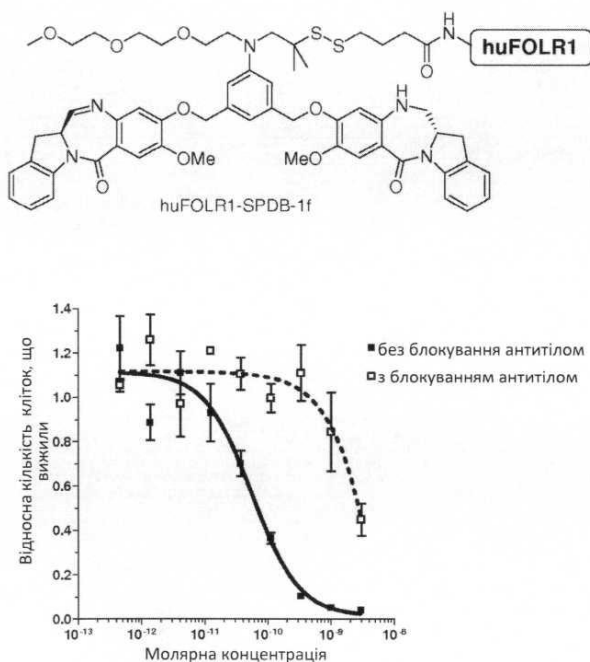
Фігура 24. Антипроліферативна активність метилдітіо-димера 1d по відношенню до (А) клітинам Namalwa, (В) клітинам HL60/QC та (С) клітинам KB



Фігура 25. Антипроліферативна активність huMY9-6-SPDB-1f по відношенню до (А) клітинам HL60/QC ( $Ag^+$ ) з та без блокування антигензв'язуючих сайтів, (Б) клітинам HL60/ATCC ( $Ag^+$ ) и (В) клітинам NB-4 ( $Ag^+$ )

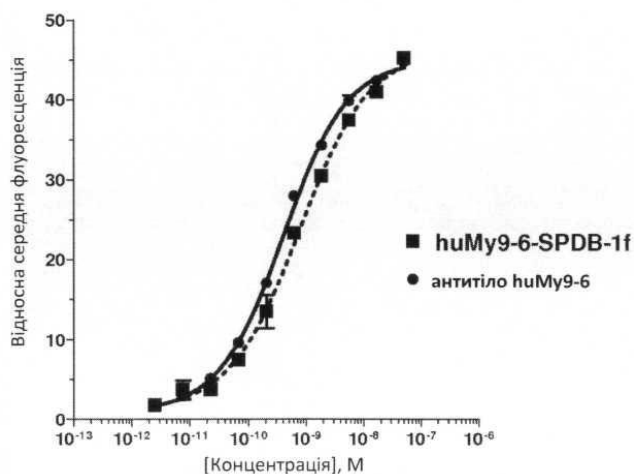
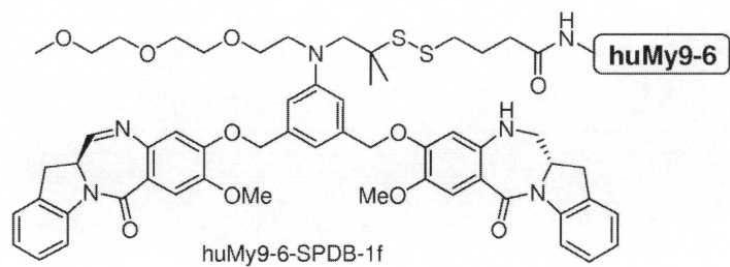


Фігура 26. Антипроліферативна активність huFOLR1-SPDB-1f по відношенню до клітин KB ( $Ag^+$ ) з та без блокування антигензв'язуючих сайтів

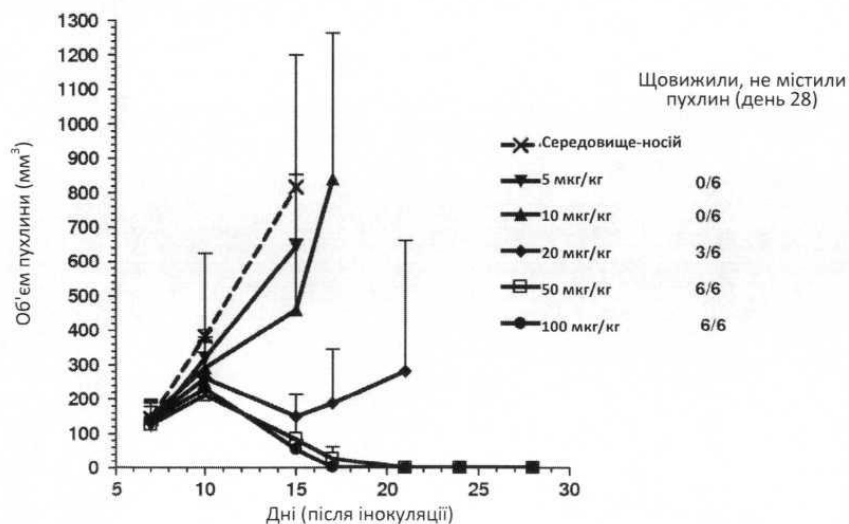
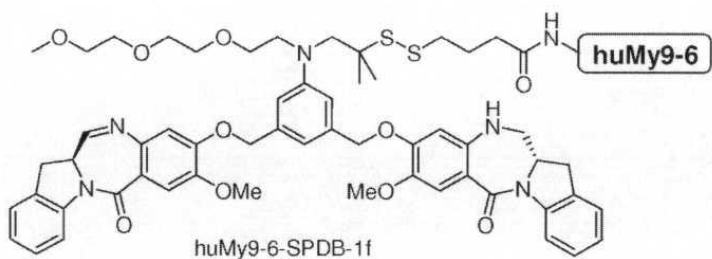




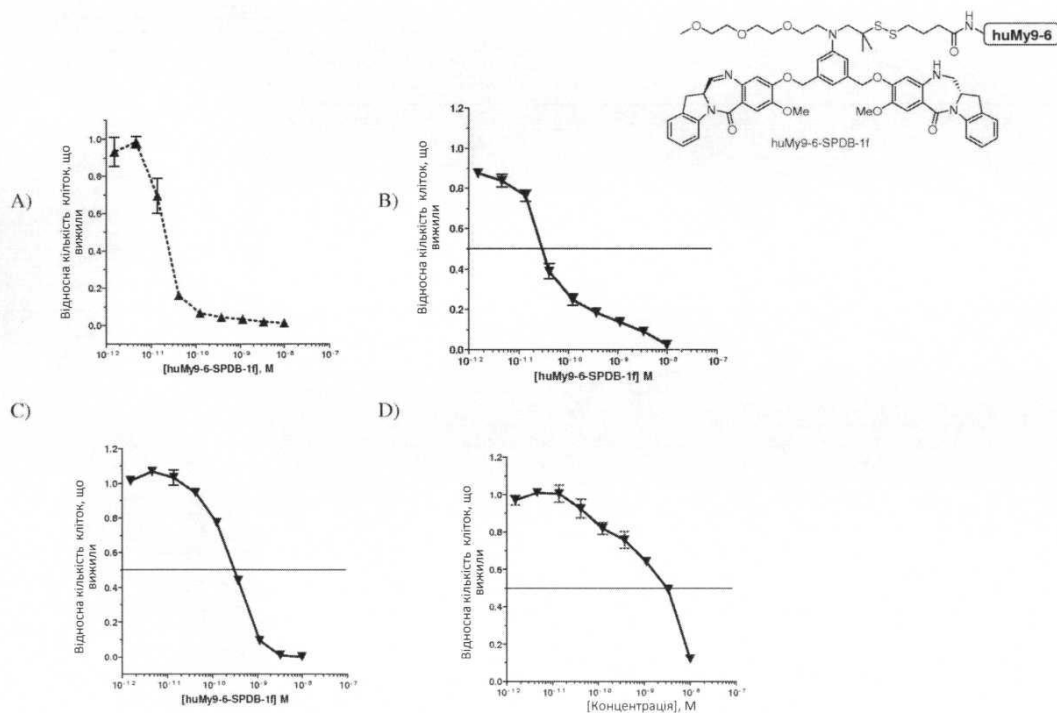
Фігура 27. Спорідненість зв'язування huMy9-6-SPDB-1f (FACS-аналіз)



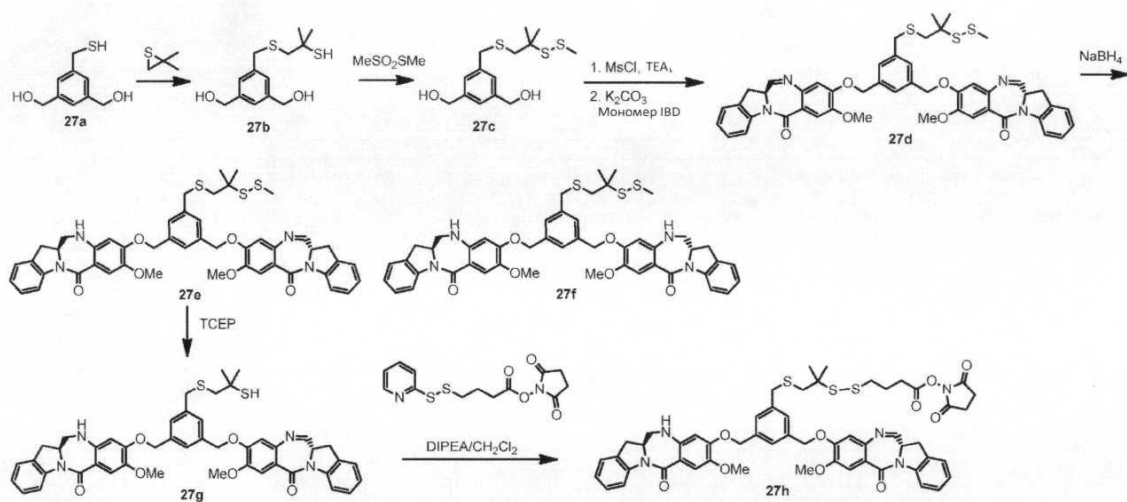
Фігура 28. Ефективність huMy9-6-SPDB-1f in vivo на голих мишах, що несуть пухлині HL60/QC



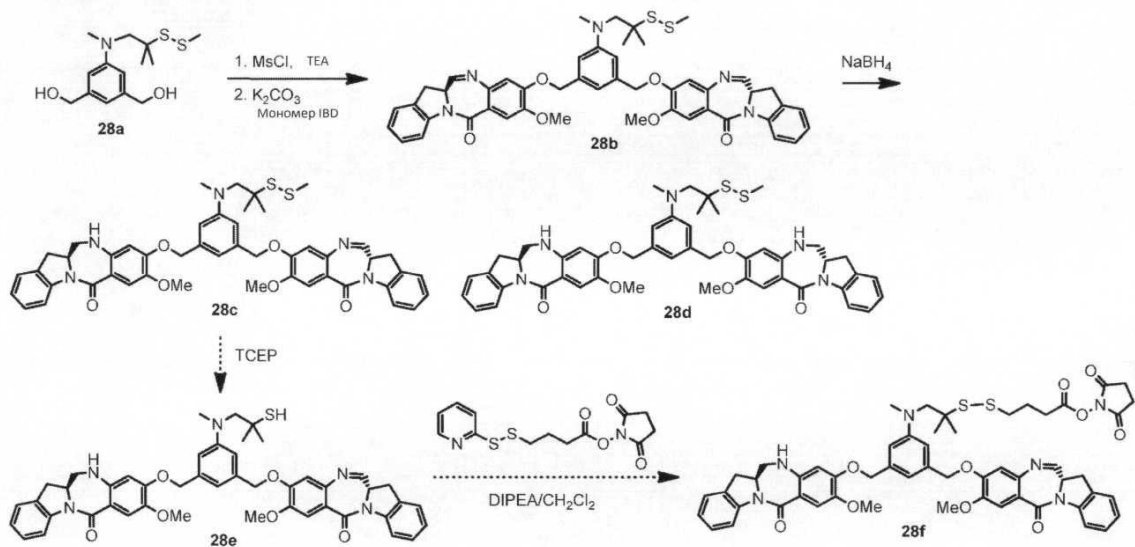
Фігура 29. Антипроліферативна активність huMY9-6-SPDB-1f по відношенню до лінії антиген-позитивних (A) клітин HL60/QC, (B) клітин HL60/ATCC, (C) клітин NB-4 та клітин HEL 92.1.7 (D)



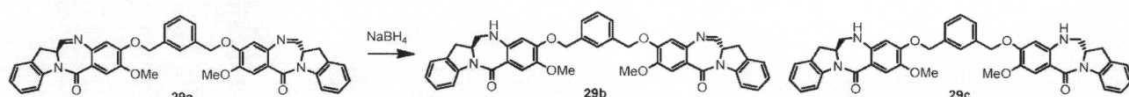
Фігура 30. Схема синтезу лінкерних дисульфідів 27e-h, що містять тіоєфір



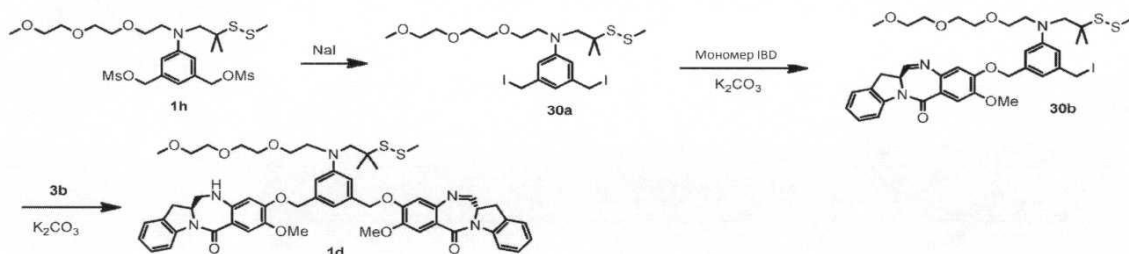
Фігура 31. Схема синтезу димерів 28с-ф



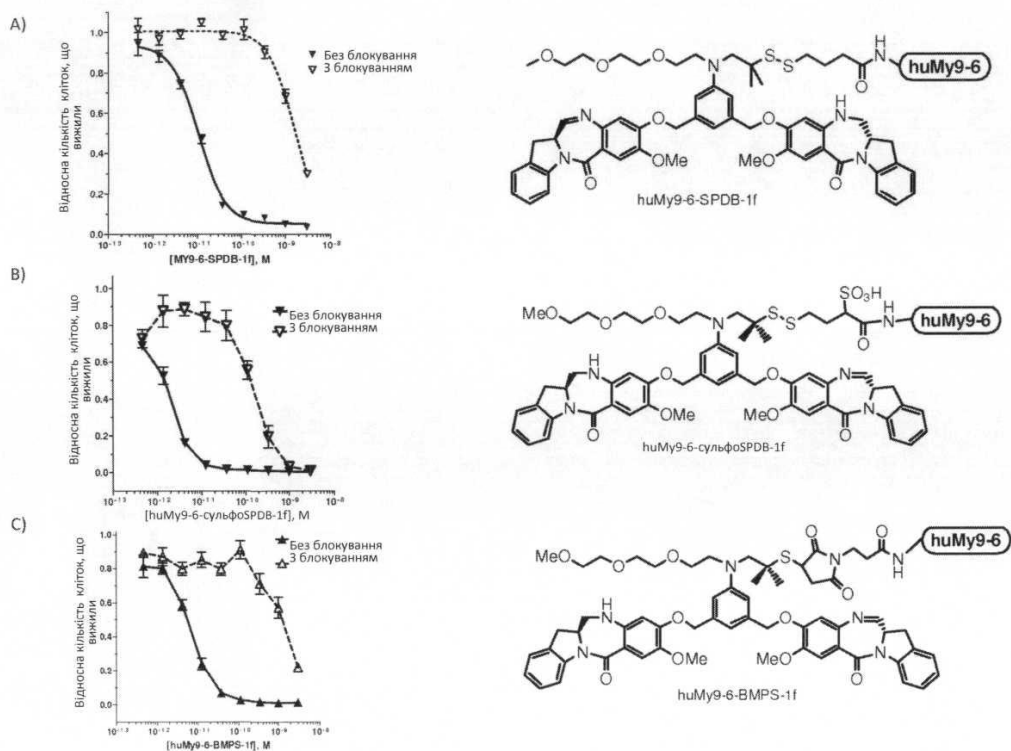
Фігура 32. Схема синтезу димерів 29b-с, що приєднані через феніл



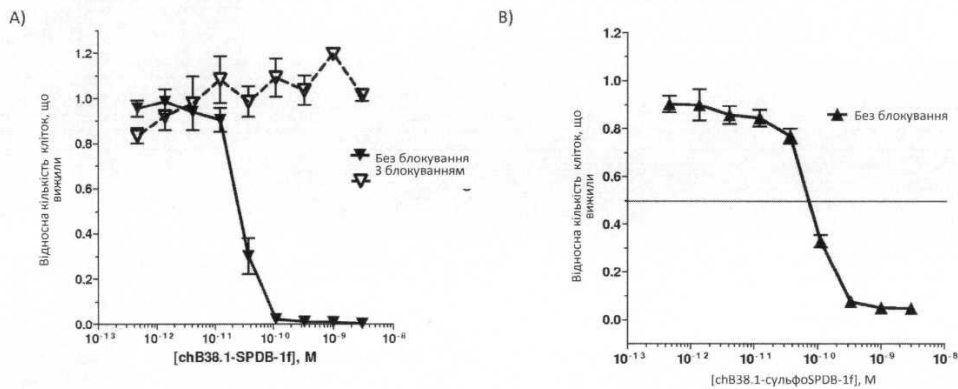
Фігура 33. Альтернативний двоетапний синтез моноімінового димера



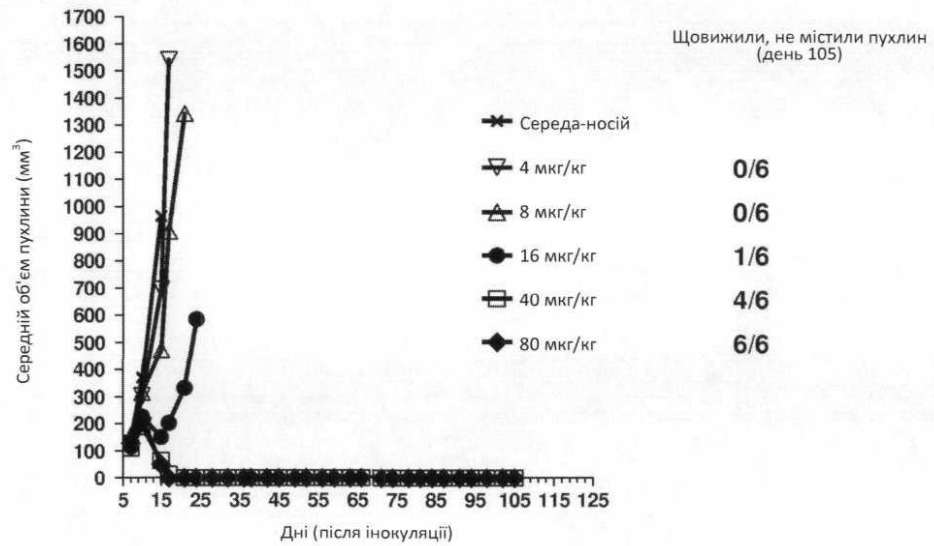
Фігура 34. Порівняльна антипроліферативна активність (А) huMy9-6-SPDB-1f, (В) huMy9-6-сульфоSPDB-1f та (С) huMy9-6-BMPS-1f по відношенню до клітин HL60/QC ( $Ag^+$ ) з та без блокування антиген-зв'язуючих сайтів



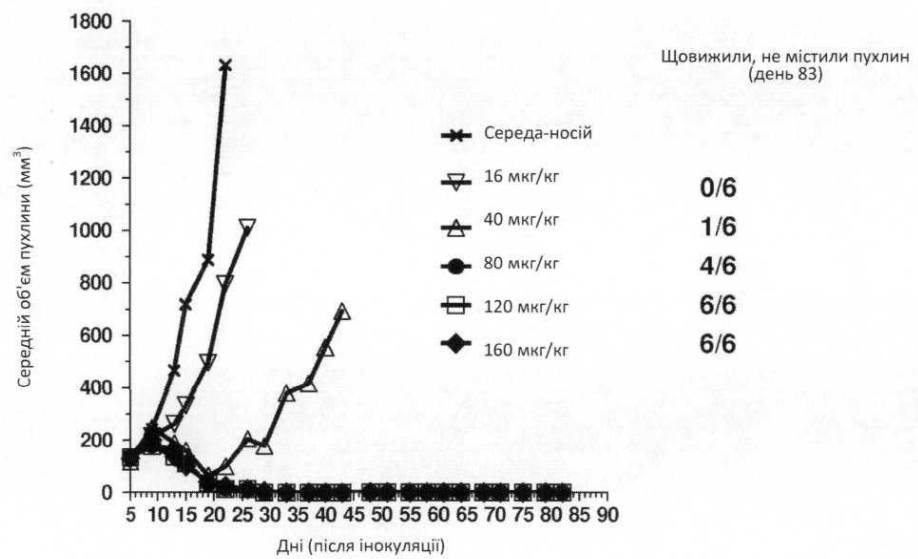
Фігура 35. Порівняльна антипроліферативна активність (А) chB38.1-SPDB-1f та (В) chB38.1-сульфоSPDB-1f по відношенню до клітин COLO205 ( $Ag^+$ ).



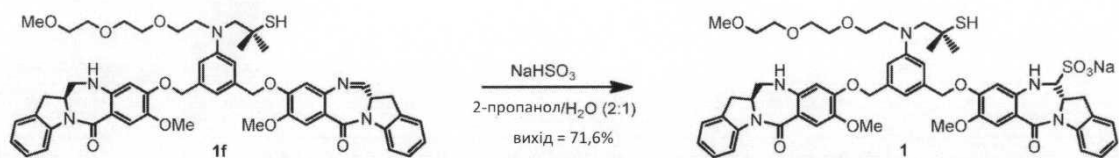
Фігура 36. Ефективність huMy9-6-SPDB-1f *in vivo* на мишах, що несуть пухлини HL60/QC



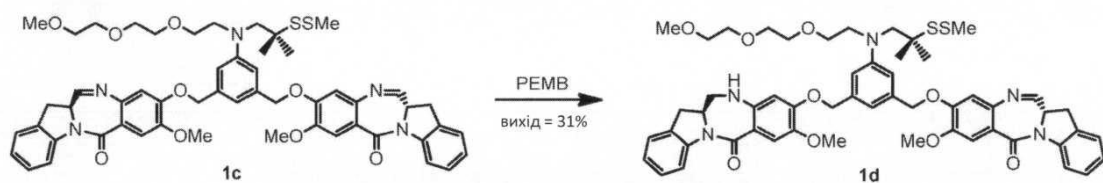
Фігура 37. Ефективність huFOLR1-SPDB-1f *in vivo* на мишах, що несуть пухлини KB.



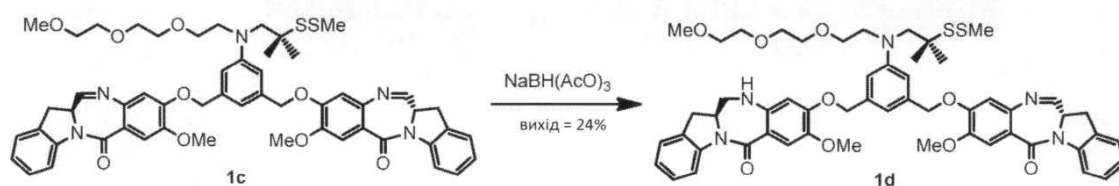
Фігура 38. Схема синтезу з'єднання 1



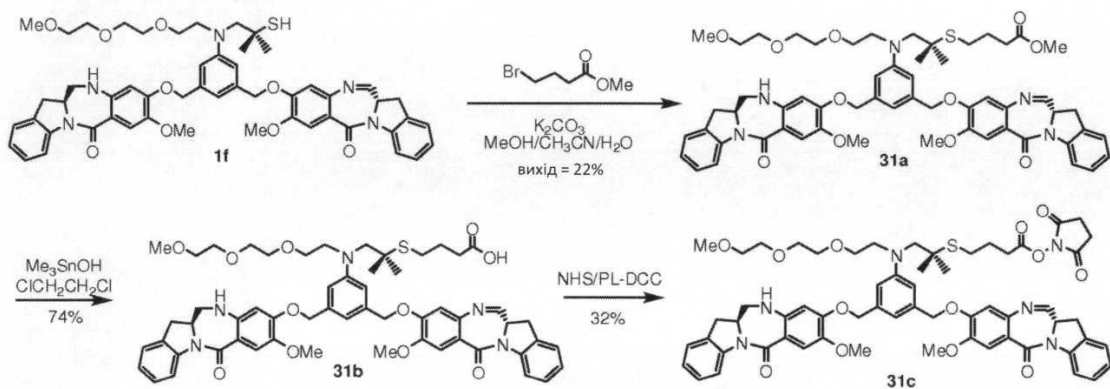
Фігура 39. Схема синтезу з'єднання 1 з 5-етіл-2-метилпірідінбораном (PEMB)



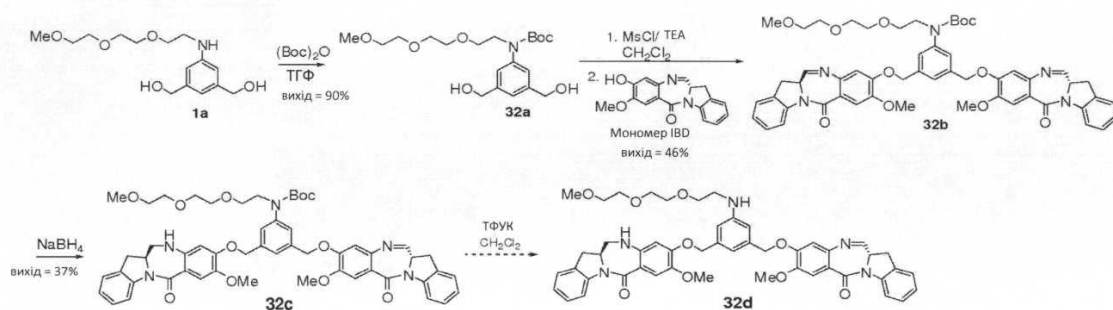
Фігура 40. Схема синтезу з'єднання 1 з триацетоксборгидридом натрію (STAB)



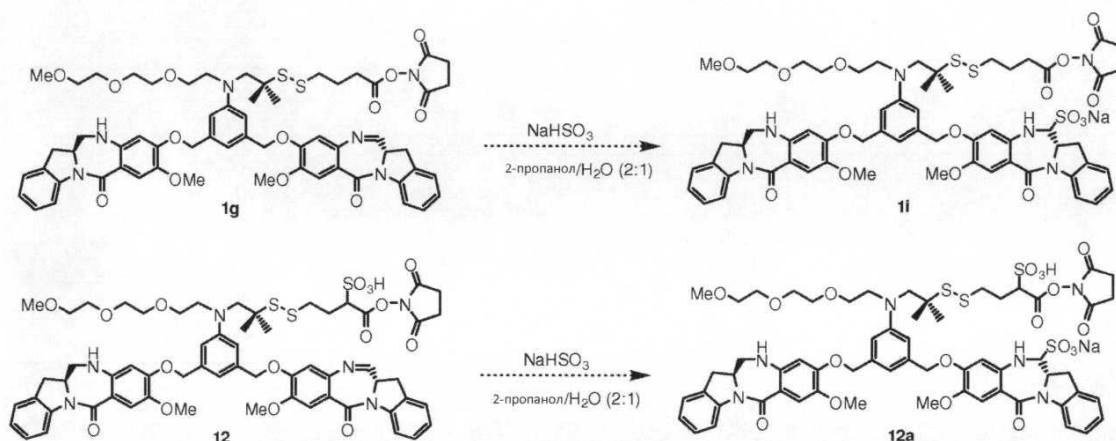
Фігура 41. Схема синтезу з'єднання 31a-с.



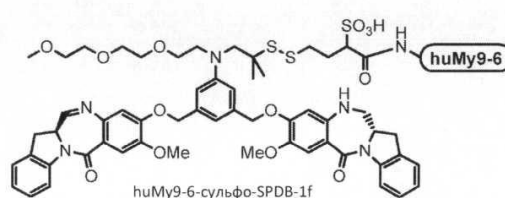
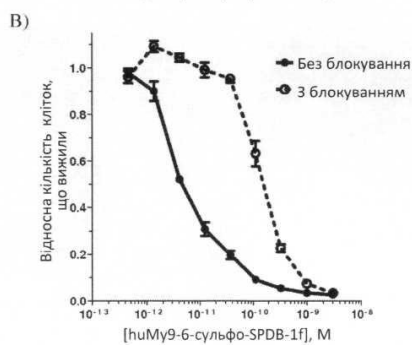
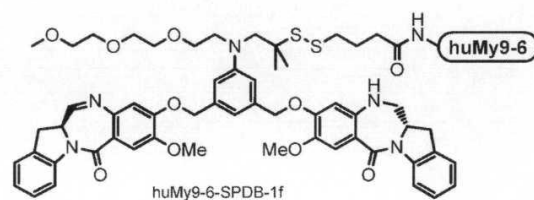
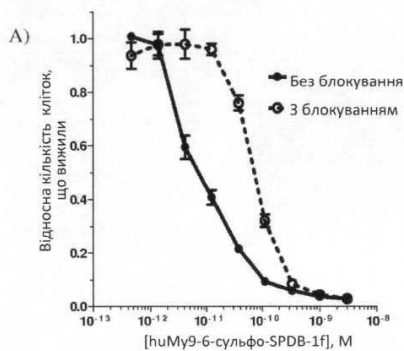
Фігура 42. Схема синтезу з'єднання 32d

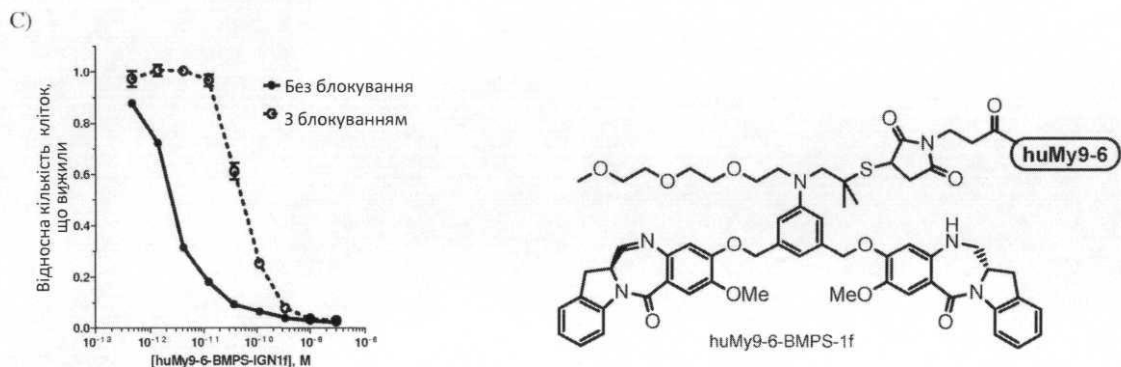


Фігура 43. Схема синтезу з'єднань 1i та 12a

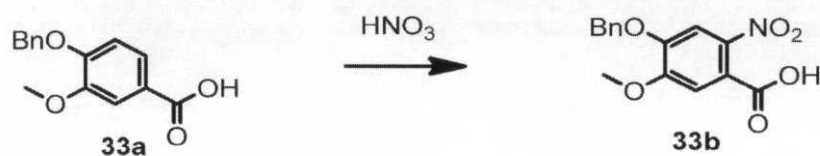


Фігура 44. Порівняльна антипроліферативна активність (А) huMy9-6-SPDB-1f, (В) huMy9-6-сульфоSPDB-1f та (С) huMy9-6-BMPS-1f по відношенню до клітин OCI-AML3 ( $\text{Ag}^+$ ) з та без блокування антиген-зв'язуючих сайтів

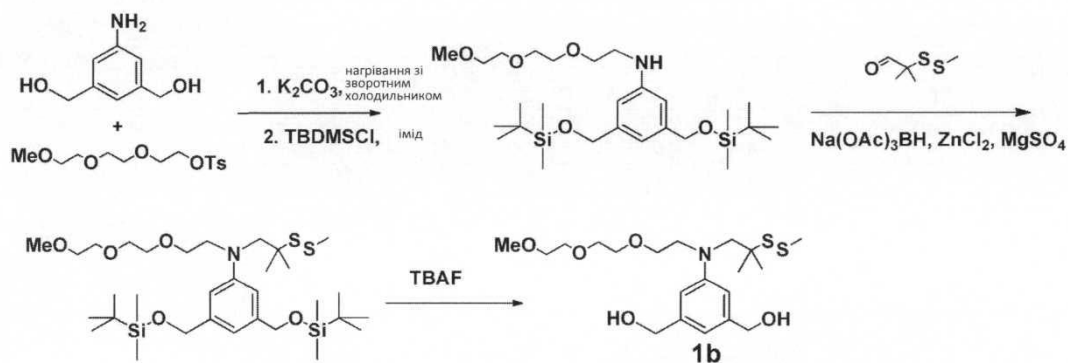




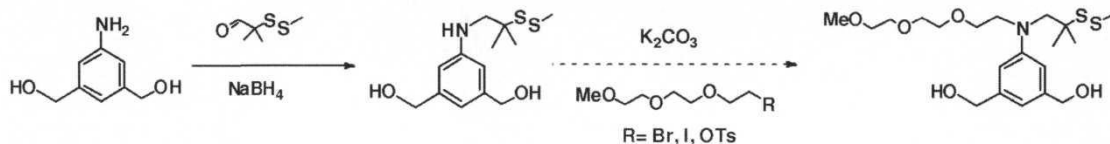
Фігура 45. Альтернативний синтез 4-(бензилоксі)-5-метоксі-2-нітробензойної кислоти, що використовується при отриманні мономера IBD.



Фігура 46. Альтернативний синтез 5-((2-(2-(2-метоксіетоксі)етоксі)етил)(2-метил-2-(метилдисульфаніл)пропил)аміно)-1,3-фенілен)диметанола (1b)

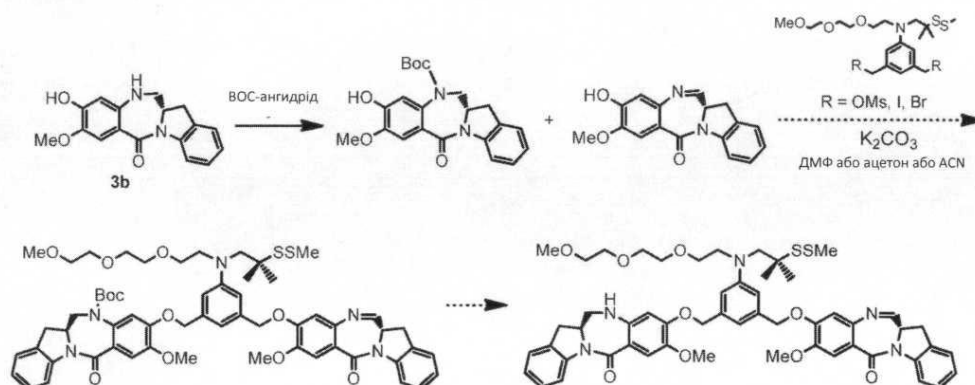


Фігура 47. Альтернативний синтез 5-((2-(2-(2-метоксіетоксі)етоксі)етил)(2-метил-2-(метилдисульфаніл)пропил)аміно)-1,3-фенілен)диметанола (1b)





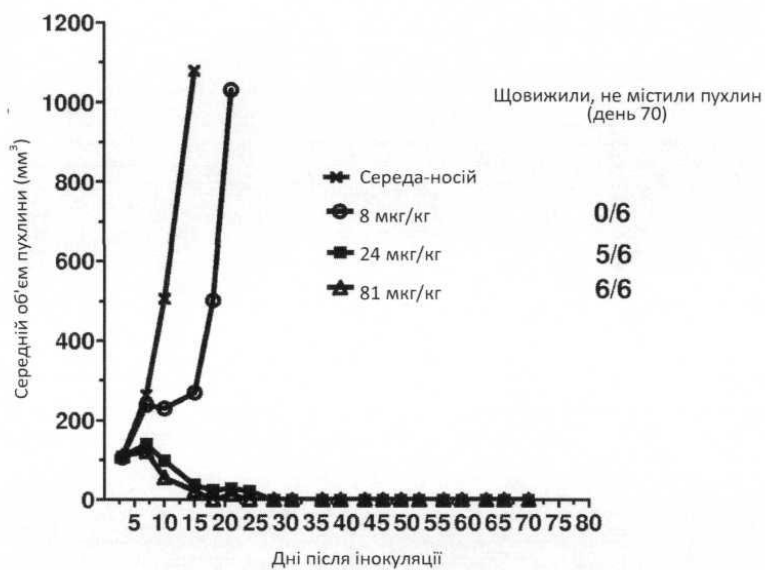
Фігура 48. Альтернативна схема двоетапного синтезу моноімінового димера



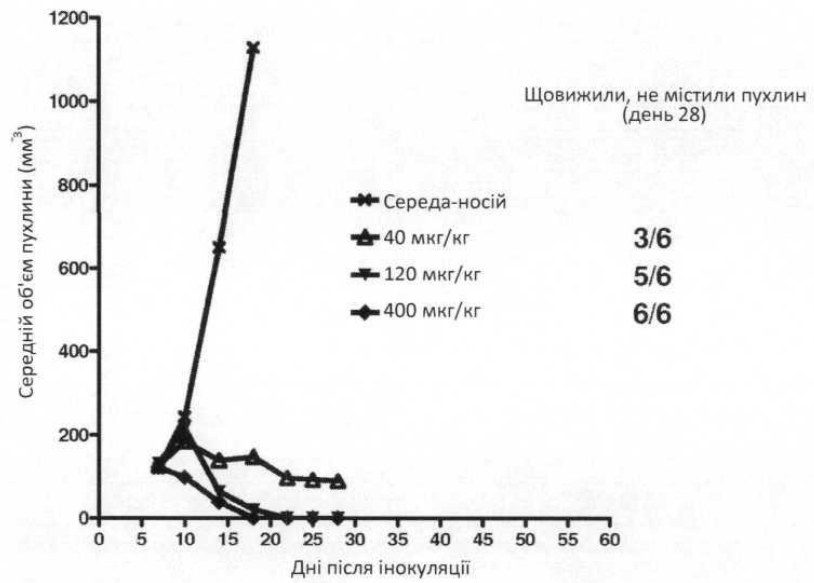
Фігура 49. Активність кон'югатів по відношенню до різних ліній клітин, обмірювана як значення  $IC_{50}$  (нМ)

кон'югат	HL60/QC	MOLM-13	NB4	HEL92.1.7	OCI-AML3
huMy9-6-SPDB-1f	0.005	0.003	0.3	0.5	0.01
huMy9-6-сульфо-SPDB-1f	0.006	0.002	0.4	0.05	0.008
huMy9-6-BMPS-1f	0.003	0.001	0.04	0.04	0.003

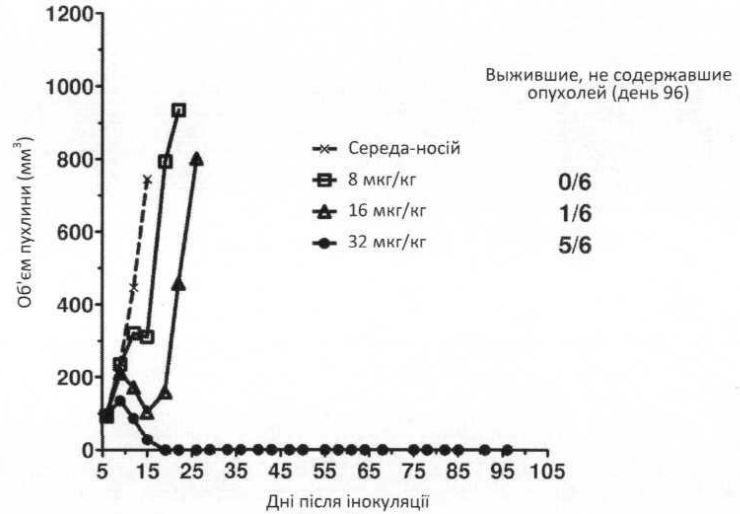
Фігура 50. Ефективність huMy9-6-сульфо-SPDB-1f *in vivo* на мишах, що несуть пухлини MOLM-13



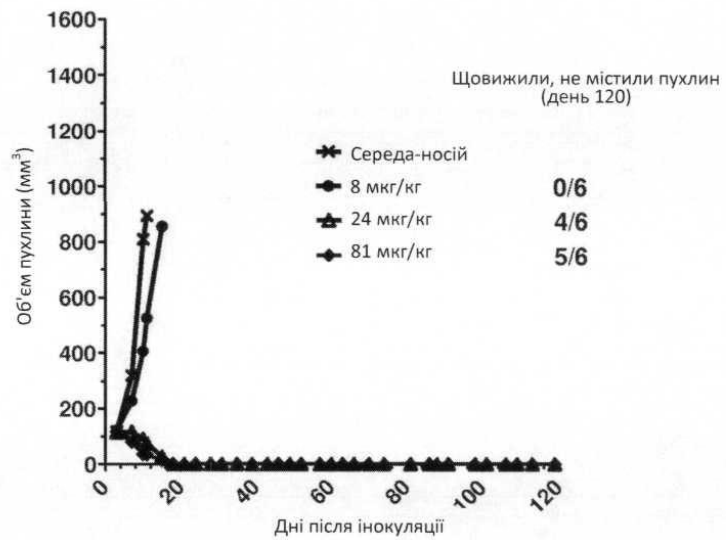
Фігура 51. Ефективність huMy9-6-сульфо-SPDB-1f *in vivo* на мишах, що несуть пухлини NB4



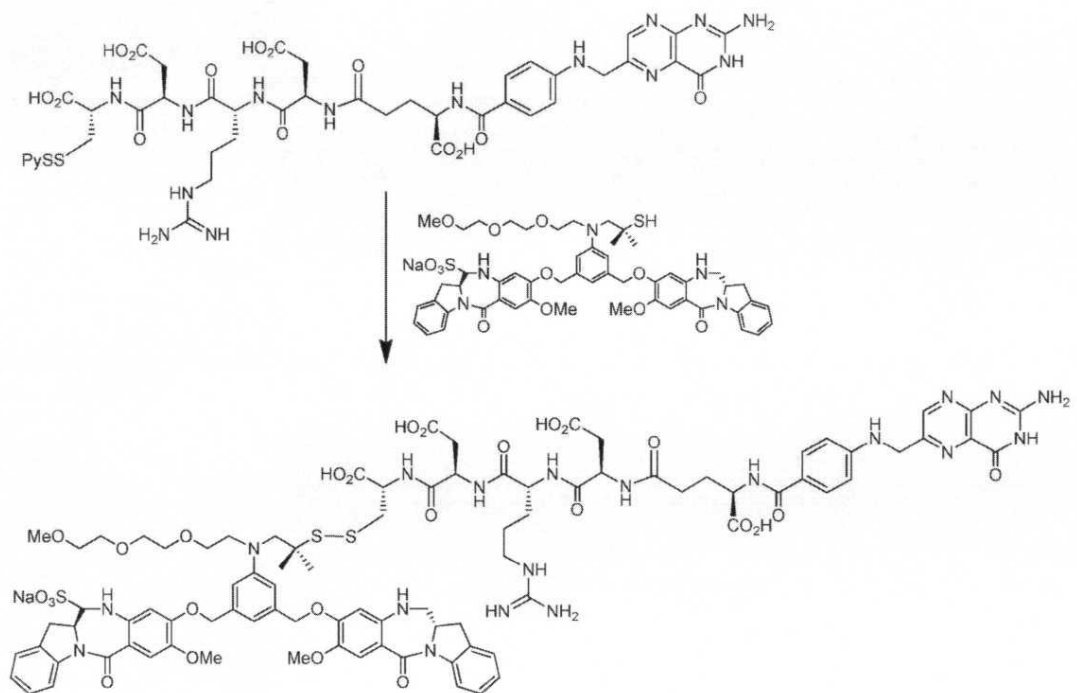
Фігура 52. Ефективність huMy9-6-BMPS-1f *in vivo* на мишах, що несуть пухлини HL60/QC



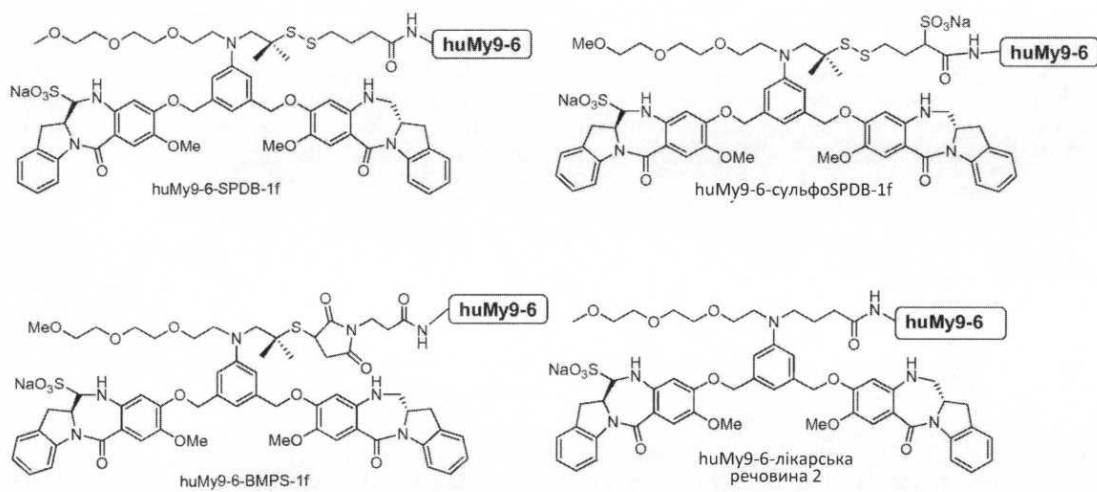
Фігура 53. Ефективність huMy9-6-BMPS-1f *in vivo* на мишах, що несуть пухлини MOLM-13



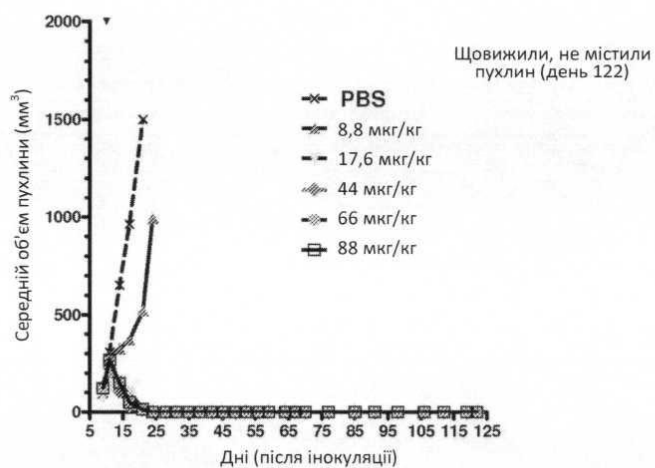
Фігура 54. Типова схема синтезу кон'югата сульфійований фолат/цитотоксичне з'єднання



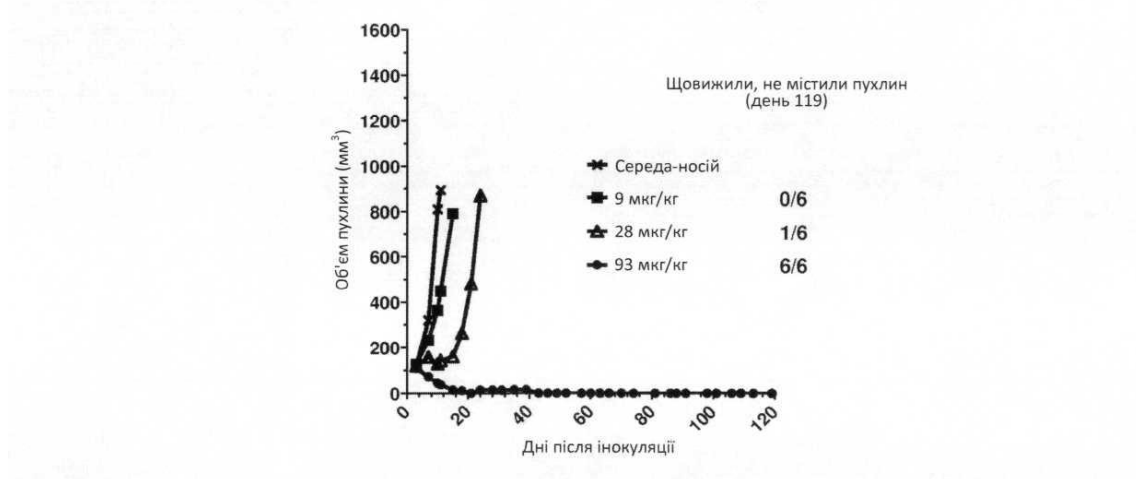
Фігура 55. Структури декількох сульфійованих кон'югатів лікарська речовина- антитіло (huMy9-6)



Фігура 56. Ефективність huMy9-6-лікарська речовина 2 *in vivo* на мишах, що несуть пухлини HL60/QC

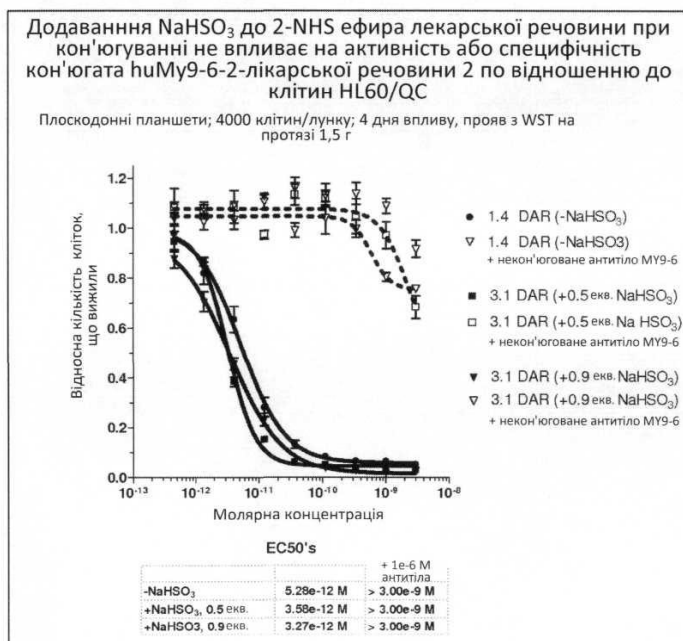


Фігура 57. Ефективність huMy9-6-лікарська речовина 2 in vivo на мишах, що несуть пухлини MOLM-13



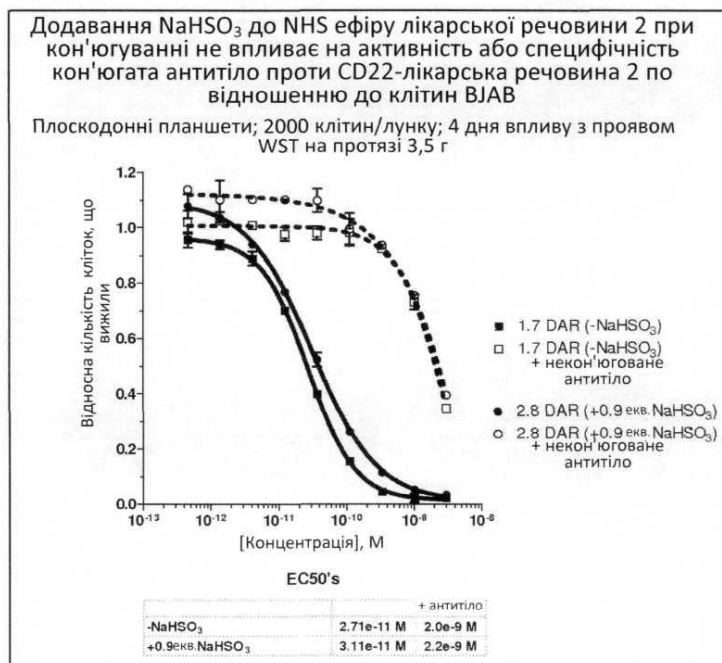
Фігура 58.

Кон'югати HuMy9-6-2, отримані без та з використанням бісульфіта натрію, що демонструють аналогічну цитотоксичність in vitro по відношенню до клітин HL60, що експресують антиген CD33

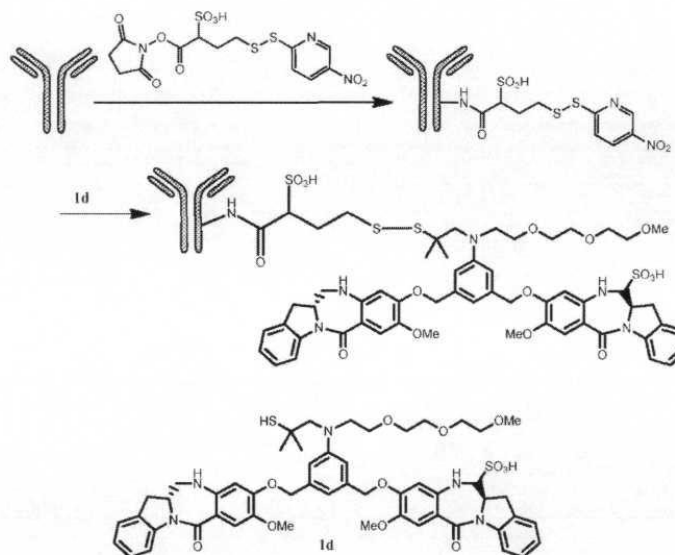


Фігура 59.

Кон'югати антитіло проти CD22-лікарська речовина 2, отримані без та з використанням бісульфіта натрію, демонструють аналогічну цитотоксичність *in vitro* по відношенню до клітин BJAB, що експресують антиген CD22



Фігура 60.



Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601