

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2017117634, 15.02.2012

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

15.02.2011 US 61/443,062;

15.02.2011 US 61/443,092;

06.05.2011 US 61/483,499

(62) Номер и дата подачи первоначальной заявки,  
из которой данная заявка выделена:  
2013142179 16.09.2013(43) Дата публикации заявки: 01.11.2018 Бюл. №  
31

Адрес для переписки:

119019, Москва, Гоголевский б-р, 11, этаж 3,  
"Гоулинг ВЛГ (Интернэшнл) Инк.",  
Парамонова Ксения Витальевна

(71) Заявитель(и):

**ИММУНОДЖЕН, ИНК. (US)**

(72) Автор(ы):

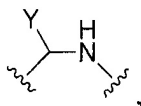
**ФИШКИН Нейтан (US),****МИЛЛЕР Майкл (US),****ЛИ Вей (US),****СИНГХ Раджива (US)**(54) **СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ КОНЬЮГАТОВ**

## (57) Формула изобретения

1. Способ получения конъюгата, включающего агент, связывающийся с клетками (СВА), конъюгированный с цитотоксическим соединением посредством связывающей группы, причем указанный способ включает взаимодействие модифицированного цитотоксического соединения с модифицированным СВА при рН приблизительно от 4 до 9, причем:

а) модифицированный СВА включает остаток бифункционального сшивающего агента, связанный с СВА, а указанный остаток включает связывающую группу и группу, способную взаимодействовать с тиолом; и

б) модифицированное цитотоксическое соединение включает тиоловую группу и группу, представленную формулой:



где:

Y является уходящей группой и является сульфитом ( $\text{HSO}_3$ ,  $\text{HSO}_2$  или солью  $\text{HSO}_3^-$ ,  $\text{SO}_3^{2-}$  или  $\text{HSO}_2^-$ , образованной катионом), метабисульфитом ( $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_5$  или солью  $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ , образованной катионом), моно-, ди-, три- и тетрафосфатом ( $\text{PO}_3\text{SH}_3$ ,  $\text{PO}_2\text{S}_2\text{H}_2$ ,  $\text{POS}_3\text{H}_2$ ,  $\text{PS}_4\text{H}_2$  или солью  $\text{PO}_3\text{S}^{3-}$ ,  $\text{PO}_2\text{S}_2^{3-}$ ,  $\text{POS}_3^{3-}$  или  $\text{PS}_4^{3-}$ , образованной катионом),

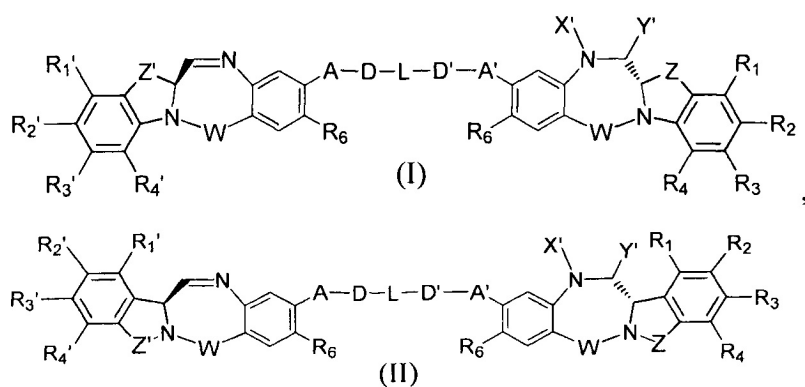
сложным эфиром тиофосфата ( $(R^iO)_2PS(OR^i)$ ,  $R^iS^-$ ,  $R^iSO$ ,  $R^iSO_2$ ,  $R^iSO_3$ , тиосульфатом ( $HS_2O_3$  или солью  $S_2O_3^{2-}$ , образованной катионом), дитионитом ( $HS_2O_4$  или солью  $S_2O_4^{2-}$ , образованной катионом), фосфородитиоатом ( $P(=S)(OR^k)(S)(OH)$  или его солью, образованной катионом), гидроксамовой кислотой ( $(R^kC(=O)NOH$  или солью, образованной катионом), формальдегидсульфоксилатом ( $HOCH_2SO_2^-$  или солью  $HOCH_2SO_2^-$ , образованной катионом, например,  $HOCH_2SO_2^-Na^+$ ) или их смесью, где  $R^i$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, и замещен по меньшей мере одним заместителем, выбранным из  $-N(R^j)_2$ ,  $-CO_2H$ ,  $-SO_3H$  и  $-PO_3H$ ;  $R^i$ , необязательно, может быть дополнительно замещен заместителем для алкила, описанным здесь;  $R^j$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода;  $R^k$  является линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, арилом, гетероциклилом или гетероарилом.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что модифицированное цитотоксическое соединение получают взаимодействием имин-содержащего цитотоксического соединения, несущего тиоловую группу, с реагентом, способным взаимодействовать с имидами.

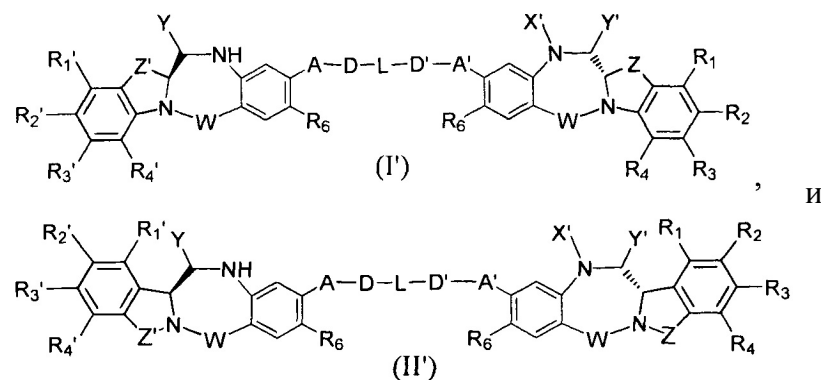
3. Способ по п. 1 или 2, дополнительно включающий очистку цитотоксического соединения до взаимодействия с модифицированным СВА.

4. Способ по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что:

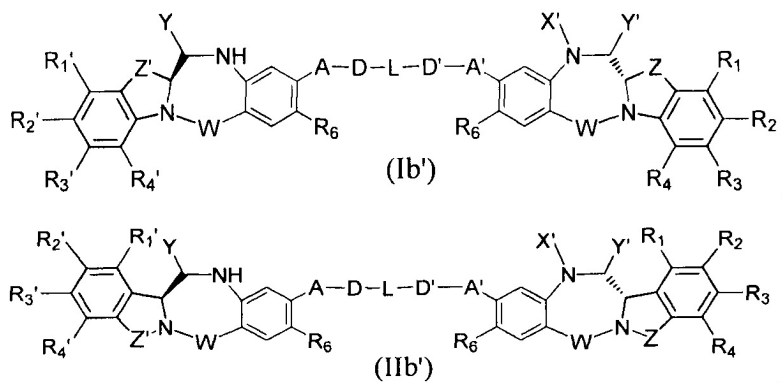
(1) имин-содержащее цитотоксическое соединение представлено одной из следующих формул или его фармацевтически приемлемой солью:



(2) модифицированное цитотоксическое соединение представлено одной из следующих формул или его фармацевтически приемлемой солью:



(3) модифицированное цитотоксическое соединение и фрагмент связывающей группы конъюгата представлены одной из следующих формул:



где:

X' выбрана из -H, амин-блокирующей группы, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$ , необязательно замещенного арила, имеющего от 6 до 18 атомов углерода, необязательно замещенного 5-18-членного гетероарильного кольца, содержащего один или более гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, и необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P;

Y' выбрана из -H, оксогруппы, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, необязательно замещенного 6-18-членного арила, необязательно замещенного 5-18-членного гетероарильного кольца, содержащего один или более гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 6 гетероатомов;

$R^c$  является -H или замещенным, или незамещенным линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 4 атомов углерода;

каждая из  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_1', R_2', R_3'$  и  $R_4'$ , независимо, выбрана из группы, состоящей из -H, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $-(OCH_2CH_2)_n-R^c$ , галогена, гуанидиния  $[-NH(C=NH)NH_2]$ , -OR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, -NCO, -NR'COR'', -SR, сульфоксида, представленного -SOR', сульфона, представленного -SO<sub>2</sub>R', сульфоната -SO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, сульфата -OSO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, сульфонида, представленного -SO<sub>2</sub>NR'R'', цианогруппы, азидной группы, -COR', -OCOR', -OCONR'R'';

R, в каждом случае независимо, выбрана из группы, состоящей из -H, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$ , необязательно замещенного арила, имеющего от 6 до 18 атомов углерода, необязательно замещенного 5-18-членного гетероарильного кольца, содержащего один или более гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, или необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, содержащего от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P;

каждая из R' и R'', независимо, выбрана из -H, -OH, -OR, -NHR, -NR<sub>2</sub>, -COR, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера

полиэтиленгликоля  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$  и необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P;

n является целым числом от 1 до 24;

W выбрана из C=O, C=S, CH<sub>2</sub>, BH, SO и SO<sub>2</sub>;

R<sub>6</sub> является -H, -R, -OR, -SR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub> или галогеном;

Z и Z', независимо, выбраны из  $-(CH_2)_{n'}$ -,  $-(CH_2)_{n'}-CR_7R_8-(CH_2)_{na'}$ -,  $-(CH_2)_{n'}-NR_9-(CH_2)_{na'}$ -,  $-(CH_2)_{n'}-O-(CH_2)_{na'}$ - и  $-(CH_2)_{n'}-S-(CH_2)_{na'}$ -;

n' и na' являются одинаковыми или различными и выбраны из 0, 1, 2 и 3;

R<sub>7</sub> и R<sub>8</sub> являются одинаковыми или различными, и каждая из них независимо выбрана из -H, -OH, -SH, -COOH, -NHR', мономера полиэтиленгликоля  $-(OCH_2CH_2)_n$ -, аминокислоты, пептидной единицы, несущей от 2 до 6 аминокислот, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода;

R<sub>9</sub>, независимо, выбрана из -H, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $-(OCH_2CH_2)_n$ -;

A и A' являются одинаковыми или различными и независимо выбраны из -O-, оксо  $(-C(=O)-)$ -,  $-CRR'O-$ -,  $-CRR'-$ -, -S-,  $-CRR'S-$ -,  $-N(R_5)-$  и  $-CRR'N(R_5)-$ ,

R<sub>5</sub>, в каждом случае независимо, является -H или необязательно замещенным линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода;

D и D' являются одинаковыми или различными и, независимо, отсутствуют или выбраны из группы, состоящей из необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, аминокислоты, пептида, несущего от 2 до 6 аминокислот, и мономера полиэтиленгликоля  $-(OCH_2CH_2)_n$ -;

L отсутствует или, если присутствует, включает тиоловую группу, и является мономером полиэтиленгликоля  $-(OCH_2CH_2)_n$ -, линейным, разветвленным или циклическим алкилом или алкенилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, фенильной группой, 3-18-членным гетероциклическим кольцом или 5-18-членным гетероарильным кольцом, имеющим от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P, где алкил, алкенил, фенил или гетероциклическое или гетероарильное кольцо является, необязательно, замещенным;

где по меньшей мере одна из X', Y', R<sub>6</sub>, R<sup>c</sup>, 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>', R<sub>4</sub>', L (например, посредством необязательно замещенной группы) присоединена к связывающей группе в формулах (Ib') или (Ib'').

5. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что модифицированный СВА получают взаимодействием СВА с бифункциональным сшивающим агентом, причем указанный бифункциональный сшивающий агент содержит группу, способную взаимодействовать с тиолами, и группу, способную взаимодействовать с СВА, присоединенные к связывающей группе.

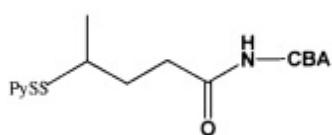
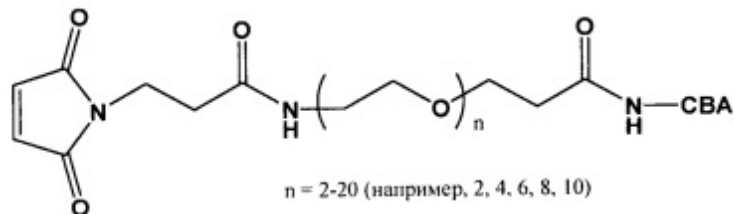
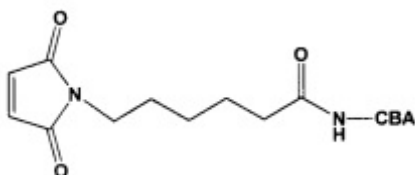
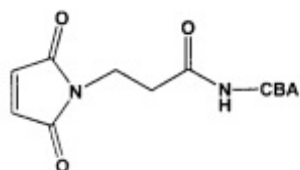
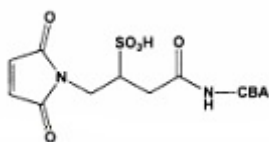
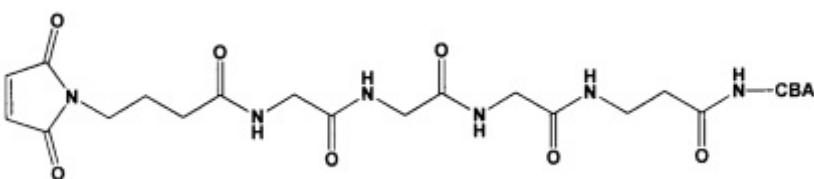
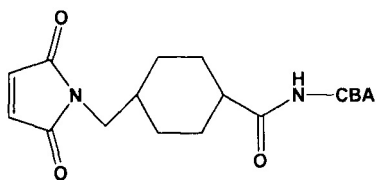
6. Способ по п. 5, отличающийся тем, что указанная группа, способная взаимодействовать с СВА, взаимодействует с аминок группой СВА (например, аминок группой боковой цепи Lys) или с тиоловой группой СВА (например, тиоловой группой боковой цепи Cys).

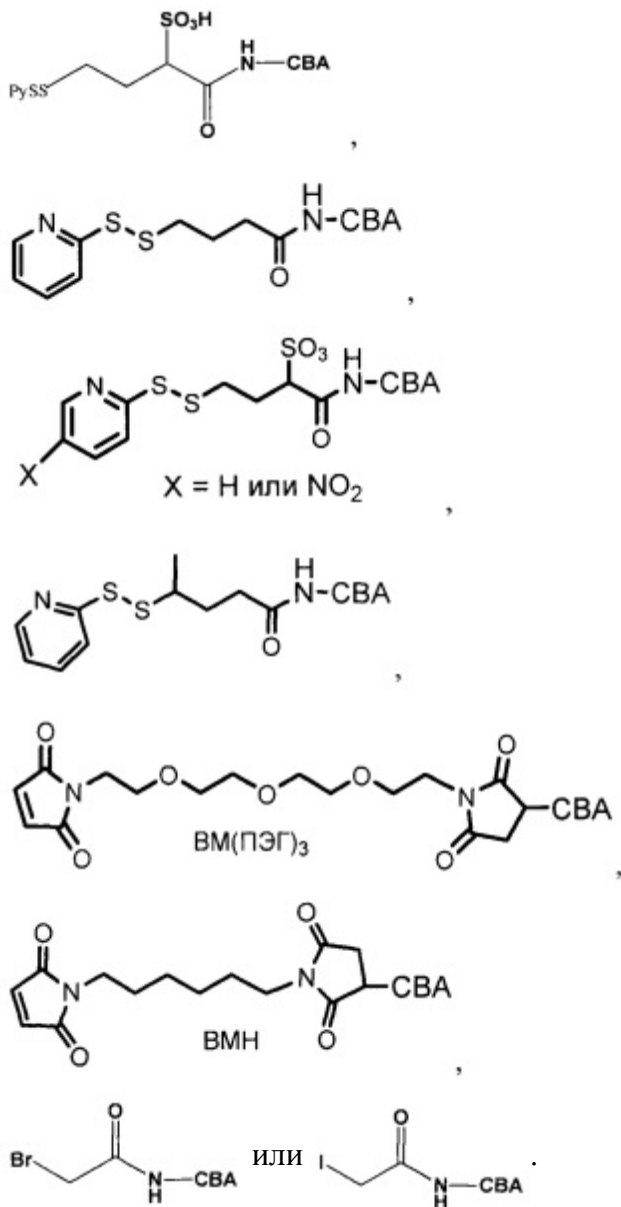
7. Способ по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что группа, способная

взаимодействовать с тиолами, выбрана из группы, состоящей из малеимидо, винилпиридина, винилсульфона, винилсульфонамида, группы на основе галоацетила и дисульфидной группы.

8. Способ по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что группа, способная взаимодействовать с тиолами, является малеимидо, галоацетамидо или  $-SSR^d$ , где  $R^d$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 4 атомов углерода, фенилом, нитрофенилом, динитрофенилом, карбоксинитрофенилом, пиридилом, 2-нитропиридилом, 4-нитропиридилом или 3-карбокси-4-нитропиридилом.

9. Способ по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что модифицированный СВА является:





10. Способ получения конъюгата, включающего агент, связывающийся с клетками (СВА), конъюгированный с цитотоксическим соединением посредством связывающей группы, причем указанный способ включает взаимодействие СВА с имин-содержащим цитотоксическим соединением, реагентом, способным взаимодействовать с имидами, и бифункциональным сшивающим агентом, включающим связывающую группу, с образованием конъюгата.

11. Способ по п. 10, отличающийся тем, что СВА приводят в контакт с имин-содержащим цитотоксическим соединением и реагентом, способным взаимодействовать с имидами, с образованием первой смеси; а затем первую смесь приводят в контакт с бифункциональным сшивающим агентом с образованием конъюгата.

12. Способ по п. 11, отличающийся тем, что бифункциональный сшивающий агент приводят в контакт с первой смесью непосредственно после образования первой смеси.

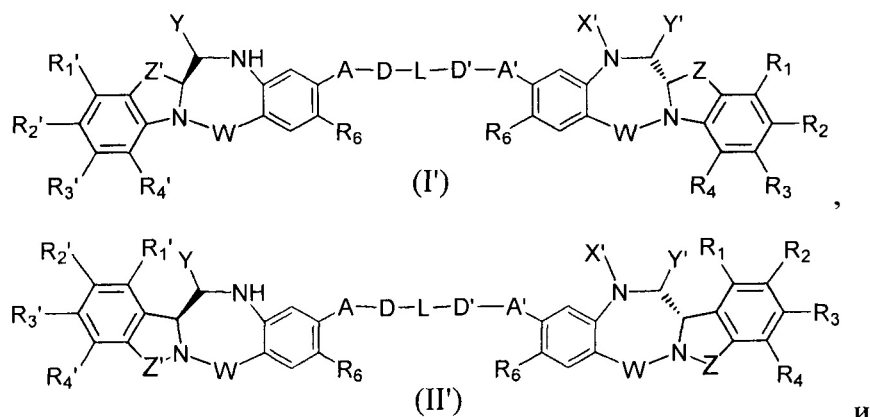
13. Способ по любому из пп. 10-12, дополнительно включающий очистку конъюгата.

14. Способ получения конъюгата, включающего агент, связывающийся с клетками (СВА), конъюгированный с цитотоксическим соединением посредством связывающей группы, способ, включающий:

а) взаимодействие модифицированного цитотоксического соединения с бифункциональным сшивающим агентом, включающим связывающую группу, группу,

реагирующую с СВА (например, тиоловую группу, малеимидную группу, галоацетамидную группу или аминогруппу), и группу, способную взаимодействовать с модифицированным цитотоксическим соединением с образованием второго модифицированного цитотоксического соединения, ковалентно связанного с остатком бифункционального сшивающего агента, причем указанный остаток включает связывающую группу и группу, способную реагировать с СВА;

причем модифицированное цитотоксическое соединение представлено одной из следующих формул или его фармацевтически приемлемой солью:



где:

Y является уходящей группой и является сульфитом ( $\text{HSO}_3$ ,  $\text{HSO}_2$  или солью  $\text{HSO}_3^-$ ,  $\text{SO}_3^{2-}$  или  $\text{HSO}_2^-$ , образованной катионом), метабисульфитом ( $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_5$  или солью  $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ , образованной катионом), моно-, ди-, три- и тетрафосфатом ( $\text{PO}_3\text{SH}_3$ ,  $\text{PO}_2\text{S}_2\text{H}_2$ ,  $\text{POS}_3\text{H}_2$ ,  $\text{PS}_4\text{H}_2$  или солью  $\text{PO}_3\text{S}^{3-}$ ,  $\text{PO}_2\text{S}_2^{3-}$ ,  $\text{POS}_3^{3-}$  или  $\text{PS}_4^{3-}$ , образованной катионом), сложным эфиром тиофосфата ( $(\text{R}^i\text{O})_2\text{PS}(\text{OR}^i)$ ,  $\text{R}^i\text{S}-$ ,  $\text{R}^i\text{SO}$ ,  $\text{R}^i\text{SO}_2$ ,  $\text{R}^i\text{SO}_3$ , тиосульфатом ( $\text{HS}_2\text{O}_3$  или солью  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ , образованной катионом), дитионитом ( $\text{HS}_2\text{O}_4$  или солью  $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ , образованной катионом), фосфородитиоатом ( $\text{P}(=\text{S})(\text{OR}^{k'}) (\text{S})(\text{OH})$  или его солью, образованной катионом), гидроксамовой кислотой ( $\text{R}^{k'}\text{C}(=\text{O})\text{NOH}$  или солью, образованной катионом), формальдегидсульфоксилатом ( $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-$  или солью  $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-$ , образованной катионом, например,  $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-\text{Na}^+$ ) или их смесью, где  $\text{R}^i$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, и замещен по меньшей мере одним заместителем, выбранным из  $-\text{N}(\text{R}^j)_2$ ,  $-\text{CO}_2\text{H}$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$  и  $-\text{PO}_3\text{H}$ ;  $\text{R}^i$ , необязательно, может быть дополнительно замещен заместителем для алкила, описанным здесь;  $\text{R}^j$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода;  $\text{R}^{k'}$  является линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, арилом, гетероциклилом или гетероарилом;

$\text{X}'$  выбрана из  $-\text{H}$ , амин-блокирующей группы, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{R}^c$ , необязательно замещенного арила, имеющего от 6 до 18 атомов углерода, необязательно замещенного 5-18-членного гетероарильного кольца, содержащего один или более гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, и необязательно замещенного 3-

18-членного гетероциклического кольца, содержащего от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P;

Y' выбрана из -H, оксогруппы, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, необязательно замещенного 6-18-членного арила, необязательно замещенного 5-18-членного гетероарильного кольца, содержащего один или более гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 6 гетероатомов;

R<sup>c</sup> является -H или замещенным, или незамещенным линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 4 атомов углерода;

каждая из 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>' и R<sub>4</sub>', независимо, выбрана из группы, состоящей из -H, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup>, галогена, гуанидиния [-NH(C=NH)NH<sub>2</sub>], -OR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, -NCO, -NR'COR'', -SR, сульфоксида, представленного -SOR', сульфона, представленного -SO<sub>2</sub>R', сульфоната -SO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, сульфата -OSO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, сульфонамида, представленного -SO<sub>2</sub>NR'R'', цианогруппы, азидной группы, -COR', -OCOR', -OCONR'R'';

R, в каждом случае независимо, выбрана из группы, состоящей из -H, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup>, необязательно замещенного арила, имеющего от 6 до 18 атомов углерода, необязательно замещенного 5-18-членного гетероарильного кольца, содержащего один или более гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, или необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, содержащего от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P;

каждая из R' и R'', независимо, выбрана из -H, -OH, -OR, -NHR, -NR<sub>2</sub>, -COR, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-R<sup>c</sup> и необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P;

n является целым числом от 1 до 24;

W выбрана из C=O, C=S, CH<sub>2</sub>, BH, SO и SO<sub>2</sub>;

R<sub>6</sub> является -H, -R, -OR, -SR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub> или галогеном;

Z и Z', независимо, выбраны из -(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>-' и -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-'-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>na</sub>-';

n' и na' являются одинаковыми или различными и выбраны из 0, 1, 2 и 3;

R<sub>7</sub> и R<sub>8</sub> являются одинаковыми или различными, и каждая из них независимо выбрана из -H, -OH, -SH, -COOH, -NHR', мономера полиэтиленгликоля -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, аминокислоты, пептидной единицы, несущей от 2 до 6 аминокислот, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода;

R<sub>9</sub>, независимо, выбрана из -H, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода,



мономера полиэтиленгликоля  $-(OCH_2CH_2)_n-$ ;

A и A' являются одинаковыми или различными и независимо выбраны из -O-, оксо  $(-C(=O)-)$ -,  $-CRR'O-$ -,  $-CRR'-$ -,  $-S-$ -,  $-CRR'S-$ -,  $-N(R_5)-$  и  $-CRR'N(R_5)-$ ,

$R_5$ , в каждом случае независимо, является -H или необязательно замещенным линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода;

D и D' являются одинаковыми или различными и независимо отсутствуют или выбраны из группы, состоящей из необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, аминокислоты, пептида, несущего от 2 до 6 аминокислот, и мономера полиэтиленгликоля  $-(OCH_2CH_2)_n-$ ;

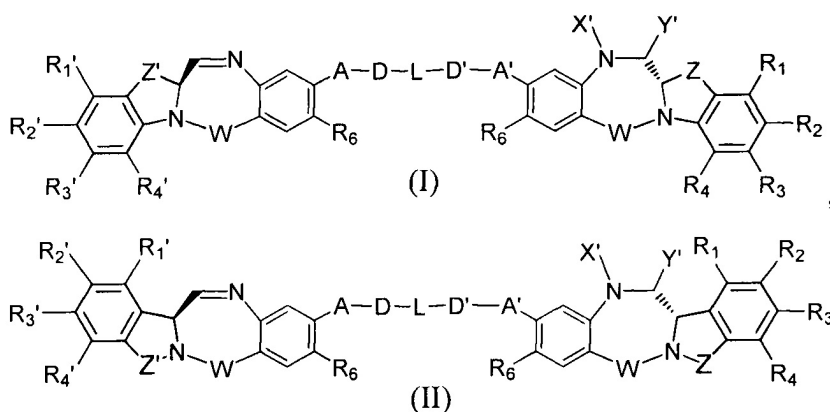
L отсутствует или, если присутствует, включает тиоловую группу или является мономером полиэтиленгликоля  $-(OCH_2CH_2)_n-$ , линейным, разветвленным или циклическим алкилом или алкенилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, фенильной группой, 3-18-членным гетероциклическим кольцом или 5-18-членным гетероарильным кольцом, имеющим от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P, где алкил, алкенил, фенил или гетероциклическое или гетероарильное кольцо является, необязательно, замещенным; и

б) взаимодействие второго модифицированного цитотоксического соединения с СВА посредством группы, способной взаимодействовать с СВА, при pH от приблизительно 4 до приблизительно 9, с образованием конъюгата.

15. Способ по п. 14, отличающийся тем, что группа, способная взаимодействовать с СВА, является тиоловой группой, малеимидной группой, галоацетамидной группой или аминогруппой.

16. Способ по п. 14, отличающийся тем, что модифицированное цитотоксическое соединение включает тиоловую группу, а группа, способная взаимодействовать с модифицированным цитотоксическим соединением, является группой, способной взаимодействовать с тиолами.

17. Способ по любому из пп. 14-16, отличающийся тем, что модифицированное цитотоксическое соединение получают за счет взаимодействия имин-содержащего цитотоксического соединения, несущего тиоловую группу следующей формулы, с реагентом, способным взаимодействовать с имидами, в реакционной смеси



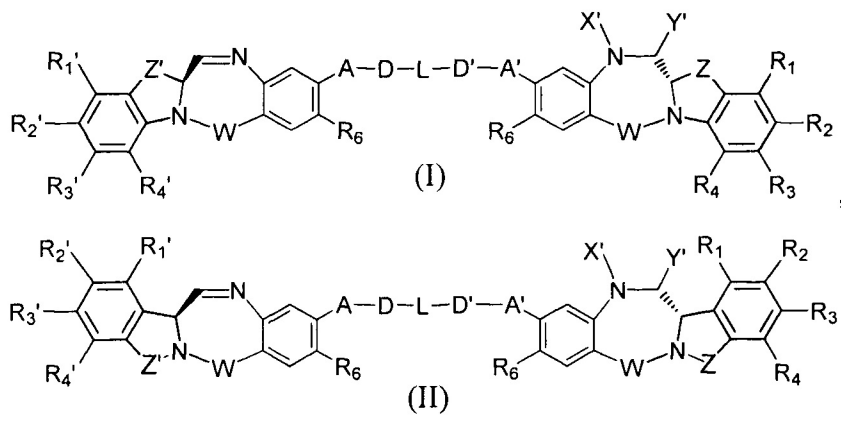
а).

21. Способ по любому из пп. 17-20, отличающийся тем, что дополнительно включает хранение реакционной смеси, полученной на этапе а), в замороженном виде до оттаивания и проведения этапа б).

22. Способ по любому из пп. 14-21, отличающийся тем, что бифункциональный сшивающий агент является бис-малеимидогексаном или ВМРЕО.

23. Способ по любому из пп. 2-22,

отличающийся тем, что имин-содержащее цитотоксическое соединение представлено любой из следующих формул или его фармацевтически приемлемой солью:



где:

X' выбрана из -H, амин-блокирующей группы, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $-(CH_2CH_2O)_n-R^C$ , необязательно замещенного арила, имеющего от 6 до 18 атомов углерода, необязательно замещенного 5-18-членного гетероарильного кольца, содержащего один или более гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, и необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, содержащего от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P;

Y' выбрана из -H, оксогруппы, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, необязательно замещенного 6-18-членного арила, необязательно замещенного 5-18-членного гетероарильного кольца, содержащего один или более гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 6 гетероатомов;

$R^C$  является -H или замещенным, или незамещенным линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 4 атомов углерода;

каждая из  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_1', R_2', R_3'$  и  $R_4'$ , независимо, выбрана из группы, состоящей из -H, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $-(OCH_2CH_2)_n-R^C$ , галогена, гуанидиния  $[-NH(C=NH)NH_2]$ , -OR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, -NCO, -NR'COR'', -SR, сульфоксида, представленного -SOR', сульфона, представленного -SO<sub>2</sub>R', сульфоната -SO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, сульфата -OSO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, сульфонида, представленного -SO<sub>2</sub>NR'R'', цианогруппы, азидной группы, -COR', -OCOR', -OCONR'R'' и связывающей группы;

R, в каждом случае независимо, выбрана из группы, состоящей из -H, необязательно

замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля -  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-R}^c$ , необязательно замещенного арила, имеющего от 6 до 18 атомов углерода, необязательно замещенного 5-18-членного гетероарильного кольца, содержащего один или более гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, или необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, содержащего от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P;

каждая из R' и R'', независимо, выбрана из -H, -OH, -OR, -NHR, -NR<sub>2</sub>, -COR, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-R}^c$  и необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P;

n является целым числом от 1 до 24;

W выбрана из C=O, C=S, CH<sub>2</sub>, BH, SO и SO<sub>2</sub>;

R<sub>6</sub> является -H, -R, -OR, -SR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub> или галогеном;

Z и Z', независимо, выбраны из  $(\text{CH}_2)_{n'}$ -,  $(\text{CH}_2)_{n'}\text{-CR}_7\text{R}_8\text{-(CH}_2)_{n_a'}$ -,  $(\text{CH}_2)_{n'}\text{-NR}_9\text{-(CH}_2)_{n_a'}$ -,  $(\text{CH}_2)_{n'}\text{-O-(CH}_2)_{n_a'}$ - и  $(\text{CH}_2)_{n'}\text{-S-(CH}_2)_{n_a'}$ -;

n' и n<sub>a'</sub> являются одинаковыми или различными и выбраны из 0, 1, 2 и 3;

R<sub>7</sub> и R<sub>8</sub> являются одинаковыми или различными, и каждая из них независимо выбрана из -H, -OH, -SH, -COOH, -NHR', мономера полиэтиленгликоля  $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$ -, аминокислоты, пептидной единицы, несущей от 2 до 6 аминокислот, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода;

R<sub>9</sub>, независимо, выбрана из -H, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$ -;

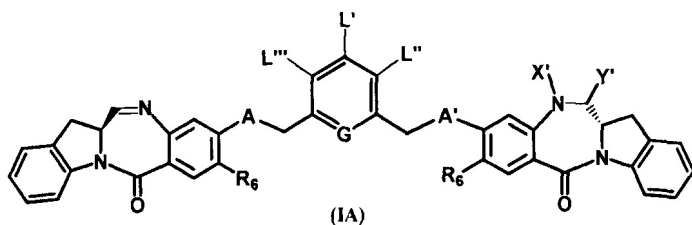
A и A' являются одинаковыми или различными и, независимо, выбраны из -O-, оксо (-C(=O)-), -CRR'O-, -CRR'-, -S-, -CRR'S-, -N(R<sub>5</sub>)- и -CRR'N(R<sub>5</sub>)-,

R<sub>5</sub>, в каждом случае независимо, является -H или необязательно замещенным линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода;

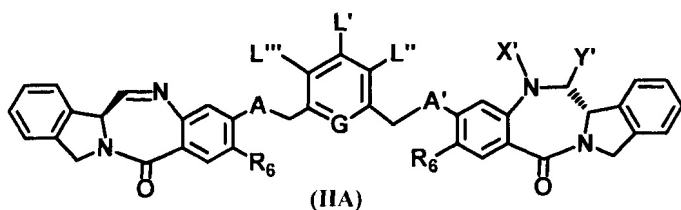
D и D' являются одинаковыми или различными и, независимо, отсутствуют или выбраны из группы, состоящей из необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, аминокислоты, пептида, несущего от 2 до 6 аминокислот, и мономера полиэтиленгликоля  $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$ -;

L отсутствует или, если присутствует, включает тиоловую группу и является мономером полиэтиленгликоля  $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$ -, линейным, разветвленным или циклическим алкилом или алкенилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, фенильной группой, 3-18-членным гетероциклическим кольцом или 5-18-членным гетероарильным кольцом, имеющим от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P, где алкил, алкенил, фенил или гетероциклическое или гетероарильное кольцо является, необязательно, замещенным.

24. Способ по п. 23, отличающийся тем, что имин-содержащее цитотоксическое соединение представлено любой из следующих формул:



ИЛИ



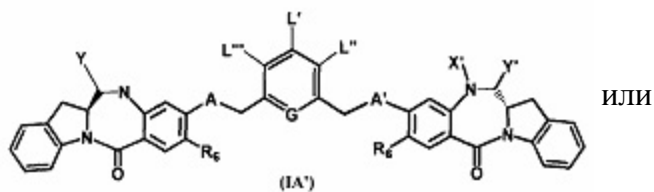
где:

L', L'' и L''' являются одинаковыми или различными и, независимо, выбраны из -H, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $-(OCH_2CH_2)_n-R^C$ , галогена, гуанидиния  $[-NH(C=NH)NH_2]$ , -OR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, -NR'COR'', -SR, сульфоксида, представленного -SOR', сульфона, представленного -SO<sub>2</sub>R', сульфоната -SO<sub>3</sub>M, сульфата -OSO<sub>3</sub>M, сульфонида, представленного -SO<sub>2</sub>NR'R'', цианогруппы, азидной группы, -COR', -OCOR', -OCONR'R'';

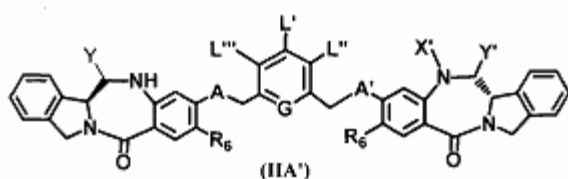
M является -H или фармацевтически приемлемым катионом; а

G выбрана из -CH- или -N-.

25. Способ по п. 24, отличающийся тем, что модифицированное цитотоксическое соединение, если присутствует, представлено одной из следующих формул или его фармацевтически приемлемой солью:



ИЛИ

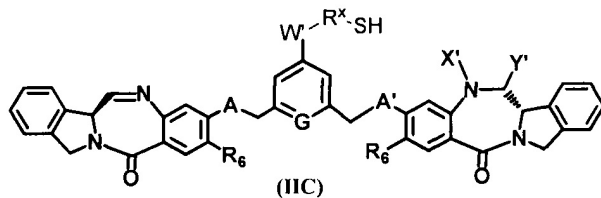
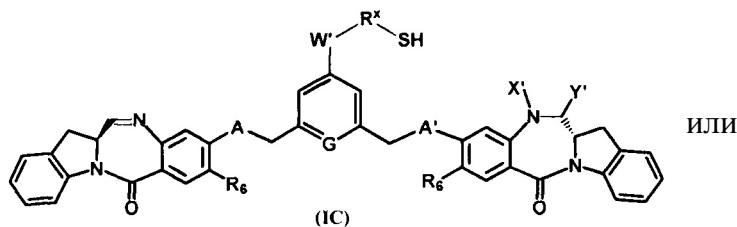


26. Способ по пп. 23, 24 или 25, отличающийся тем, что одна из L', L'' или L''' несет тиоловую группу, а другие являются -H.

27. Способ по п. 26, отличающийся тем, что L' несет тиоловую группу, а L'' и L''' являются -H.

28. Способ по любому из пп. 23-27, отличающийся тем, что как A, так и A' являются -O-; R<sub>6</sub> является -OMe; а G является -CH-.

29. Способ по любому из пп. 23-28, отличающийся тем, что имин-содержащее цитотоксическое соединение представлено любой из следующих формул:



где:

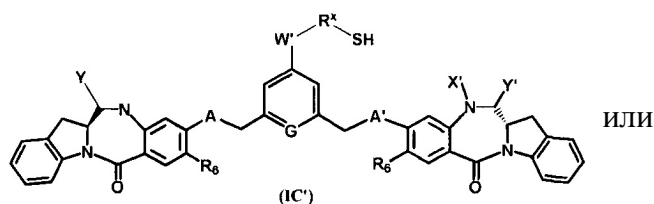
W' отсутствует или, если присутствует, выбрана из  $-\text{CR}^e\text{R}^{e'}$ -,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-$ ,  $-\text{S}-$ ,  $-\text{SO}-$ ,  $-\text{SO}_2-$ ,  $-\text{CH}_2-\text{S}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{O}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{NR}^e-$ ,  $-\text{O}-(\text{C}=\text{O})\text{O}-$ ,  $-\text{O}-(\text{C}=\text{O})\text{N}(\text{R}^e)-$ ,  $-\text{N}(\text{R}^e)-$ ,  $-\text{N}(\text{R}^e)-\text{C}(=\text{O})-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{R}^e)-$ ,  $-\text{N}(\text{R}^e)-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $-\text{N}(\text{C}(=\text{O})\text{R}^e)\text{C}(=\text{O})-$ ,  $-\text{N}(\text{C}(=\text{O})\text{R}^e)-$ ,  $-(\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2)_n-$ ,  $-\text{SS}-$  или  $-\text{C}(=\text{O})-$ , или аминокислоты, или пептида, имеющего от 2 до 8 аминокислот;

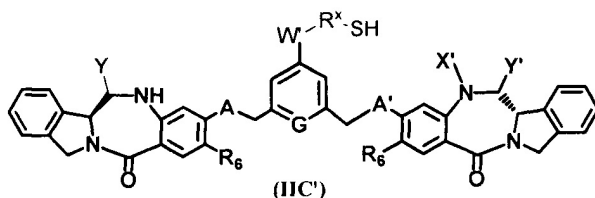
$\text{R}^x$  отсутствует или, если присутствует, является необязательно замещенным линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, арилом, имеющим от 6 до 10 атомов углерода, или 3-8-членным гетероциклическим кольцом, несущим от 1 до 3 гетероатомов, выбранных из O, N или S;

$\text{R}^e$  и  $\text{R}^{e'}$  являются одинаковыми или различными и выбраны из -H, линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, или  $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-\text{R}^k$ , где  $\text{R}^k$  является -H, линейным, разветвленным, циклическим алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода, необязательно несущим вторичную аминогруппу (например,  $-\text{NHR}^{101}$ ) или третичную аминогруппу ( $-\text{NR}^{101}\text{R}^{102}$ ), или 5- или 6-членный азот-содержащий гетероцикл, например, пиперидин или морфолин, где каждая из  $\text{R}^{101}$  и  $\text{R}^{102}$ , независимо, является линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода; предпочтительно каждая  $\text{R}^{101}$  и  $\text{R}^{102}$ , независимо, является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода;

n является целым числом от 1 до 24.

30. Способ по п. 29, отличающийся тем, что модифицированное цитотоксическое соединение, если присутствует, представлено одной из следующих формул или его фармацевтически приемлемой солью:





31. Способ по п. 29 или 30, отличающийся тем, что:

Y выбрана из  $-\text{SO}_3\text{M}$ ,  $-\text{SO}_2\text{M}$  или  $-\text{OSO}_3\text{M}$ ;

M является -H или фармацевтически приемлемым катионом, например,  $\text{Na}^+$  или  $\text{K}^+$ ;

X' выбрана из группы, состоящей из -H, -OH, замещенного или незамещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, фенила и амино-блокирующей группы;

Y' выбрана из группы, состоящей из -H, оксогруппы, замещенного или незамещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода;

A и A' выбраны из -O- и -S-;

W' отсутствует или выбрана из -O-,  $-\text{N}(\text{R}^e)-$ ,  $-\text{N}(\text{R}^e)-\text{C}(=\text{O})-$ ,  $-\text{N}(\text{C}(=\text{O})\text{R}^e)-$ , -S- или  $-\text{CH}_2\text{-S-}$ ,  $-\text{CH}_2\text{NR}^e-$ ;

$\text{R}^x$  отсутствует или выбрана из линейного, разветвленного или циклического алкила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода;

$\text{R}^e$  является -H, линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, или  $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-\text{R}^k$ , где  $\text{R}^k$  является -H, линейным, разветвленным, циклическим алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода, необязательно несущим вторичную аминогруппу (например,  $-\text{NHR}^{101}$ ) или третичную аминогруппу ( $-\text{NR}^{101}\text{R}^{102}$ ), или 5-или 6-членный азот-содержащий гетероцикл, например, пиперидин или морфолин, где каждая из  $\text{R}^{101}$  и  $\text{R}^{102}$ , независимо, является линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода;

G выбрана из -CH- или -N-.

32. Способ по любому из пп. 29-31, отличающийся тем, что W' является  $-\text{N}(\text{R}^e)-$ .

33. Способ по п. 32, отличающийся тем, что  $\text{R}^e$  является  $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-\text{R}^k$ , где  $\text{R}^k$  является -H, линейным, разветвленным, циклическим алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода.

34. Способ по п. 33, отличающийся тем, что  $\text{R}^k$  является -H или -Me, n равен 4, а q равен 2.

35. Способ по п. 34, отличающийся тем, что  $\text{R}^x$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода.

36. Способ по п. 34, отличающийся тем, что  $\text{R}^x$  является  $-(\text{CH}_2)_p-(\text{CR}^f\text{R}^g)-$ , где каждая из  $\text{R}^f$  и  $\text{R}^g$ , независимо, выбрана из -H или линейного или разветвленного алкила, имеющего от 1 до 4 атомов углерода; а p равен 0, 1, 2 или 3.

37. Способ по п. 36, отличающийся тем, что  $\text{R}^f$  и  $\text{R}^g$  являются одинаковыми или различными и выбраны из -H и -Me; а p равен 1.

38. Способ по любому из пп. 29-37, отличающийся тем, что:

Y является  $-\text{SO}_3\text{M}$ ,  $-\text{SO}_2\text{M}$  или сульфатом  $-\text{OSO}_3\text{M}$ ; предпочтительно  $-\text{SO}_3\text{M}$ ;

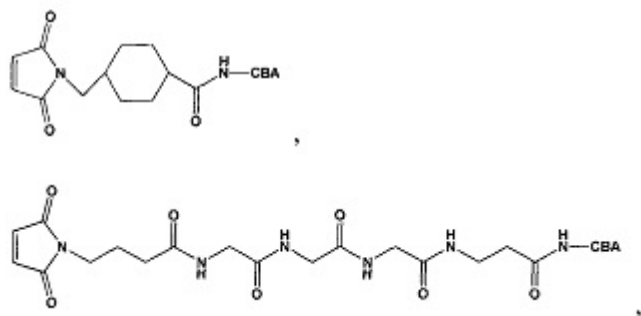
М является -Н или фармацевтически приемлемым катионом (например,  $\text{Na}^+$ );  
 как X', так и Y' являются -Н;  
 как А, так и А' являются -О-;  
 $\text{R}_6$  является -ОМе; а

$\text{R}^x$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода.

39. Способ по любому из пп. 10-16 и 23-38, отличающийся тем, что бифункциональный сшивающий агент является: группой на основе малеимида, выбранной из: N-сукцинимидил-4-(малеимидометил)циклогексанкарбоксилата (SMCC), N-сукцинимидил-4-(N-малеимидометил)-циклогексан-1-карбокси-(6-амидокапроата) (LC-SMCC), N-сукцинимидилового эфира κ-малеимидоундекановой кислоты (KMUA), N-сукцинимидилового эфира γ-малеимидомасляной кислоты (GMBS), N-гидроксисукцинимидного эфира ε-малеимидокапроновой кислоты (EMCS), м-малеимидобензоил-N-гидроксисукцинимидного эфира (MBS), N-(α-малеимидоацетокси)-сукцинимидного эфира (AMAS), сукцинимидил-6-(β-малеимидопропионамидо)гексаноата (SMPH), N-сукцинимидил-4-(п-малеимидофенил)бутирата (SMPB), N-(п-малеимидофенил)изоцианата (PMPI), N-сукцинимидил-4-(4-нитропиридил-2-дитио)бутаноата; либо группой на основе галоацетила, выбранной из: N-сукцинимидил-4-(иодоацетил)-аминобензоата (SIAB), N-сукцинимидилиодоацетата (SIA), N-сукцинимидилбромоацетата (SBA) и N-сукцинимидил-3-(бромоацетамидо)пропионата (SBAP), бис-малеимидополиэтиленгликоля (BMPEO),  $\text{BM}(\text{PEO})_2$ ,  $\text{BM}(\text{PEO})_3$ , N-(β-малеимидопропилокси)сукцинимидного эфира (BMPS), NHS 5-малеимидовалериановой кислоты, HBVS, гидразида · HCl 4-(4-N-малеимидофенил)-масляной кислоты (MPBH), сукцинимидил-(4-винилсульфонил)бензоата (SVSB), дитиобис-малеимидозтана (DTME), 1,4-бис-малеимидобутана (BMB), 1,4-бисмалеимидил-2,3-дигидроксидобутана (BMDDB), бис-малеимидогексана (BMH), бис-малеимидозтана (BMOE), сульфосукцинимидил 4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилата (сульфо-SMCC), сульфосукцинимидил (4-иодо-ацетил)аминобензоата (сульфо-SIAB), м-малеимидобензоил-N-гидроксисульфосукцинимидного эфира (сульфо-MBS), N-(γ-малеимидобутирилокси)сульфосукцинимидного эфира (сульфо-GMBS), N-(ε-малеимидокапроилокси)сульфосукцинимидного эфира (сульфо-EMCS), N-(κ-малеимидоундеканилокси)сульфосукцинимидного эфира (сульфо-KMUS), сульфосукцинимидил-4-(п-малеимидофенил)бутирата (сульфо-SMPB), CX1-1, сульфо-Mal и ПЭГ<sub>n</sub>-Mal.

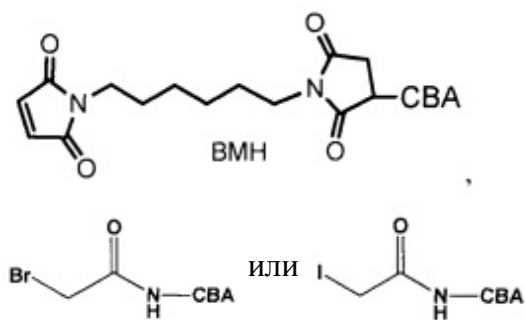
40. Способ по любому из пп. 23-38, отличающийся тем, что бифункциональный сшивающий агент выбран из группы, состоящей из SMCC, сульфо-SMCC, BMPS, GMBS, SIA, SIAB, N-сукцинимидил-4-(4-нитропиридил-2-дитио)бутаноата, бис-малеимидогексана или BMPEO.

41. Способ по любому из пп. 23-40, отличающийся тем, что модифицированный CBA, если присутствует, является:





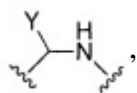




42. Способ получения конъюгата, включающего агент, связывающийся с клетками (CBA), конъюгированный с цитотоксическим соединением посредством связывающей группы, способ, включающий взаимодействие второго модифицированного цитотоксического соединения с CBA при pH приблизительно от 4 до 9, причем второе модифицированное цитотоксическое соединение включает:

а) остаток бифункционального сшивающего агента, связанный с цитотоксическим соединением и включающий связывающую группу и реакционноспособную группу, выбранную из реакционноспособного сложного эфира и группы, способной взаимодействовать с тиолами, и

б) группу, представленную:



где:

Y является уходящей группой и является сульфитом ( $\text{HSO}_3$ ,  $\text{HSO}_2$  или солью  $\text{HSO}_3^-$ ,  $\text{SO}_3^{2-}$  или  $\text{HSO}_2^-$ , образованной катионом), метабисульфитом ( $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_5$  или солью  $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ , образованной катионом), моно-, ди-, три- и тетрафосфатом ( $\text{PO}_3\text{SH}_3$ ,  $\text{PO}_2\text{S}_2\text{H}_2$ ,  $\text{POS}_3\text{H}_2$ ,  $\text{PS}_4\text{H}_2$  или солью  $\text{PO}_3\text{S}^{3-}$ ,  $\text{PO}_2\text{S}_2^{3-}$ ,  $\text{POS}_3^{3-}$  или  $\text{PS}_4^{3-}$ , образованной катионом), сложным эфиром тиофосфата ( $(\text{R}^i\text{O})_2\text{PS}(\text{OR}^i)$ ,  $\text{R}^i\text{S}-$ ,  $\text{R}^i\text{SO}$ ,  $\text{R}^i\text{SO}_2$ ,  $\text{R}^i\text{SO}_3$ , тиосульфатом ( $\text{HS}_2\text{O}_3$  или солью  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ , образованной катионом), дитионитом ( $\text{HS}_2\text{O}_4$  или солью  $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ , образованной катионом), фосфородитиоатом ( $\text{P}(=\text{S})(\text{OR}^{k'}) (\text{S})(\text{OH})$  или его солью, образованной катионом), гидроксамовой кислотой ( $\text{R}^{k'}\text{C}(=\text{O})\text{NOH}$  или солью, образованной катионом), формальдегидсульфоксилатом ( $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-$  или солью  $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-$ , образованной катионом, например,  $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^- \text{Na}^+$ ) или их смесью, где  $\text{R}^i$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, и замещен по меньшей мере одним заместителем, выбранным из  $-\text{N}(\text{R}^j)_2$ ,  $-\text{CO}_2\text{H}$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$  и  $-\text{PO}_3\text{H}$ ;  $\text{R}^i$ , необязательно, может быть дополнительно замещен заместителем для алкила, описанным здесь;  $\text{R}^j$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода;  $\text{R}^{k'}$  является линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, арилом, гетероциклилом или гетероарилом.

43. Способ по п. 42, отличающийся тем, что второе модифицированное цитотоксическое соединение получают путем взаимодействия реагента, способного взаимодействовать с иминами, с имин-содержащим цитотоксическим соединением, несущим связывающую группу и реакционноспособную группу.

44. Способ по п. 42 или 43, отличающийся тем, что дополнительно включает очистку второго цитотоксического соединения до взаимодействия с СВА.

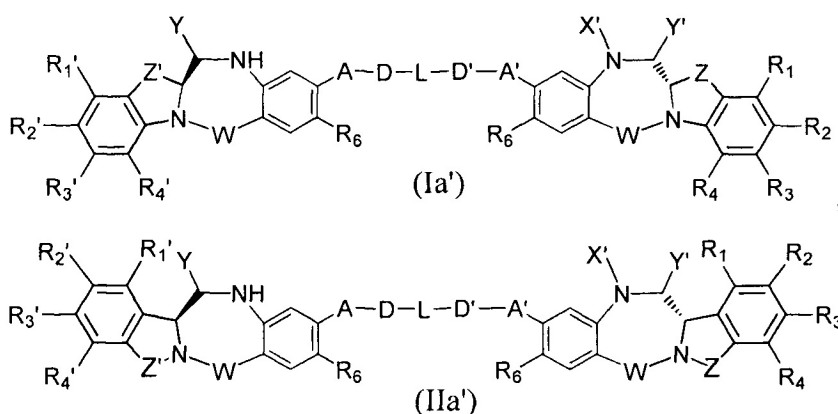
45. Способ по любому из пп. 42-44, отличающийся тем, что реакционноспособный сложный эфир может быть выбран из группы, состоящей из N-гидроксисукцинимидного эфира, N-гидроксисульфосукцинимидного эфира, нитрофенилового эфира, динитрофенилового эфира, тетрафторофенилового эфира, сульфотетрафторофенилового эфира и пентафторофенилового эфира.

46. Способ по любому из пп. 42-44, отличающийся тем, что реакционноспособный сложный эфир является N-гидроксисукцинимидным эфиром.

47. Способ по любому из пп. 42-44, отличающийся тем, что группа, способная взаимодействовать с тиолами, выбрана из группы, состоящей из малеимида, винилпиридина, винилсульфона, винилсульфонамида, группы на основе галоацетила и дисульфидной группы.

48. Способ по любому из пп. 42-44, отличающийся тем, что группа, способная взаимодействовать с тиолами, является малеимида, галоацетида или  $-SSR^d$ , где  $R^d$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 4 атомов углерода, фенилом, нитрофенилом, динитрофенилом, карбоксинитрофенилом, пиридилом, 2-нитропиридилом, 4-нитропиридилом или 3-карбокси-4-нитропиридилом.

49. Способ по любому из пп. 14-48, отличающийся тем, что второе модифицированное цитотоксическое соединение представлено любой из следующих формул:



или ее фармацевтически приемлемой солью, где:

$Y$  является сульфитом ( $HSO_3$ ,  $HSO_2$  или солью  $HSO_3^-$ ,  $SO_3^{2-}$  или  $HSO_2^-$ , образованной катионом), метабисульфитом ( $H_2S_2O_5$  или солью  $S_2O_5^{2-}$ , образованной катионом), моно-, ди-, три- и тетрафосфатом ( $PO_3SH_3$ ,  $PO_2S_2H_2$ ,  $POS_3H_2$ ,  $PS_4H_2$  или солью  $PO_3S^{3-}$ ,  $PO_2S_2^{3-}$ ,  $POS_3^{3-}$  или  $PS_4^{3-}$ , образованной катионом), сложным эфиром тиофосфата  $(R^iO)_2PS(OR^i)$ ,  $R^iS-$ ,  $R^iSO$ ,  $R^iSO_2$ ,  $R^iSO_3$ , тиосульфатом ( $HS_2O_3$  или солью  $S_2O_3^{2-}$ , образованной катионом), дитионитом ( $HS_2O_4$  или солью  $S_2O_4^{2-}$ , образованной катионом), фосфородитиоатом  $(P(=S)(OR^{k'})(S)(OH))$  или его солью, образованной катионом), гидроксамовой кислотой ( $R^{k'}C(=O)NOH$  или солью, образованной катионом), формальдегидсульфоксилатом ( $HOCH_2SO_2^-$  или солью  $HOCH_2SO_2^-$ , образованной катионом, например,  $HOCH_2SO_2^-Na^+$ ) или их смесью, где  $R^i$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, и замещен по меньшей мере одним заместителем, выбранным из  $-N(R^j)_2$ ,  $-CO_2H$ ,  $-SO_3H$  и  $-PO_3H$ ;  $R^j$ ,

необязательно, может быть дополнительно замещен заместителем для алкила, описанным здесь;  $R^j$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода;  $R^k$  является линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, арилом, гетероциклилом или гетероарилом;

$X'$  выбрана из -H, амин-блокирующей группы, связывающей группы с присоединенной к ней реакционноспособной группой, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$ , необязательно замещенного арила, имеющего от 6 до 18 атомов углерода, необязательно замещенного 5-18-членного гетероарильного кольца, содержащего один или более гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, и необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P;

$Y'$  выбрана из -H, оксогруппы, связывающей группы с присоединенной к ней реакционноспособной группой, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, необязательно замещенного 6-18-членного арила, необязательно замещенного 5-18-членного гетероарильного кольца, содержащего один или более гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 6 гетероатомов;

$R^c$  является -H или замещенным, или незамещенным линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 4 атомов углерода, или связывающей группой с присоединенной к ней реакционноспособной группой;

каждая из  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_1', R_2', R_3'$  и  $R_4'$ , независимо, выбрана из группы, состоящей из -H, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $-(OCH_2CH_2)_n-R^c$ , галогена, гуанидиния  $[-NH(C=NH)NH_2]$ , -OR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, -NCO, -NR'COR'', -SR, сульфоксида, представленного -SOR', сульфона, представленного -SO<sub>2</sub>R', сульфоната -SO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, сульфата -OSO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, сульфонида, представленного -SO<sub>2</sub>NR'R'', цианогруппы, азидной группы, -COR', -OCOR', -OCONR'R'' и связывающей группы с присоединенной к ней реакционноспособной группой;

R, в каждом случае независимо, выбрана из группы, состоящей из -H, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$ , необязательно замещенного арила, имеющего от 6 до 18 атомов углерода, необязательно замещенного 5-18-членного гетероарильного кольца, содержащего один или более гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, или необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, содержащего от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P;

каждая из R' и R'', независимо, выбрана из -H, -OH, -OR, -NHR, -NR<sub>2</sub>, -COR, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$  и необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных

из O, S, N и P;

n является целым числом от 1 до 24;

W выбрана из OO, C=S, CH<sub>2</sub>, BH, SO и SO<sub>2</sub>;

R<sub>6</sub> является -H, -R, -OR, -SR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, галогеном или связывающей группой с присоединенной к ней реакционноспособной группой;

Z и Z', независимо, выбраны из -(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>- и -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>na</sub>-;

n' и na' являются одинаковыми или различными и выбраны из 0, 1, 2 и 3;

R<sub>7</sub> и R<sub>8</sub> являются одинаковыми или различными, и каждая из них независимо выбрана из -H, -OH, -SH, -COOH, -NHR', мономера полиэтиленгликоля -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, аминокислоты, пептидной единицы, несущей от 2 до 6 аминокислот, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода;

R<sub>9</sub>, независимо, выбрана из -H, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-;

A и A' являются одинаковыми или различными и, независимо, выбраны из -O-, оксо (-C(=O)-), -CRR'O-, -CRR'-, -S-, -CRR'S-, -NR<sub>5</sub> и -CRR'N(R<sub>5</sub>)-;

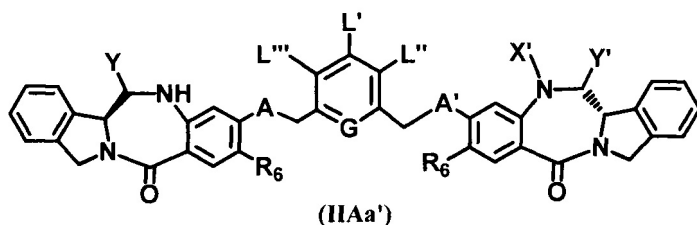
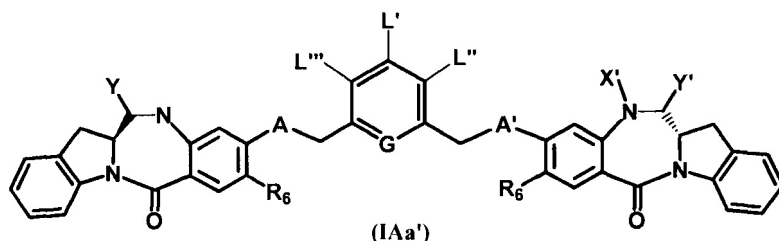
R<sub>5</sub>, в каждом случае независимо, является -H или необязательно замещенным линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода;

D и D' являются одинаковыми или различными и, независимо, отсутствуют или выбраны из группы, состоящей из необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, аминокислоты, пептида, несущего от 2 до 6 аминокислот, и мономера полиэтиленгликоля -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-;

L отсутствует, является связывающей группой с присоединенной к ней реакционноспособной группой, мономером полиэтиленгликоля -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, линейным, разветвленным или циклическим алкилом или алкенилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, фенильной группой, 3-18-членным гетероциклическим кольцом или 5-18-членным гетероарильным кольцом, имеющим от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P, где алкил или алкенил, необязательно, замещены связывающей группой с присоединенной к ней реакционноспособной группой, фенил или гетероциклическое, или гетероарильное кольцо могут быть, необязательно, замещены, причем заместитель может являться связывающей группой с присоединенной к ней реакционноспособной группой.

50. Способ по п. 49, отличающийся тем, что L отсутствует или выбрана из необязательно замещенной фенильной группы и необязательно замещенной пиридинной группы, где фенильная и пиридинная группа несет связывающую группу с присоединенной к ней реакционноспособной группой, либо L является аминогруппой, несущей связывающую группу с присоединенной к ней реакционноспособной группой (т.е. -N(связывающая группа)-), либо L является линейным, разветвленным или циклическим алкилом или алкенилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода и несущим связывающую группу с присоединенной к ней реакционноспособной группой.

51. Способ по п. 49, отличающийся тем, что цитотоксическое соединение, соединенное со связывающей группой посредством присоединенной к ней реакционноспособной группы, представлено любой из следующих формул:



где:

L', L'' и L''' являются одинаковыми или различными и, независимо, выбраны из -H, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $-(OCH_2CH_2)_n-R^c$ , галогена, гуанидиния  $[-NH(C=NH)NH_2]$ , -OR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, -NR'COR'', -SR, сульфоксида, представленного -SOR', сульфона, представленного -SO<sub>2</sub>R', сульфоната -SO<sub>3</sub>M, сульфата -OSO<sub>3</sub>M, сульфонида, представленного -SO<sub>2</sub>NR'R'', цианогруппы, азидной группы, -COR', -OCOR', -CONR'R'' и связывающей группы с присоединенной к ней реакционноспособной группой, при условии, что только одна из L', L'' и L''' является связывающей группой с присоединенной к ней реакционноспособной группой;

M является -H или фармацевтически приемлемым катионом; а

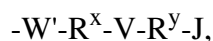
G выбрана из -CH- или -N-.

52. Способ по п. 51, отличающийся тем, что одна из L', L'' или L''' является связывающей группой с присоединенной к ней реакционноспособной группой, в то время как другие являются -H.

53. Способ по п. 52, отличающийся тем, что L' является связывающей группой с присоединенной к ней реакционноспособной группой, а L'' и L''' являются -H.

54. Способ по п. 52 или 53, отличающийся тем, что как A, так и A' являются -O-, R<sub>6</sub> является -OMe, а G является -CH-.

55. Способ по пп. 52, 53 или 54, отличающийся тем, что L' представлена следующей формулой:



где:

W' и V являются одинаковыми или различными, и каждая из них, независимо, отсутствует или выбрана из -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- или -C(=O)-, или аминокислоты, или пептида, имеющего от 2 до 8 аминокислот;

R<sup>x</sup> и R<sup>y</sup> являются одинаковыми или различными, и каждая из них, независимо, отсутствует или является необязательно замещенным линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, арилом, имеющим от 6 до 10 атомов углерода, или 3-8-членным гетероциклическим

кольцом, несущим от 1 до 3 гетероатомов, выбранных из O, N или S;

$R^e$  и  $R^{e'}$  являются одинаковыми или различными и выбраны из -H, линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, или  $-(CH_2-CH_2-O)_n-R^k$ , где  $R^k$  является -H, линейным, разветвленным, циклическим алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода, необязательно несущим вторичную аминогруппу (например,  $-NHR^{101}$ ) или третичную аминогруппу ( $-NR^{101}R^{102}$ ), или 5- или 6-членный азот-содержащий гетероцикл, например, пиперидин или морфолин, где каждая из  $R^{101}$  и  $R^{102}$ , независимо, является линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода; предпочтительно каждая  $R^{101}$  и  $R^{102}$ , независимо, является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода;

n является целым числом от 1 до 24;

J включает реакционноспособную группу, связанную с ней, и выбрана из малеимида, галоацетамида, -SH, -SSR<sup>d</sup>, -CH<sub>2</sub>SH, -CH(Me)SH, -C(Me)<sub>2</sub>SH и -COE, где -COE является реакционноспособным сложным эфиром, выбранным из N-гидроксисукцинимидным эфиром, N-гидроксисульфосукцинимидным эфиром, нитрофениловым (например, 2- или 4-нитрофениловым) эфиром, динитрофениловым (например, 2,4-динитрофениловым) эфиром, сульфотетрафторофениловым (например, 4-сульфо-2,3,5,6-тетрафторофениловым) эфиром и пентафторофениловым эфиром, но не ограничивающимся ими, а  $R^{c1}$  является -H или замещенным, или незамещенным линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 4 атомов углерода, а

$R^d$  выбрана из фенила, нитрофенила (например, 2- или 4-нитрофенила), динитрофенила (например, 2- или 4-нитрофенила), карбоксинитрофенила (например, 3-карбокси-4-нитрофенила), пиридила или нитропиридила (например, 4-нитропиридила).

56. Способ по п. 55, отличающийся тем, что J является -SH, -SSR<sup>d</sup>, малеимидом или N-гидроксисукцинимидным эфиром.

57. Способ по п. 55 или 56, отличающийся тем, что:

$R^{e'}$  является -H или -Me;

$R^e$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода или  $-(CH_2-CH_2-O)_n-R^k$ ;

n является целым числом от 2 до 8; а

$R^k$  является -H, -Me или  $-CH_2CH_2-NMe_2$ .

58. Способ по любому из пп. 55-57, отличающийся тем, что V является аминокислотой или пептидом, имеющим от 2 до 8 аминокислот.

59. Способ по п. 58, отличающийся тем, что V является валин-цитруллином, gly-gly-gly или ala-leu-ala-leu.

60. Способ по п. 55, отличающийся тем, что:

W' является -O-, -N( $R^e$ )- или -N( $R^e$ )-C(=O)-;

$R^e$  является -H, линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 4 атомов углерода, или  $-(CH_2-CH_2-O)_n-R^k$ ;

$R^x$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода;

V отсутствует или является  $-(O-CH_2-CH_2)_n$ -,  $-C(=O)-NH$ -, -S-,  $-NH-C(=O)-$ ;

$R^y$  отсутствует или является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 4 атомов углерода; а

J является -SH, -SSR<sup>d</sup> или -COE.

61. Способ по п. 55, отличающийся тем, что:

W' является -O-, -N(R<sup>e</sup>)- или -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)-;

R<sup>e</sup> является -H, -Me или -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-Me;

n является целым числом от 2 до 6;

R<sup>x</sup> является линейным или разветвленным алкилом, несущим от 1 до 6 атомов углерода;

V и R<sup>y</sup> отсутствуют; а

J является -COE.'

62. Способ по п. 60 или 61, отличающийся тем, что -COE является N-гидроксисукцинимидным эфиром.

63. Способ по п. 55, отличающийся тем, что L' представлена следующей формулой: -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>-COE,

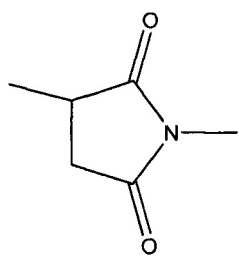
где:

каждая из R<sub>1</sub>", R<sub>2</sub>" и R<sub>3</sub>", независимо, является -H или -Me;

R<sub>4</sub>" является -H, -Me, -SO<sub>3</sub>H или -SO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, где M<sup>+</sup> является фармацевтически приемлемым катионом;

a является целым числом от 0 до 2, b является целым числом от 0 до 3; а

Sy является, необязательно, замещенным 5-членным гетероциклическим кольцом, несущим гетероатом N, предпочтительно Sy является



64. Способ по п. 55 или 63, отличающийся тем, что W' является -N(R<sup>e</sup>)-.

65. Способ по пп. 55, 63 или 64, отличающийся тем, что R<sup>e</sup> является -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>2-6</sub>-R<sup>k</sup>,

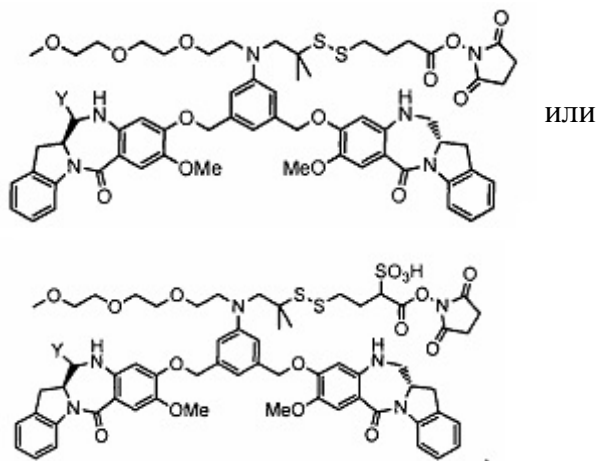
где R<sup>k</sup> является -H, линейным, разветвленным, циклическим алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода.

66. Способ по пп. 55, 63, 64 или 65, отличающийся тем, что V является -S- или -SS-.

67. Способ по пп. 55, 63, 64, 65 или 66, отличающийся тем, что L' представлена следующей формулой:

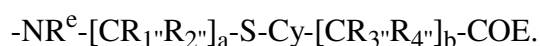
-NR<sup>e</sup>-[CR<sub>1</sub>"R<sub>2</sub>"]<sub>a</sub>-S-[CR<sub>3</sub>"R<sub>4</sub>"]<sub>b</sub>-COE.

68. Способ по пп. 55, 63, 64, 65, 66 или 67, отличающийся тем, что цитотоксическое соединение, соединенное со связывающей группой посредством присоединенной к ней реакционноспособной группы, является:

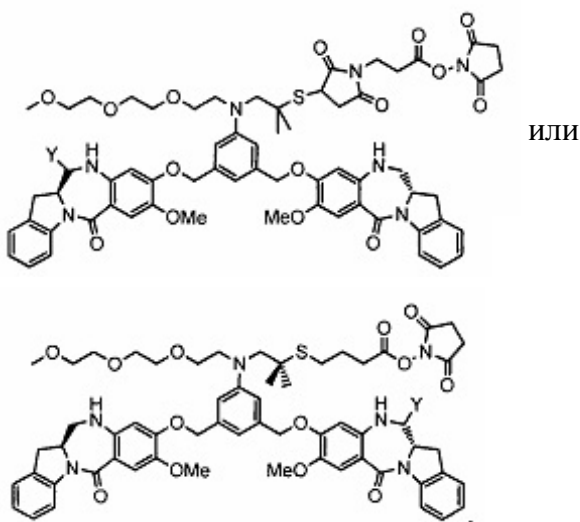


где Y является  $-\text{SO}_3\text{M}$ , а M является H или фармацевтически приемлемым катионом.

69. Способ по пп. 55, 63, 64, 65 или 66, отличающийся тем, что L' представлена следующей формулой:

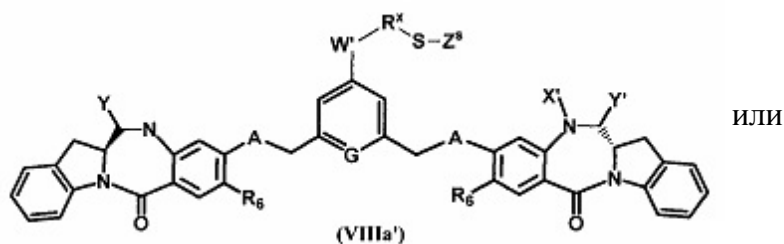


70. Способ по пп. 55, 63, 64, 65, 66 или 68, отличающийся тем, что цитотоксическое соединение, соединенное со связывающей группой посредством присоединенной к ней реакционноспособной группы, является:

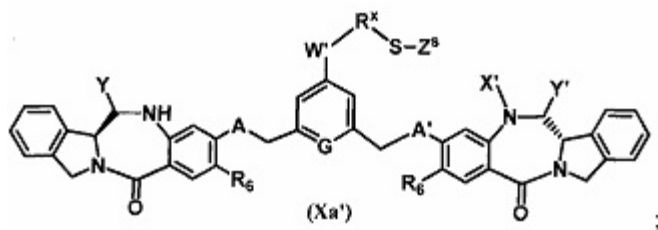


где Y является  $-\text{SO}_3\text{M}$ , а M является -H или фармацевтически приемлемым катионом.

71. Способ по пп. 49, 51 или 55, отличающийся тем, что цитотоксическое соединение, соединенное со связывающей группой посредством присоединенной к ней реакционноспособной группы, представлено любой из следующих формул:







где:

Y выбрана из  $-\text{SO}_3\text{M}$ ,  $-\text{SO}_2\text{M}$  или  $-\text{OSO}_3\text{M}$ ;

М является -Н или фармацевтически приемлемым катионом, например,  $\text{Na}^+$  или  $\text{K}^+$ ;

X' выбрана из группы, состоящей из -H, -ОН, замещенного или незамещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, фенила и амино-блокирующей группы;

Y' выбрана из группы, состоящей из -Н, оксогруппы, замещенного или незамещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода;

A и A' выбраны из -O- и -S-;

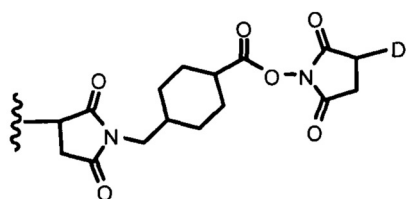
W' отсутствует или выбрана из -O-, -N(R<sup>e</sup>)-, -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)-, -N(C(=O)R<sup>e</sup>)-, -S-или -CH<sub>2</sub>-S-, -CH<sub>2</sub>NR<sup>e</sup>-;

$R^x$  отсутствует или выбрана из линейного, разветвленного или циклического алкила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода;

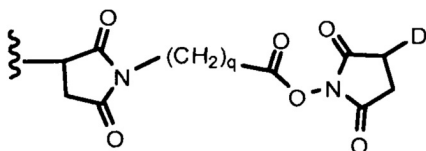
$R^e$  является -H, линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, или  $-(CH_2-CH_2-O)_n-R^k$ , где  $R^k$  является -H, линейным, разветвленным, циклическим алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода, необязательно несущим вторичную аминогруппу (например,  $-NHR^{101}$ ) или третичную аминогруппу ( $-NR^{101}R^{102}$ ), или 5-или 6-членный азот-содержащий гетероцикл, например, пиперидин или морфолин, где каждая из  $R^{101}$  и  $R^{102}$ , независимо, является линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода;

G выбрана из -CH- или -N-;

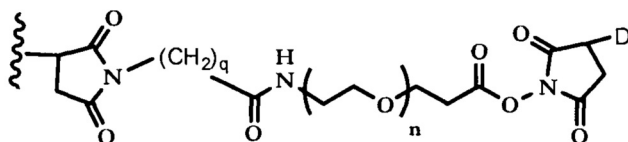
$Z^S$  является -Н или выбрана из любой из следующих формул:



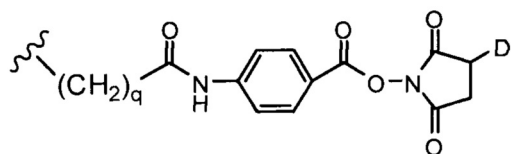
(a1);



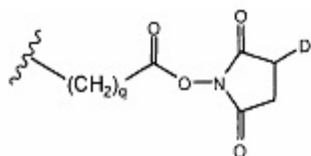
(a2);



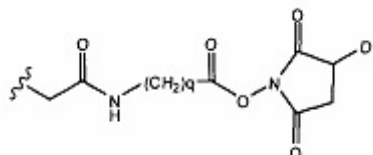
(a3);



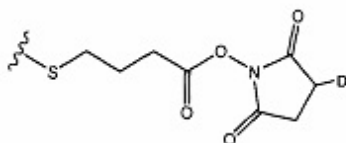
(a4);



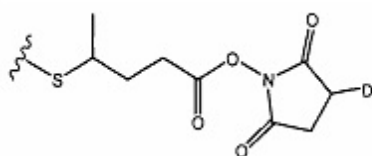
(a5);



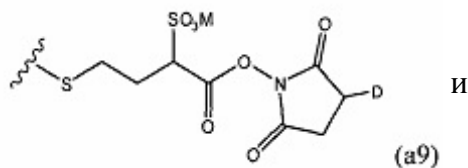
(a6);



(a7);

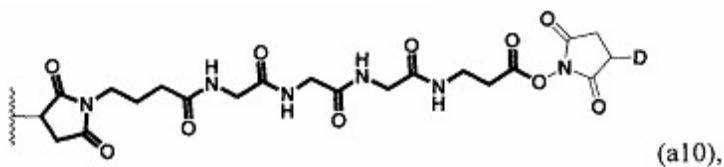


(a8);



И

(a9)



(a10),

где:

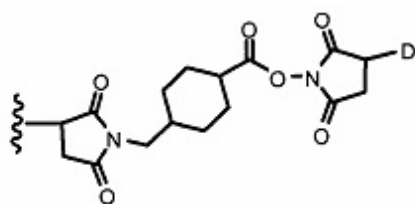
q является целым числом от 1 до 5; предпочтительно q равен 2;

$n$  является целым числом от 2 до 6; предпочтительно  $n$  равен 4;

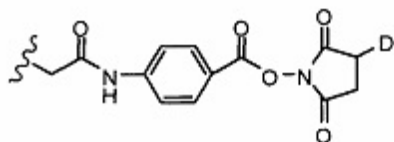
D является -H или -SO<sub>3</sub>M;

М является -Н или фармацевтически приемлемым катионом, например,  $\text{Na}^+$  или  $\text{K}^+$ .

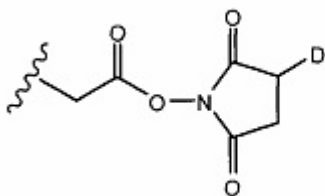
72. Способ по п. 71, отличающийся тем, что  $Z^s$  представлена любой из следующих формул:



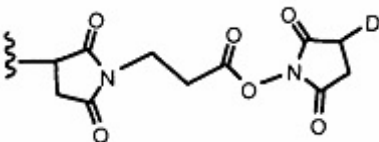
(a1);



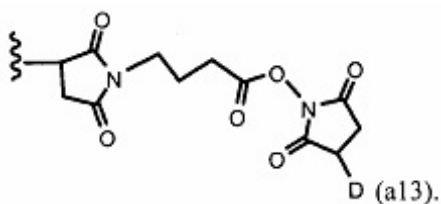
(a4');;



(a5');;



(a12);;



(a13);;

73. Способ по п. 71 или 72, отличающийся тем, что W' является -N(R<sup>e</sup>)-.

74. Способ по п. 73, отличающийся тем, что R<sup>e</sup> является -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-R<sup>k</sup>, где R<sup>k</sup> является -H, линейным, разветвленным, циклическим алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода.

75. Способ по п. 74, отличающийся тем, что R<sup>k</sup> является -H или -Me, n равен 4, а q равен 2.

76. Способ по п. 75, отличающийся тем, что R<sup>x</sup> является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода.

77. Способ по п. 75, отличающийся тем, что R<sup>x</sup> является -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-(CR<sup>f</sup>R<sup>g</sup>)-, где каждая из R<sup>f</sup> и R<sup>g</sup>, независимо, выбрана из -H или линейного или разветвленного алкила, имеющего от 1 до 4 атомов углерода; а p равен 0, 1, 2 или 3.

78. Способ по п. 77, отличающийся тем, что R<sup>f</sup> и R<sup>g</sup> являются одинаковыми или различными и выбраны из -H и -Me; а p равен 1.

79. Способ по любому из пп. 71-78, отличающийся тем, что:

Y является -SO<sub>3</sub>M;

M является -H или фармацевтически приемлемым катионом (например, Na<sup>+</sup>);

как X', так и Y' являются -H;

как A, так и A' являются -O-;

R<sub>6</sub> является -OMe; а

R<sup>x</sup> является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода.

80. Способ по любому из пп. 49-78, отличающийся тем, что Y выбрана из -SO<sub>3</sub>M, -SO<sub>2</sub>M и сульфата -OSO<sub>3</sub>M.

81. Способ по п. 80, отличающийся тем, что Y является -SO<sub>3</sub>M.

82. Способ по любому из пп. 80-81, отличающийся тем, что M является -H, Na<sup>+</sup> или

K<sup>+</sup>.

83. Способ по любому из пп. 49-82, отличающийся тем, что W, если присутствует, является C=O.

84. Способ по любому из пп. 49-83, отличающийся тем, что Z и Z', если присутствуют, являются -CH<sub>2</sub>-.

85. Способ по любому из пп. 49-84, отличающийся тем, что X' выбрана из группы, состоящей из -H, -ОН, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, фенила, связывающей группы с присоединенной к ней реакционноспособной группой и амино-блокирующей группы.

86. Способ по п. 85, отличающийся тем, что X' является -H, -ОН, -Me или связывающей группой с присоединенной к ней реакционноспособной группой.

87. Способ по п. 86, отличающийся тем, что X' является -H.

88. Способ по любому из пп. 49-87, отличающийся тем, что Y' выбрана из группы, состоящей из -H, оксогруппы, замещенного или незамещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода.

89. Способ по п. 88, отличающийся тем, что Y' является -H или оксо.

90. Способ по п. 89, отличающийся тем, что Y' является -H.

91. Способ по любому из пп. 49-90, отличающийся тем, что A и A' являются одинаковыми или различными и выбраны из -O-, -S-, -NR<sub>5</sub>- и оксогруппы -(C=O)-.

92. Способ по п. 91, отличающийся тем, что A и A' являются одинаковыми или различными и выбраны из -O- и -S-.

93. Способ по п. 92, отличающийся тем, что A и A' являются -O-.

94. Способ по любому из пп. 49-93, отличающийся тем, что D и D', если присутствуют, являются одинаковыми или различными и, независимо, выбраны из мономера полиэтиленгликоля (-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>, где n является целым числом от 1 до 24, аминокислоты, пептида, несущего от 2 до 6 аминокислот, или линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, где алкил, алкенил и алкинил, необязательно, замещены одним или более заместителей, независимо выбранных из группы, состоящей из галогена, -OR, -NR'COR'', -SR и -COR'.

95. Способ по п. 94, отличающийся тем, что D и D' являются линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 4 атомов углерода.

96. Способ по пп. 49, 50, 51 или 71, отличающийся тем, что:

W является C=O;

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>1</sub>', R<sub>2</sub>', R<sub>4</sub> и R<sub>4</sub>' являются -H;

одна из R<sub>3</sub> или R<sub>3</sub>', необязательно, является связывающей группой с присоединенной к ней реакционноспособной группой, а другая является -H;

R<sub>6</sub> является -OMe;

Z и Z' являются -CH<sub>2</sub>-;

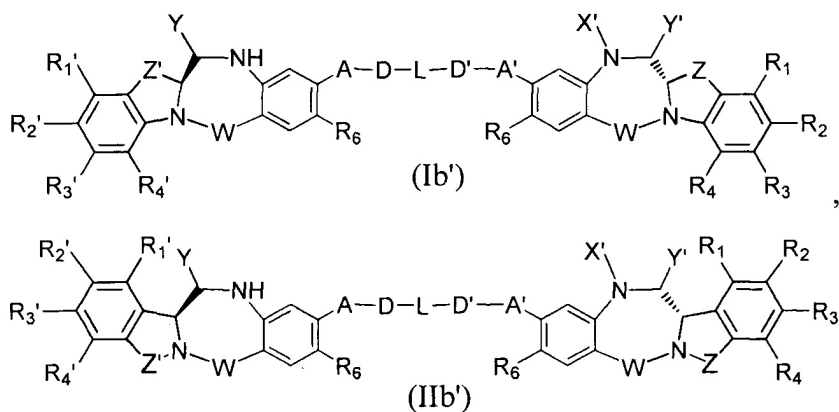
X' является -H;

Y' является -H; а

A и A' являются -O-.

97. Способ по любому из пп. 49-96, отличающийся тем, что связывающая группа с присоединенной к ней реакционноспособной группой является любой группой из Списка 1.

98. Способ по любому из пп. 1-97, отличающийся тем, что цитотоксическое соединение и связывающая группа конъюгата представлены любой из следующих формул:



или его фармацевтически приемлемой солью, где:

Y является уходящей группой и является сульфитом ( $\text{HSO}_3$ ,  $\text{HSO}_2$  или солью  $\text{HSO}_3^-$ ,  $\text{SO}_3^{2-}$  или  $\text{HSO}_2^-$ , образованной катионом), метабисульфитом ( $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_5$  или солью  $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ , образованной катионом), моно-, ди-, три- и тетрафосфатом ( $\text{PO}_3\text{SH}_3$ ,  $\text{PO}_2\text{S}_2\text{H}_2$ ,  $\text{POS}_3\text{H}_2$ ,  $\text{PS}_4\text{H}_2$  или солью  $\text{PO}_3\text{S}^{3-}$ ,  $\text{PO}_2\text{S}_2^{3-}$ ,  $\text{POS}_3^{3-}$  или  $\text{PS}_4^{3-}$ , образованной катионом), сложным эфиром тиофосфата ( $(\text{R}^i\text{O})_2\text{PS}(\text{OR}^i)$ ,  $\text{R}^i\text{S}-$ ,  $\text{R}^i\text{SO}$ ,  $\text{R}^i\text{SO}_2$ ,  $\text{R}^i\text{SO}_3$ , тиосульфатом ( $\text{HS}_2\text{O}_3$  или солью  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ , образованной катионом), дитионитом ( $\text{HS}_2\text{O}_4$  или солью  $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ , образованной катионом), фосфородитиоатом ( $\text{P}(=\text{S})(\text{OR}^k)(\text{S})(\text{OH})$  или его солью, образованной катионом), гидроксамовой кислотой ( $\text{R}^k\text{C}(=\text{O})\text{NOH}$  или солью, образованной катионом), формальдегидсульфоксилатом ( $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-$  или солью  $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-$ , образованной катионом, например,  $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-\text{Na}^+$ ) или их смесью, где  $\text{R}^i$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, и замещен по меньшей мере одним заместителем, выбранным из  $-\text{N}(\text{R}^j)_2$ ,  $-\text{CO}_2\text{H}$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$  и  $-\text{PO}_3\text{H}$ ;  $\text{R}^i$ , необязательно, может быть дополнительно замещен заместителем для алкила, описанным здесь;  $\text{R}^j$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода;  $\text{R}^k$  является линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, арилом, гетероциклилом или гетероарилом;

$\text{X}'$  выбрана из -H, амин-блокирующей группы, связывающей группы, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля -  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{R}^c$ , необязательно замещенного арила, имеющего от 6 до 18 атомов углерода, необязательно замещенного 5-18-членного гетероарильного кольца, содержащего один или более гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, и необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, содержащего от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P;

$\text{Y}'$  выбрана из -H, оксогруппы, связывающей группы, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, необязательно замещенного 6-18-членного арила, необязательно замещенного 5-18-членного гетероарильного кольца, содержащего один или более гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, имеющего от

1 до 6 гетероатомов;

$R^c$  является -H или замещенным, или незамещенным линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 4 атомов углерода или связывающей группой;

каждая из  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_1', R_2', R_3'$  и  $R_4'$ , независимо, выбрана из группы, состоящей из -H, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $-(OCH_2CH_2)_n-R^c$ , галогена, гуанидиния  $[-NH(C=NH)NH_2]$ , -OR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, -NCO, -NR'COR'', -SR, сульфоксида, представленного -SOR', сульфона, представленного -SO<sub>2</sub>R', сульфоната -SO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, сульфата -OSO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, сульфонида, представленного -SO<sub>2</sub>NR'R'', цианогруппы, азидной группы, -COR', -OCOR', -OCONR'R'' и связывающей группы;

M является -H или фармацевтически приемлемым катионом, например, Na<sup>+</sup>;

R, в каждом случае независимо, выбрана из группы, состоящей из -H, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$ , необязательно замещенного арила, имеющего от 6 до 18 атомов углерода, необязательно замещенного 5-18-членного гетероарильного кольца, содержащего один или более гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, или необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, содержащего от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P;

каждая из R' и R'', независимо, выбрана из -H, -OH, -OR, -NHR, -NR<sub>2</sub>, -COR, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $-(CH_2CH_2O)_n-R^c$  и необязательно замещенного 3-18-членного гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P;

n является целым числом от 1 до 24;

W выбрана из C=O, C=S, CH<sub>2</sub>, BH, SO и SO<sub>2</sub>;

R<sub>6</sub> является -H, -R, -OR, -SR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, галогеном или связывающей группой;

Z и Z', независимо, выбраны из  $-(CH_2)_n-$ ,  $-(CH_2)_n-CR_7R_8-(CH_2)_{n'a}-$ ,  $-(CH_2)_n-NR_9-(CH_2)_{n'a}-$ ,  $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_{n'a}-$  и  $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_{n'a}-$ ;

n' и n'a являются одинаковыми или различными и выбраны из 0, 1, 2 и 3;

R<sub>7</sub> и R<sub>8</sub> являются одинаковыми или различными, и каждая из них, независимо, выбрана из -H, -OH, -SH, -COOH, -NHR', мономера полиэтиленгликоля  $-(OCH_2CH_2)_n-$ , аминокислоты, пептидной единицы, несущей от 2 до 6 аминокислот, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода;

R<sub>9</sub>, независимо, выбрана из -H, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $-(OCH_2CH_2)_n$ ;

A и A' являются одинаковыми или различными и, независимо, выбраны из -O-, оксо  $-C(=O)-$ , -CRR'O-, -CRR'-, -S-, -CRR'S-, -N(R<sub>5</sub>)- и -CRR'N(R<sub>5</sub>)-,

R<sub>5</sub>, в каждом случае независимо, является -H или необязательно замещенным линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода;

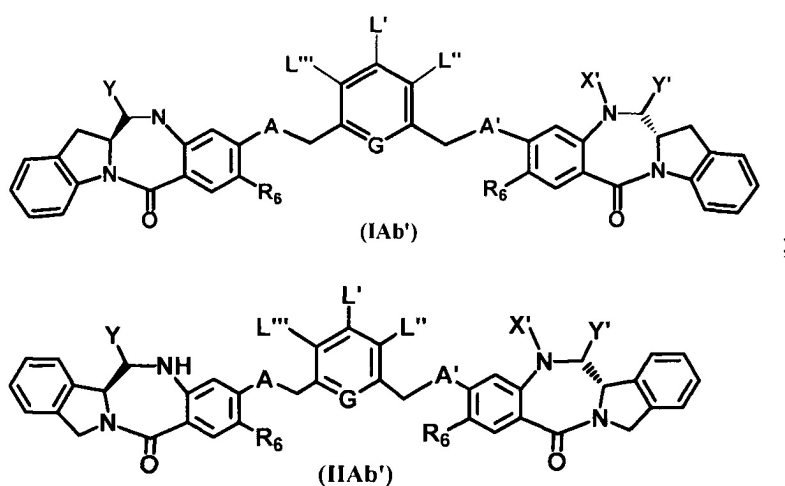
D и D' являются одинаковыми или различными и, независимо, отсутствуют или выбраны из группы, состоящей из необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, аминокислоты, пептида, несущего от 2 до 6 аминокислот, и мономера полиэтиленгликоля  $(-OCH_2CH_2)_n$ ;

L отсутствует, является связывающей группой, мономером полиэтиленгликоля  $(-OCH_2CH_2)_n$ , необязательно замещенным линейным, разветвленным или циклическим алкилом или алкенилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, фенильной группой, 3-18-членным гетероциклическим кольцом или 5-18-членным гетероарильным кольцом, имеющим от 1 до 6 гетероатомов, независимо выбранных из O, S, N и P, где алкил или алкенил, необязательно, замещены связывающей группой, фенил или гетероциклическое или гетероарильное кольцо могут быть, необязательно, замещены, причем заместитель может включать связывающую группу.

99. Способ по п. 98, отличающийся тем, что Y является  $-SO_2M$ ,  $-SO_3M$  или  $-OSO_3M$ .

100. Способ по п. 98 или 99, отличающийся тем, что L отсутствует или выбрана из необязательно замещенной фенильной группы и необязательно замещенной пиридинной группы, где фенильная и пиридинная группа несет связывающую группу, либо L является аминогруппой, несущей связывающую группу (т.е.  $-N(\text{связывающая группа})$ ), либо L является линейным, разветвленным или циклическим алкилом или алкенилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода и несущим связывающую группу.

101. Способ по п. 98 или 99, отличающийся тем, что цитотоксическое соединение, соединенное со связывающей группой, представлено любой из следующих формул:



где:

L', L'' и L''' являются одинаковыми или различными и, независимо, выбраны из -H, необязательно замещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, мономера полиэтиленгликоля  $(-OCH_2CH_2)_n$ -R<sup>c</sup>, галогена, гуанидиния  $[-NH(C=NH)NH_2]$ , -OR, -NR'R'', -NO<sub>2</sub>, -NR'COR'', -SR, сульфоксида, представленного -SOR', сульфона, представленного -SO<sub>2</sub>R', сульфоната -SO<sub>3</sub>M, сульфата -OSO<sub>3</sub>M, сульфонида, представленного -SO<sub>2</sub>NR'R'', цианогруппы, азидной группы, -COR', -OCOR', -OCONR'R'' и связывающей группы, при условии, что только одна из L', L'' и L''' является связывающей группой; а G выбрана из -CH- или -N-.

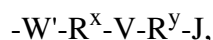
102. Способ по п. 101, отличающийся тем, что одна из L', L'' или L''' является связывающей группой, а другие являются -H.

103. Способ по п. 102, отличающийся тем, что L' является связывающей группой, а

L'' и L''' являются -H.

104. Способ по п. 102 или 103, отличающийся тем, что как A, так и A' являются -O-, R<sub>6</sub> является -OMe, а G является -CH-.

105. Способ по пп. 102, 103 или 104, отличающийся тем, что L' представлена следующей формулой:



где:

W' и V являются одинаковыми или различными, и каждая из них, независимо, отсутствует или выбрана из -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- или -C(=O)-, или аминокислоты, или пептида, имеющего от 2 до 8 аминокислот;

R<sup>x</sup> и R<sup>y</sup> являются одинаковыми или различными, и каждая из них, независимо, отсутствует или является необязательно замещенным линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, арилом, имеющим от 6 до 10 атомов углерода, или 3-8-членным гетероциклическим кольцом, несущим от 1 до 3 гетероатомов, выбранных из O, N или S;

R<sup>e</sup> и R<sup>e'</sup> являются одинаковыми или различными и выбраны из -H, линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, или -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-R<sup>k</sup>, где R<sup>k</sup> является -H, линейным, разветвленным, циклическим алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода, необязательно несущим вторичную аминогруппу (например, -NHR<sup>101</sup>) или третичную аминогруппу (-NR<sup>101</sup>R<sup>102</sup>), или 5- или 6-членный азот-содержащий гетероцикл, например, пиперидин или морфолин, где каждая из R<sup>101</sup> и R<sup>102</sup>, независимо, является линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода; предпочтительно каждая R<sup>101</sup> и R<sup>102</sup>, независимо, является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода;

n является целым числом от 1 до 24; а

J ковалентно связана с CBA и выбрана из сукцинимиды, ацетамида, -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- и -C(=O)-, где R<sup>c1</sup> является -H или замещенным, или незамещенным линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 4 атомов углерода.

106. Способ по п. 105, отличающийся тем, что J является -S-, -SS-, сукцинимидом или -C(=O)-.

107. Способ по п. 105 или 106, отличающийся тем, что:

R<sup>e'</sup> является -H или -Me;

R<sup>e</sup> является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода, или -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-R<sup>k</sup>;

n является целым числом от 2 до 8; а

R<sup>k</sup> является -H, -Me или -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-NMe<sub>2</sub>.

108. Способ по любому из пп. 105-107, отличающийся тем, что V является аминокислотой или пептидом, имеющим от 2 до 8 аминокислот.

109. Способ по п. 108, отличающийся тем, что V является валин-цитруллином, gly-



gly-gly или ala-leu-ala-leu.

110. Способ по п. 105, отличающийся тем, что:

W' является -O-, -N(R<sup>e</sup>)- или -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)-;

R<sup>e</sup> является -H, линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 4 атомов углерода, или -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-R<sup>k</sup>;

R<sup>x</sup> является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода;

V отсутствует или является -(O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, -C(=O)-NH-, -S-, -NH-C(=O)-;

R<sup>y</sup> отсутствует или является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 4 атомов углерода; а

J является -S-, -SS- или -C(=O)-.

111. Способ по п. 105, отличающийся тем, что:

W' является -O-, -N(R<sup>e</sup>)- или -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)-;

R<sup>e</sup> является -H, -Me или -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-Me;

n является целым числом от 2 до 6;

R<sup>x</sup> является линейным или разветвленным алкилом, несущим от 1 до 6 атомов углерода;

V и R<sup>y</sup> отсутствуют; а

J является -C(=O)-.

112. Способ по п. 105, отличающийся тем, что L' представлена следующей формулой:  
-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)-,

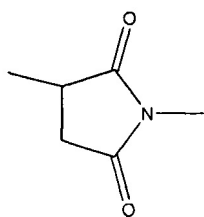
где:

каждая из R<sub>1</sub>", R<sub>2</sub>" и R<sub>3</sub>", независимо, является -H или -Me;

R<sub>4</sub>" является -H, -Me, -SO<sub>3</sub>H или -SO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>, где M<sup>+</sup> является фармацевтически приемлемым катионом;

a является целым числом от 0 до 2, b является целым числом от 0 до 3; а

Su является, необязательно, замещенным 5-членным гетероциклическим кольцом, несущим гетероатом N, предпочтительно Su является



113. Способ по п. 105 или 112, отличающийся тем, что W' является -N(R<sup>e</sup>)-.

114. Способ по пп. 105, 112 или 113, отличающийся тем, что R<sup>e</sup> является -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>2-6</sub>-R<sup>k</sup>, где R<sup>k</sup> является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода.

115. Способ по пп. 105, 112, 113 или 114, отличающийся тем, что V является -S- или -SS-.

116. Способ по пп. 105, 112, 113, 114 или 115, отличающийся тем, что L' представлена следующей формулой:

-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)-.

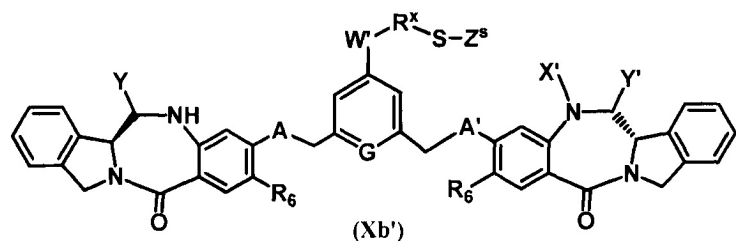
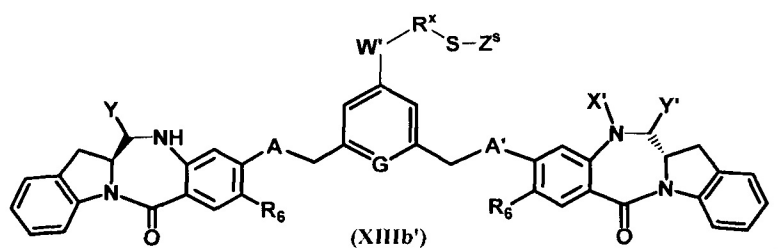
**RU 2017117634 A**


$$-\text{NR}^e-[\text{CR}_1^a\text{R}_2^a]_a-\text{S}-\text{Cy}-[\text{CR}_3^b\text{R}_4^b]_b-\text{C}(=\text{O})-$$

или

122. Способ по пп. 98, 99 или 101, отличающийся тем, что цитотоксическое соединение,

соединенное со связывающей группой, представлено следующей формулой:



где:

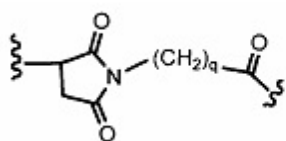
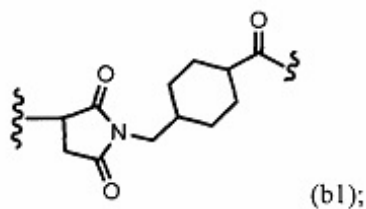
W' отсутствует или выбрана из -O-, -N(R<sup>e</sup>)-, -N(R<sup>e</sup>)-C(=O)-, -N(C(=O)R<sup>e</sup>)-, -S-, -CH<sub>2</sub>-S- или -CH<sub>2</sub>NR<sup>e</sup>-;

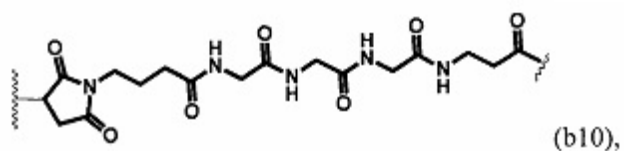
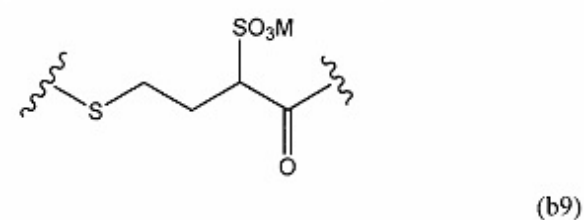
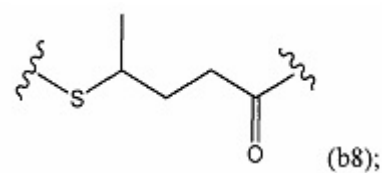
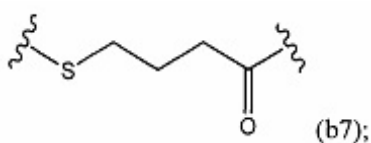
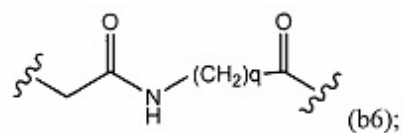
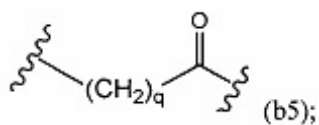
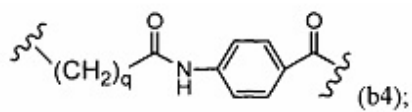
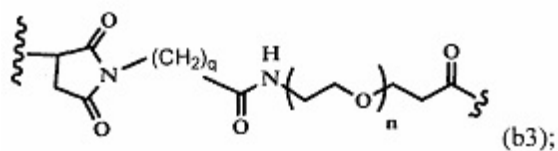
R<sup>x</sup> отсутствует или выбрана из линейного, разветвленного или циклического алкила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода;

R<sup>e</sup> является -H, линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, или -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-R<sup>k</sup>, где R<sup>k</sup> является -H, линейным, разветвленным, циклическим алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода, необязательно несущим вторичную аминогруппу (например, -NHR<sup>101</sup>) или третичную аминогруппу (-NR<sup>101</sup>R<sup>102</sup>), или 5-или 6-членный азот-содержащий гетероцикл, например, пиперидин или морфолин, где каждая из R<sup>101</sup> и R<sup>102</sup>, независимо, является линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода;

n является целым числом от 2 до 6;

Z<sup>s</sup> присоединена к СВА и выбрана из:  
связи;



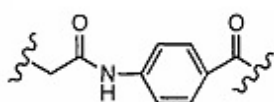
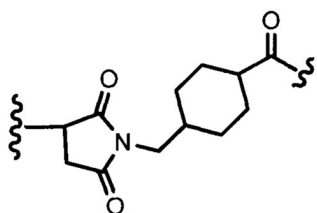


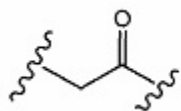
где:

q является целым числом от 1 до 5; а

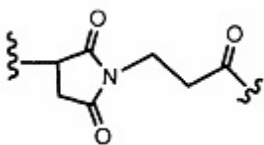
М является -Н или фармацевтически приемлемым катионом, например, Na<sup>+</sup> или K<sup>+</sup>.

123. Способ по п. 122, отличающийся тем, что Z<sup>S</sup> является:

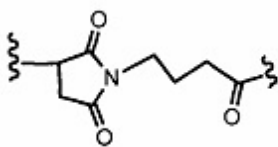




(b5\*);



(b12);



(b13).

124. Способ по п. 122 или 123, отличающийся тем, что  $W'$  является  $-N(R^e)-$ .

125. Способ по п. 124, отличающийся тем, что  $R^e$  является  $-(CH_2-CH_2-O)_n-R^k$ , где  $R^k$  является -H, линейным, разветвленным, циклическим алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода.

126. Способ по п. 125, отличающийся тем, что  $R^k$  является -H или -Me,  $n$  равен 4, а  $q$  равен 2.

127. Способ по п. 126, отличающийся тем, что  $R^x$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода.

128. Способ по п. 126, отличающийся тем, что  $R^x$  является  $-(CH_2)_p-(CR^fR^g)-$ , где каждая из  $R^f$  и  $R^g$ , независимо, выбрана из H или линейного или разветвленного алкила, имеющего от 1 до 4 атомов углерода; а  $p$  равен 0, 1, 2 или 3.

129. Способ по п. 128, отличающийся тем, что  $R^f$  и  $R^g$  являются одинаковыми или различными и выбраны из H и Me; а  $p$  равен 1.

130. Способ по любому из пп. 122-129, отличающийся тем, что:  
 $Y$  является  $-SO_3M$ ;

$M$  является -H или фармацевтически приемлемым катионом (например,  $Na^+$ );  
как  $X'$ , так и  $Y'$  являются -H;  
как  $A$ , так и  $A'$  являются -O-;  
 $R_6$  является -OMe; а

$R^x$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода.

131. Способ по любому из пп. 98-129, отличающийся тем, что  $Y$  выбрана из  $-SO_3M$ ,  $-SO_2M$  и сульфата  $-OSO_3M$ .

132. Способ по п. 131, отличающийся тем, что  $Y$  является  $-SO_3M$ .

133. Способ по любому из пп. 131-132, отличающийся тем, что  $M$  является -H,  $Na^+$  или  $K^+$ .

134. Способ по любому из пп. 98-133, отличающийся тем, что  $W$ , если присутствует, является  $C=O$ .

135. Способ по любому из пп. 98-134, отличающийся тем, что  $Z$  и  $Z'$ , если присутствуют, являются  $-CH_2-$ .

136. Способ по любому из пп. 98-135, отличающийся тем, что  $X'$  выбрана из группы, состоящей из -H, -OH, необязательно замещенного линейного, разветвленного или

циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, фенила, связывающей группы и amino-блокирующей группы.

137. Способ по п. 136, отличающийся тем, что X' является -H, -OH, -Me или связывающей группой.

138. Способ по п. 137, отличающийся тем, что X' является -H.

139. Способ по любому из пп. 98-138, отличающийся тем, что Y' выбрана из группы, состоящей из -H, оксогруппы, замещенного или незамещенного линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода.

140. Способ по п. 139, отличающийся тем, что Y' является -H или оксо.

141. Способ по п. 140, отличающийся тем, что Y' является -H.

142. Способ по любому из пп. 98-141, отличающийся тем, что A и A' являются одинаковыми или различными и выбраны из -O-, -S-, -N(R<sub>5</sub>)- и оксогруппы (C=O).

143. Способ по п. 142, отличающийся тем, что A и A' являются одинаковыми или различными и выбраны из -O- и -S-.

144. Способ по п. 143, отличающийся тем, что A и A' являются -O-.

145. Способ по любому из пп. 98-144, отличающийся тем, что D и D', если присутствуют, являются одинаковыми или различными и, независимо, выбраны из мономера полиэтиленгликоля  $(-OCH_2CH_2)_n$ , где n является целым числом от 1 до 24, аминокислоты, пептида, несущего от 2 до 6 аминокислот, или линейного, разветвленного или циклического алкила, алкенила или алкинила, имеющего от 1 до 10 атомов углерода, где алкил, алкенил и алкинил, необязательно, замещены одним или более заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, -OR, -NR'COR'', -SR и -COR'.

146. Способ по п. 145, отличающийся тем, что D и D' являются линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 4 атомов углерода.

147. Способ по пп. 98, 99, 101 или 122, отличающийся тем, что:

Y является -SO<sub>3</sub>M;

M является -H или фармацевтически приемлемым катионом (например, Na<sup>+</sup>);

W является C=O;

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>1</sub>', R<sub>2</sub>', R<sub>4</sub> и R<sub>4</sub>' являются -H;

одна из R<sub>3</sub> или R<sub>3</sub>', необязательно, является связывающей группой, а другая является -H;

R<sub>6</sub> является -OMe;

Z и Z' являются -CH<sub>2</sub>-;

X' является -H;

Y' является -H; а

A и A' являются -O-.

148. Способ по любому из пп. 98-147, отличающийся тем, что конъюгат включает 1-10 цитотоксических соединений, каждое цитотоксическое соединение присоединено к СВА посредством связывающей группы, и каждое цитотоксическое соединения в составе конъюгата одинаковы.

149. Способ по любому из пп. 1-9 и 14-22, отличающийся тем, что конъюгат включает 1-10 модифицированных цитотоксических соединений, каждое модифицированное цитотоксическое соединение присоединено к СВА посредством связывающей группы, и каждое модифицированное цитотоксическое соединения в составе конъюгата одинаковы.

150. Способ по любому из пп. 98-149, отличающийся тем, что агент, связывающийся с клетками, связывается с клетками-мишенями, выбранными из опухолевых клеток,

клеток, инфицированных вирусом, клеток, инфицированных микроорганизмами, клеток, инфицированных паразитами, аутоиммунных клеток, активированных клеток, миелоидных клеток, активированных Т-клеток, В-клеток или меланоцитов; клеток, экспрессирующих CD4, CD6, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD37, CD38, CD40, CD44, CD56, ЕpCAM, CanAg, CALLA или антигены HER-2, антигены Her-3; или клеток, экспрессирующих рецептор инсулиноподобного фактора роста, рецептор эпидермального фактора роста и рецептор фолата.

151. Способ по п. 150, отличающийся тем, что агент, связывающийся с клетками, является антителом, одноцепочечным антителом, фрагментом антитела, специфически связывающимся с клеткой-мишенью, моноклональным антителом, одноцепочечным моноклональным антителом или фрагментом моноклонального антитела, специфически связывающимся с клеткой-мишенью, химерным антителом, фрагментом химерного антитела, специфически связывающимся с клеткой-мишенью, доменным антителом, фрагментом доменного антитела, специфически связывающимся с клеткой-мишенью, лимфокином, гормоном, витамином, фактором роста, колониестимулирующим фактором или молекулой транспорта питательных веществ.

152. Способ по п. 151, отличающийся тем, что антитело является антителом с модифицированной поверхностью, одноцепочечным антителом с модифицированной поверхностью или фрагментом антитела с модифицированной поверхностью.

153. Способ по п. 151, отличающийся тем, что антитело является моноклональным антителом, одноцепочечным моноклональным антителом или фрагментом моноклонального антитела.

154. Способ по п. 151, отличающийся тем, что антитело является гуманизированным антителом, гуманизированным одноцепочечным антителом или фрагментом гуманизированного антитела.

155. Способ по любому из пп. 2-154, отличающийся тем, что реагент, способный взаимодействовать с имидами, выбран из группы, состоящей из сульфитов ( $\text{H}_2\text{SO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_2$  или соли  $\text{HSO}_3^-$ ,  $\text{SO}_3^{2-}$  или  $\text{HSO}_2^-$ , образованной катионом), метабисульфита ( $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_5$  или соли  $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ , образованной катионом), моно-, ди-, три- и тетрафосфатов ( $\text{PO}_3\text{SH}_3$ ,  $\text{PO}_2\text{S}_2\text{H}_3$ ,  $\text{POS}_3\text{H}_3$ ,  $\text{PS}_4\text{H}_3$  или соли  $\text{PO}_3\text{S}^{3-}$ ,  $\text{PO}_2\text{S}_2^{3-}$ ,  $\text{POS}_3^{3-}$  или  $\text{PS}_4^{3-}$ , образованной катионом), сложных эфиров тиофосфата ( $(\text{R}^i\text{O})_2\text{PS}(\text{OR}^i)$ ,  $\text{R}^i\text{SH}$ ,  $\text{R}^i\text{SOH}$ ,  $\text{R}^i\text{SO}_2\text{H}$ ,  $\text{R}^i\text{SO}_3\text{H}$ ), различных аминов (гидроксиламина (например,  $\text{NH}_2\text{OH}$ ), гидразина (например,  $\text{NH}_2\text{NH}_2$ ),  $\text{NH}_2\text{O}-\text{R}^i$ ,  $\text{R}^i\text{NH}-\text{R}^i$ ,  $\text{NH}_2-\text{R}^i$ ),  $\text{NH}_2-\text{CO}-\text{NH}_2$ ,  $\text{NH}_2-\text{C}(=\text{S})-\text{NH}_2$ , тиосульфата ( $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_3$  или соли  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ , образованной катионом), дитионита ( $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_4$  или соли  $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ , образованной катионом), фосфородитиоата ( $\text{P}(=\text{S})(\text{OR}^k)(\text{SH})(\text{OH})$  или его соли, образованной катионом), гидроксамовой кислоты ( $\text{R}^k\text{C}(=\text{O})\text{NHOH}$  или соли, образованной катионом), гидразида ( $\text{R}^k\text{CONHNH}_2$ ), формальдегидсульфоксилата ( $\text{HOCH}_2\text{SO}_2\text{H}$  или соли  $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-$ , образованной катионом, например,  $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-\text{Na}^+$ ), гликозилированного нуклеотида (например, GDP-маннозы), флударабина или их смеси, где  $\text{R}^i$  и  $\text{R}^j$ , независимо, являются линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, и замещены по меньшей мере одним заместителем, выбранным из  $-\text{N}(\text{R}^j)_2$ ,  $-\text{CO}_2\text{H}$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$  и  $-\text{PO}_3\text{H}$ ;  $\text{R}^i$  и  $\text{R}^j$ , необязательно, могут быть дополнительно замещены заместителем для алкила, описанным здесь;  $\text{R}^j$  является

линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода; а  $R^k$  является линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, арилом, гетероциклом или гетероарилом.

156. Способ по любому из пп. 2-154, отличающийся тем, что реагент, способный взаимодействовать с имидами, выбран из сульфитов, гидроксиламина, гидразина и мочевины.

157. Способ по любому из пп. 2-154, отличающийся тем, что реагент, способный взаимодействовать с имидами, является  $NaHSO_3$  или  $KHSO_3$ .

158. Способ по любому из пп. 2-157, отличающийся тем, что используют от приблизительно 0,1 до приблизительно 30 молярных эквивалентов реагента, способного взаимодействовать с имидами, по отношению к имин-содержащему цитотоксическому соединению.

159. Способ по любому из пп. 2-157, отличающийся тем, что используют от приблизительно 1 до приблизительно 10 молярных эквивалентов реагента, способного взаимодействовать с имидами, по отношению к имин-содержащему цитотоксическому соединению.

160. Способ по любому из пп. 2-157, отличающийся тем, что используют от приблизительно 3 до приблизительно 5 молярных эквивалентов реагента, способного взаимодействовать с имидами, по отношению к имин-содержащему цитотоксическому соединению.

161. Способ по любому из пп. 1-160, отличающийся тем, что бифункциональный сшивающий агент является: группой на основе малеимида, выбранной из: N-сукцинимидил-4-(малеимидометил)циклогексанкарбоксилата (SMCC), N-сукцинимидил-4-(N-малеимидометил)-циклогексан-1-карбокси-(6-амидокапроата) (LC-SMCC), N-сукцинимидилового эфира  $\kappa$ -малеимидоундекановой кислоты (KMUA), N-сукцинимидилового эфира  $\gamma$ -малеимидомасляной кислоты (GMBS), N-гидроксисукцинимидного эфира  $\epsilon$ -малеимидокапроновой кислоты (EMCS), м-малеимидобензоил-М-гидроксисукцинимидного эфира (MBS), N-( $\alpha$ -малеимидоацетокси)-сукцинимидного эфира (AMAS), сукцинимидил-6-( $\beta$ -малеимидопропионамид)гексаноата (SMPH), N-сукцинимидил-4-(п-малеимидофенил)бутирата (SMPB), N-(п-малеимидофенил)изоцианата (PMPI), N-сукцинимидил-4-(4-нитропиридил-2-дитио)бутаноата; либо группой на основе галоацетила, выбранной из: N-сукцинимидил-4-(иодоацетил)-аминобензоата (SIAB), N-сукцинимидилиодоацетата (SIA), N-сукцинимидилбромоеацетата (SBA) и N-сукцинимидил-3-(бромоеацетамидо)пропионата (SBAP), бис-малеимидополиэтиленгликоля (BMPEO),  $BM(PEO)_2$ ,  $BM(PEO)_3$ , N-( $\beta$ -малеимидопропилокси)сукцинимидного эфира (BMPS), NHS 5-малеимидовалериановой кислоты, HBVS, гидразида  $\cdot HCl$  4-(4-N-малеимидофенил)-масляной кислоты (MPBH), сукцинимидил-(4-винилсульфонил)бензоата (SVSB), дитиобис-малеимидоэтана (DTME), 1,4-бис-малеимидобутана (BMB), 1,4-бисмалеимидил-2,3-дигидроксибутана (BMDV), бис-малеимидогексана (BMH), бис-малеимидоэтана (BMOE), сульфосукцинимидил 4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилата (сульфо-SMCC), сульфосукцинимидил (4-иодоацетил)аминобензоата (сульфо-SIAB), м-малеимидобензоил-N-гидроксисульфосукцинимидного эфира (сульфо-MBS), N-( $\gamma$ -малеимидобутирилокси) сульфосукцинимидного эфира (сульфо-GMBS), N-( $\epsilon$ -малеимидокапроилокси) сульфосукцинимидного эфира (сульфо-EMCS), N-( $\kappa$ -малеимидоундеканилокси) сульфосукцинимидного эфира (сульфо-KMUS), сульфосукцинимидил-4-(п-малеимидофенил)бутирата (сульфо-SMPB), CX1-1, сульфо-Mal и ПЭГ<sub>n</sub>-Mal.

162. Способ по любому из пп. 1-161, отличающийся тем, что бифункциональный

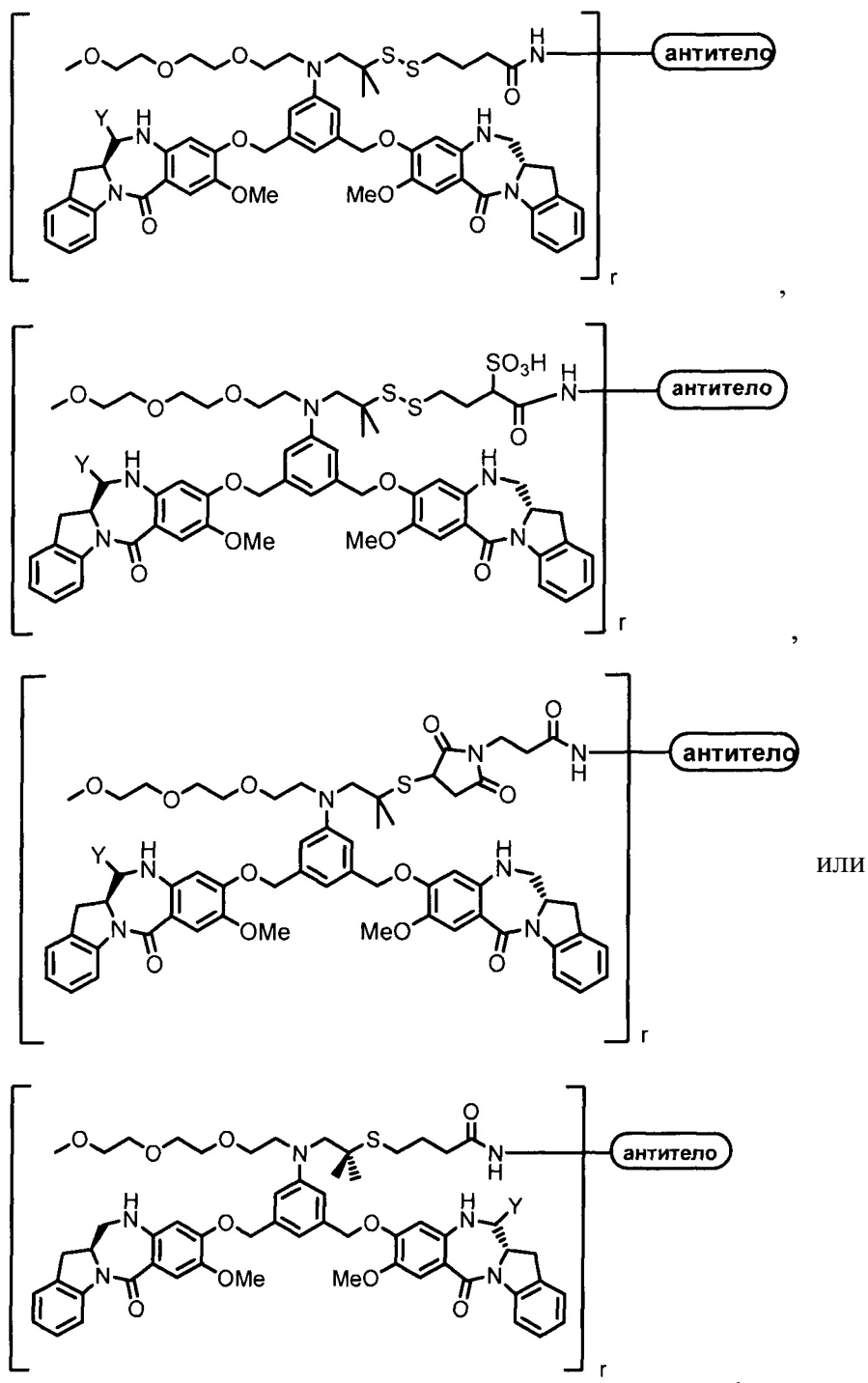


сшивающий агент выбран из группы, состоящей из SMCC, сульфо-SMCC, BMPS, GMBS, SIA, SIAB, N-сукцинимидил-4-(4-нитропиридил-2-дитио)бутаноата, бис-малеимидагексана или BMPEO.

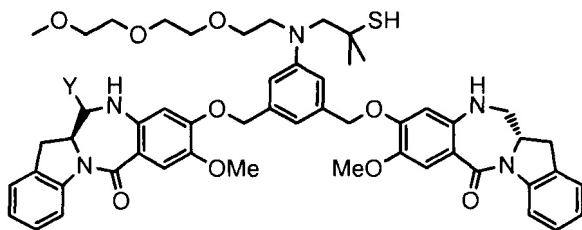
163. Способ по любому из пп. 1-162, отличающийся тем, что конъюгат очищают с помощью тангенциальной проточной фильтрации, адсорбционной хроматографии, адсорбционной фильтрации, избирательного осаждения, неабсорбционной фильтрации или их комбинации.

164. Способ по любому из пп. 1-162, отличающийся тем, что конъюгат очищают с помощью тангенциальной проточной фильтрации и/или адсорбционной хроматографии.

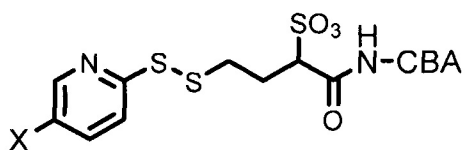
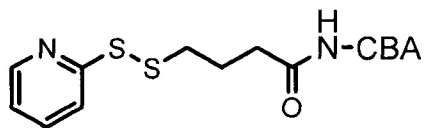
165. Способ получения конъюгата следующей формулы:



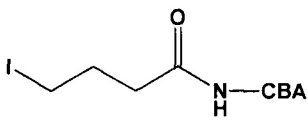
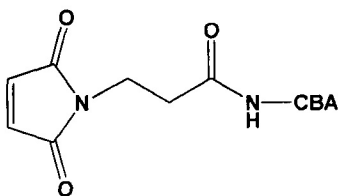
способ, включающий взаимодействие модифицированного цитотоксического соединения следующей формулы



с модифицированным СВА следующей формулы, соответственно, при рН от приблизительно 4 до приблизительно 9,



$X = -H$  или  $-NO_2$



где:

г является целым числом от 1 до 10;

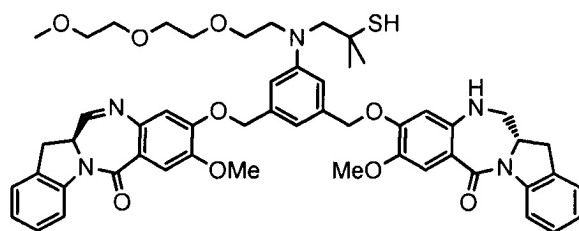
Y является уходящей группой и является сульфитом ( $HSO_3^-$ ,  $HSO_2^-$  или солью  $HSO_3^-$ ,  $SO_3^{2-}$  или  $HSO_2^-$ , образованной катионом), метабисульфитом ( $H_2S_2O_5$  или солью  $S_2O_5^{2-}$ , образованной катионом), моно-, ди-, три- и тетрафосфатом ( $PO_3SH_3$ ,  $PO_2S_2H_2$ ,  $POS_3H_2$ ,  $PS_4H_2$  или солью  $PO_3S^{3-}$ ,  $PO_2S_2^{3-}$ ,  $POS_3^{3-}$  или  $PS_4^{3-}$ , образованной катионом), сложным эфиром тиофосфата ( $(R^iO)_2PS(OR^i)$ ,  $R^iS-$ ,  $R^iSO$ ,  $R^iSO_2$ ,  $R^iSO_3$ , тиосульфатом ( $HS_2O_3$  или солью  $S_2O_3^{2-}$ , образованной катионом), дитионитом ( $HS_2O_4$  или солью  $S_2O_4^{2-}$ , образованной катионом), фосфородитиоатом ( $P(=S)(OR^{k'})_2(S)(OH)$  или его солью, образованной катионом), гидроксамовой кислотой ( $R^{k'}C(=O)NOH$  или солью, образованной катионом), формальдегидсульфоксилатом ( $HOCH_2SO_2^-$  или солью  $HOCH_2SO_2^-$ , образованной катионом, например,  $HOCH_2SO_2^-Na^+$ ) или их смесью, где  $R^i$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, и замещен по меньшей мере одним заместителем, выбранным из  $-N(R^j)_2$ ,  $-CO_2H$ ,  $-SO_3H$  и  $-PO_3H_2$ ;  $R^i$ , необязательно, может быть дополнительно замещен заместителем для алкила,

описанным здесь;  $R^j$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода;  $R^k$  является линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, арилом, гетероциклилом или гетероарилом; предпочтительно Y является  $-SO_3M$ ; а

M является -H или фармацевтически приемлемым катионом.

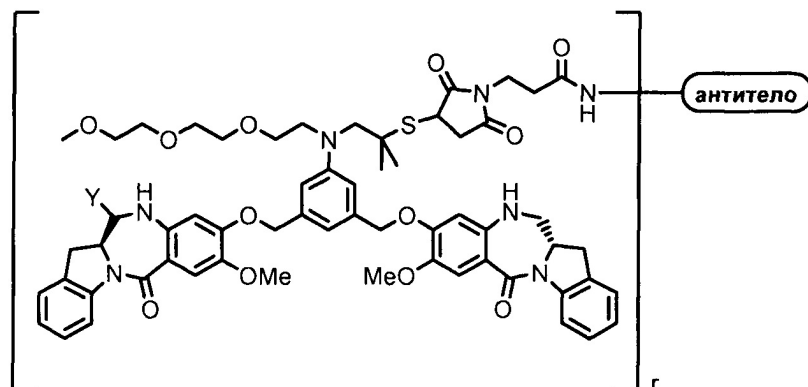
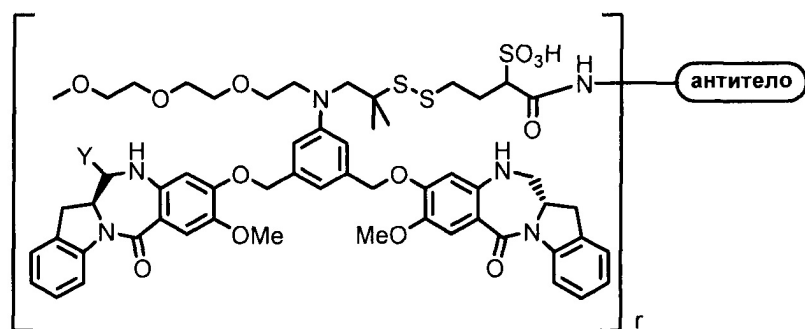
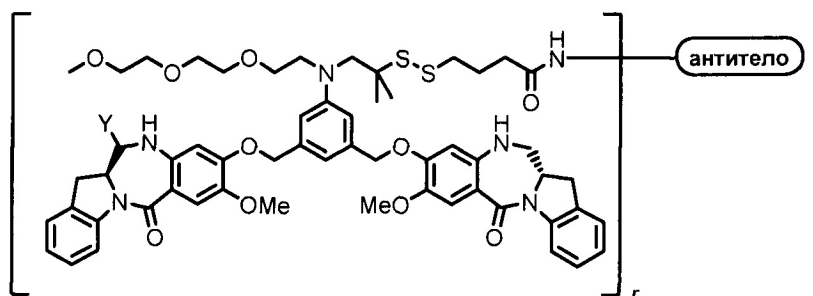
166. Способ по п. 165, отличающийся тем, что Y является  $-SO_3M$ , а M является -H или фармацевтически приемлемым катионом.

167. Способ по п. 165 или 166, отличающийся тем, что модифицированное цитотоксическое соединение получают взаимодействием реагента, способного взаимодействовать с иминами, с имин-содержащим цитотоксическим соединением следующей формулы:

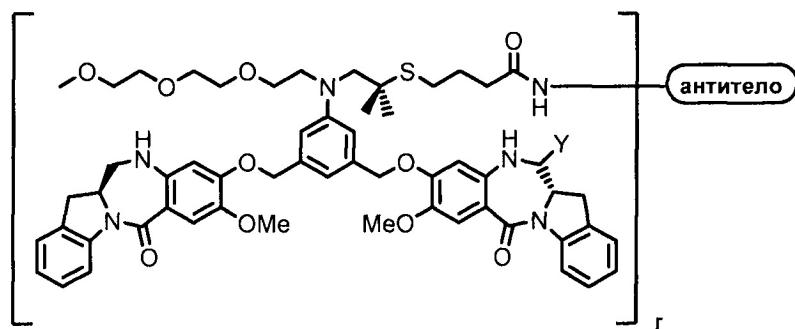


168. Способ по любому из пп. 165-167, отличающийся тем, что CBA является huMy9-6.

169. Способ получения конъюгата следующей формулы:

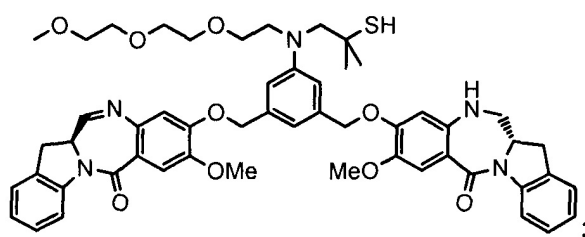


или

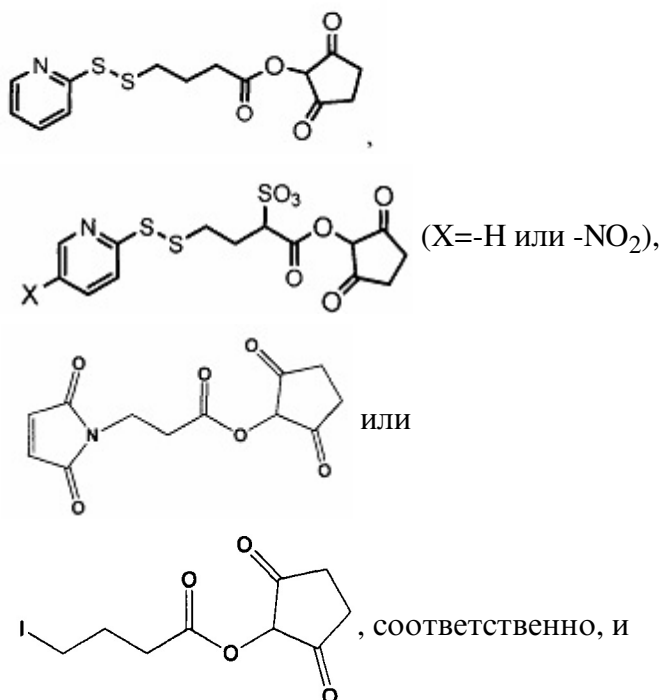


способ, включающий взаимодействие СВА с имин-содержащим цитотоксическим соединением, реагентом, способным взаимодействовать с имидами, и бифункциональным сшивающим агентом, содержащим связывающую группу, с образованием конъюгата, где:

имин-содержащее цитотоксическое соединение является:



бифункциональный сшивающий агент является:



реагент, способный взаимодействовать с имидами, выбран из: сульфитов ( $\text{H}_2\text{SO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_2$  или соли  $\text{HSO}_3^-$ ,  $\text{SO}_3^{2-}$  или  $\text{HSO}_2^-$ , образованной катионом), метабисульфита ( $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_5$  или соли  $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$  образованной катионом), моно-, ди-, три- и тетрафосфатов ( $\text{PO}_3\text{SH}_3$ ,  $\text{PO}_2\text{S}_2\text{H}_3$ ,  $\text{POS}_3\text{H}_3$ ,  $\text{PS}_4\text{H}_3$  или соли  $\text{PO}_3\text{S}^{3-}$ ,  $\text{PO}_2\text{S}_2^{3-}$ ,  $\text{POS}_3^{3-}$  или  $\text{PS}_4^{3-}$ , образованной катионом), сложных эфиров тиофосфата ( $(\text{R}^i\text{O})_2\text{PS}(\text{OR}^i)$ ,  $\text{R}^i\text{SH}$ ,  $\text{R}^i\text{SON}$ ,  $\text{R}^i\text{SO}_2\text{H}$ ,  $\text{R}^i\text{SO}_3\text{H}$ ), различных аминов (гидроксиламина (например,  $\text{NH}_2\text{OH}$ ), гидразина (например,  $\text{NH}_2$

$\text{NH}_2$ ),  $\text{NH}_2\text{O}-\text{R}^i$ ,  $\text{R}^i\text{NH}-\text{R}^i$ ,  $\text{NH}_2-\text{R}^i$ ),  $\text{NH}_2-\text{CO}-\text{NH}_2$ ,  $\text{NH}_2-\text{C}(=\text{S})-\text{NH}_2$ , тиосульфата ( $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_3$  или соли  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ , образованной катионом), дитионита ( $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_4$  или соли  $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ , образованной катионом), фосфородитиоата ( $\text{P}(=\text{S})(\text{OR}^k)(\text{SH})(\text{OH})$  или его соли, образованной катионом), гидроксамовой кислоты ( $\text{R}^k\text{C}(=\text{O})\text{NHOH}$  или соли, образованной катионом), гидразида ( $\text{R}^k\text{CONHNH}_2$ ), формальдегидсульфоксилата ( $\text{HOCH}_2\text{SO}_2\text{H}$  или соли  $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-$ , образованной катионом, например,  $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-\text{Na}^+$ ), гликозилированного нуклеотида (например, GDP-маннозы), флударабина или их смеси, где  $\text{R}^i$  и  $\text{R}^{i'}$ , независимо, являются линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, и замещены по меньшей мере одним заместителем, выбранным из  $-\text{N}(\text{R}^j)_2$ ,  $-\text{CO}_2\text{H}$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$  и  $-\text{PO}_3\text{H}$ ;  $\text{R}^i$  и  $\text{R}^{i'}$ , необязательно, могут быть дополнительно замещены заместителем для алкила, описанным здесь;  $\text{R}^j$  является линейным или разветвленным алкилом, имеющим от 1 до 6 атомов углерода;  $\text{R}^k$  является линейным, разветвленным или циклическим алкилом, алкенилом или алкинилом, имеющим от 1 до 10 атомов углерода, арилом, гетероциклилом или гетероарилом.

170. Способ по п. 169, отличающийся тем, что Y является  $-\text{SO}_3\text{M}$ , а M является -H или фармацевтически приемлемым катионом.

171. Способ по п. 169 или 170, отличающийся тем, что CBA является huMy9-6.