



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0026474

(51)⁷ A61K 47/48; C07D 309/32; A61P 35/00 (13) B

(21) 1-2015-05005

(22) 02/06/2014

(86) PCT/EP2014/061392 02/06/2014

(87) WO2014/191578 04/12/2014

(30) 1309807.4 31/05/2013 GB

(45) 25/11/2020 392

(43) 25/04/2016 337A

(73) PHARMA MAR, S.A. (ES)

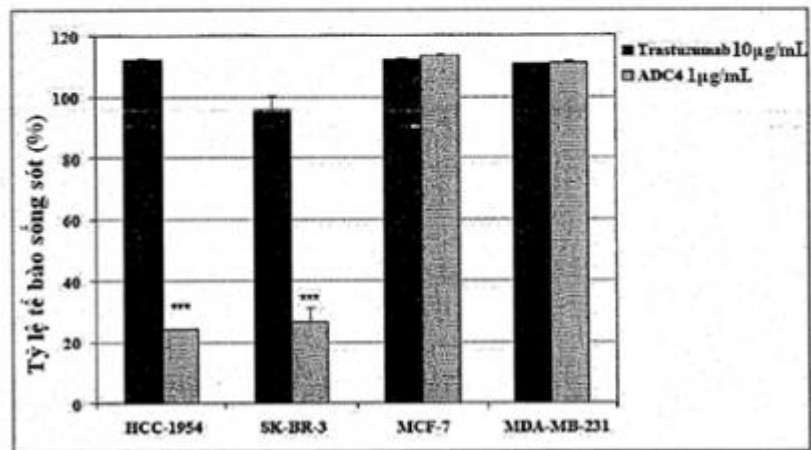
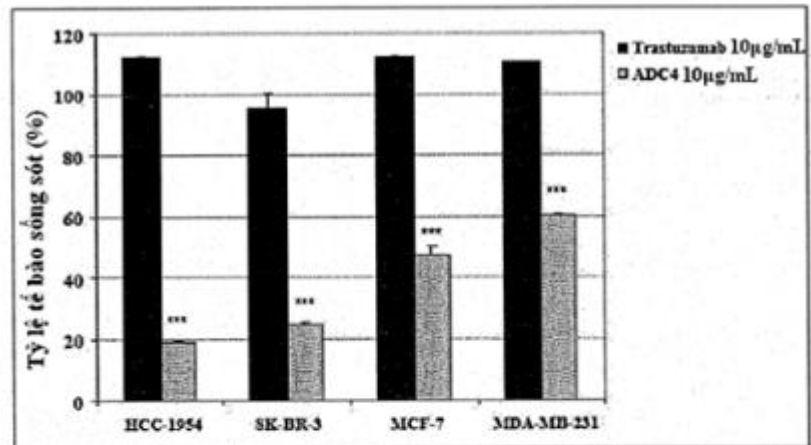
Poligono Industrial La Mina, Avda. de los Reyes, 1, Colmenar Viejo, E-28770
Madrid, Spain

(72) CUEVAS MARCHANTE, Carmen (SE); DOMÍNGUEZ CORREA, Juan Manuel (SE); FRANCESCH SOLLOSO, Andrés (SE); GARRANZO GARCÍA-IBARROLA, María (SE); MUNOZ ALONSO, María José (SE); SÁNCHEZ MADRID, Francisco (SE); ZAPATA HERNÁNDEZ, Juan Manuel (SE); GARCÍA ARROYO, Alicia (SE); URSA PECHARROMÁN, Maria Ángeles (SE).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) THỂ TIẾP HỢP DƯỢC CHẤT, HỢP CHẤT LIÊN KẾT DƯỢC CHẤT VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA THỂ TIẾP HỢP NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến thể tiếp hợp dược chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab$ trong đó D, X, b, $(AA)_w$, w, L, n và Ab như được xác định trong bản mô tả; hợp chất liên kết dược chất và dược phẩm chứa thể tiếp hợp này.



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): ***p<0,001

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến thể tiếp hợp được chất, hợp chất liên kết được chất và được phẩm chứa thể tiếp hợp được chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

WO2007/144423 và WO2009/080761 bộc lộ các dẫn xuất dihydropyran-2-on và tetrahydropyran-2-on mới có hoạt tính kháng khối u rất triển vọng. PM060184 được bộc lộ trong WO2007/144423 hiện được dùng trong các thử nghiệm lâm sàng pha I để phòng ngừa và điều trị các khối u rắn.

Việc điều trị bệnh ung thư đã có nhiều tiến triển đáng kể trong các năm gần đây cùng với việc phát triển các dược phẩm hướng tới và tiêu diệt các tế bào ung thư một cách có hiệu quả hơn. Các nhà nghiên cứu đã sử dụng các thụ thể bề mặt tế bào và kháng nguyên được biểu hiện một cách chọn lọc bởi các tế bào đích như các tế bào ung thư để phát triển các dược phẩm trên cơ sở kháng thể mà gắn kết với các kháng nguyên đặc hiệu với khối u hoặc được liên kết với khối u trong ví dụ về khối u. Để đạt được mục đích này, các phân tử gây độc tế bào như dược chất hóa trị liệu, độc tố vi khuẩn và độc tố thực vật, và nuclit phóng xạ được liên kết hóa học với các kháng thể đơn dòng mà gắn kết với các kháng nguyên bề mặt tế bào đặc hiệu với khối u hoặc được liên kết với khối u (xem, ví dụ, WO2004/010957, WO2006/060533 và WO2007/024536 và EP 1864682 A1). Các hợp chất này thường được gọi là “thể tiếp hợp” dược chất, “thể tiếp hợp” độc tố và “thể tiếp hợp” nuclit phóng xạ. Việc tiêu diệt tế bào của khối u xảy ra khi thể tiếp hợp được chất gắn kết với tế bào của khối u và giải phóng hoặc/và hoạt hóa hoạt tính gây độc tế bào của gốc dược chất này. Tính chọn lọc đã được tạo ra bởi các thể tiếp hợp dược chất làm giảm đến mức tối thiểu độc tính gây ra cho các tế bào khỏe mạnh, nhờ đó tăng cường khả năng dung nạp của dược chất ở đối tượng bị bệnh. Ví dụ về ba thể tiếp hợp dược chất-kháng thể này đã được cấp phép để đưa ra thị trường là: Gemtuzumab ozogamicin dùng để điều trị bệnh bạch cầu nguyên bào tủy cấp tính, Brentuximab vedotin dùng để điều trị u bạch huyết Hodgkin tái phát và dai dẳng và u bạch huyết tế bào lớn mất biệt hóa, và ado-Trastuzumab emtansine dùng để điều trị bệnh ung thư vú, đặc biệt là HER2+.

Tác dụng của các dược chất đối với hóa trị liệu bệnh ung thư nói chung phụ thuộc vào sự khác nhau về tốc độ sinh trưởng, quá trình sinh hóa và đặc tính sinh lý giữa các mô bệnh ung thư và mô khỏe mạnh. Do đó, hầu hết các liệu pháp hóa trị liệu tiêu chuẩn là các liệu pháp tương đối không đặc hiệu và có độc tính giới hạn liều góp phần tạo ra hiệu quả điều trị cận tối ưu. Một phương pháp để các tế bào ác tính hướng đích một cách có chọn lọc và không hướng tới các mô khỏe mạnh là sử dụng các kháng thể đơn dòng (monoclonal antibody - mAb) đặc hiệu mà nhận diện các kháng nguyên liên kết với khối u đã được biểu hiện trên bề mặt của các tế bào của khối u [Meyer, D.L. & Senter, P.D. (2003) Recent advances in antibody drug conjugates for cancer therapy. *Annu. Rep. Med. Chem.*, 38, 229-237; Chari, R.V. (2008) Targeted cancer therapy: conferring specificity to cytotoxic drugs. *Acc. Chem. Res.* 41, 98–107]. Các kháng thể đơn dòng và dẫn xuất hiện là nhóm phân tử điều trị phát triển nhanh nhất. Hơn 30 globulin miễn dịch (IgG) loại G và các tác nhân có liên quan đã được phê chuẩn trong 25 năm qua chủ yếu dùng để điều trị bệnh ung thư và bệnh viêm. Trong lĩnh vực bệnh ung thư học, các kháng thể đơn dòng thường được kết hợp với dược chất gây độc tế bào để tăng cường hiệu quả điều trị của chúng. Theo cách khác, các phân tử kháng khối u nhỏ có thể được tiếp hợp hóa học với các kháng thể đơn dòng, được sử dụng làm chất mang (thời gian bán thải tăng lên) lẫn tác nhân đích (tính chọn lọc). Đã có nhiều cố gắng nhằm hướng tới việc sử dụng các kháng thể đơn dòng (mAb) để phân phối dược chất đích do tính chọn lọc cao của chúng đối với các kháng nguyên liên kết với khối u, dược động học thích hợp, và độc tính nội tại tương đối thấp. Thể tiếp hợp dược chất-kháng thể đơn dòng được tạo ra bằng cách liên kết cộng hóa trị dược chất kháng bệnh ung thư với các kháng thể đơn dòng, thường thông qua hệ liên kết ổn định có điều kiện. Khi gắn kết với kháng nguyên bề mặt tế bào, các kháng thể đơn dòng đã được dùng cho hầu hết các thể tiếp hợp dược chất-kháng thể được vận chuyển một cách tích cực tới các thể tiêu bào hoặc các khoang nội bào khác, trong đó các enzym, độ pH thấp, hoặc chất khử tạo điều kiện thuận lợi cho việc giải phóng dược chất.

Kháng nguyên cần có độ chọn lọc tế bào của khối u cao để hạn chế độc tính và các tác dụng nằm ngoài đích. Nhiều kháng nguyên liên kết với khối u đã được nghiên cứu trong các mô hình tiền lâm sàng và trong các thử nghiệm lâm sàng bao gồm các kháng nguyên được biểu hiện quá mức trong các tế bào B (ví dụ, CD20, CD22, CD40, CD79), tế bào T (CD25, CD30), tế bào ung thư biểu mô (HER2, EGFR, EpCAM, EphB2,

PSMA), nội mô (endoglin), hoặc tế bào đệm (protein được hoạt hóa bởi nguyên bào sợi), ví dụ [Teicher BA. Antibody-drug conjugate targets. *Curr Cancer Drug Targets* 9(8):982-1004, 2009]. Tính chất chính và quan trọng của các đích ADC là chúng có khả năng nội tương tác; đây có thể là đặc tính bên trong của chính kháng nguyên, hoặc nó có thể được tạo ra bằng cách gắn kết kháng thể với kháng nguyên của nó. Thực vậy, quá trình nội tương tác ADC là quá trình quan trọng để làm giảm độc tính đồng thời phân phối ngoại bào được chất hữu ích.

Liên quan đến các phân tử nhỏ đã được tiếp hợp và trái với rất nhiều đích kháng nguyên giả định, một số ít họ được chất gây độc tế bào đã được dùng làm các dược chất hữu ích trong ADC hiện được nghiên cứu một cách tích cực trong các thử nghiệm lâm sàng: calicheamycin (Pfizer), duocarmycin (Synthon), pyrolobenzodiazepine (Spirogen), irinotecan (Immunomedics), maytansinoid (DM1 và DM4; ImmunoGen + Genentech/Roche, Sanofi-Aventis, Biogen Idec, Centocor/Johnson & Johnson, Millennium/Takeda), và auristatins (MMAE và MMAF; Seattle Genetics + Genentech/Roche, MedImmune/AstraZeneca, Bayer-Schering, Celldex, Progenics, Genmab). Calicheamycin duocarmycin và pyrolobenzodiazepine là chất kết dính rãnh phụ ADN, irinotecan là chất ức chế Topoisomeraza I, trong đó maytansinoid và auristatin là các chất khử polyme hóa tubulin. Một trong số các tính chất thường gặp của chúng là hoạt tính dược chất tự do cao hơn (nằm trong khoảng từ 10^{-9} đến 10^{-11} M), ví dụ, so với doxorubicin (10^{-7} M) dùng trong ADC thế hệ thứ nhất. Yếu tố quan trọng khác để thành công là việc hiểu biết rõ ràng về vị trí “cho phép” đối với sự gắn kết nhóm liên kết cho phép giải phóng các chất chuyển hóa hoạt tính, tương tự như các tiền dược chất quy ước.

Điều thú vị là, ba chất đại diện trong số các thể tiếp hợp dược chất-kháng thể có nguồn gốc từ độc tố tế bào được thử nghiệm lâm sàng giai đoạn sau. Trastuzumab emtansine (T-DM1), trastuzumab được liên kết với dược chất bán tổng hợp maytansinoid bằng nhóm liên kết ổn định (FDA đã được phê chuẩn vào ngày 22 tháng 2 năm 2013 dùng cho bệnh ung thư vú dương tính với HER2); Inotuzumab ozogamicin (CMC-544), kháng thể đơn dòng kháng CD22 nhân tạo (G5/44, IgG4) được tiếp hợp với calicheamycin bằng nhóm liên kết không bền với axit (axetylphenoxy-butanoic) (u bạch huyết không phải dạng Hodgkin tế bào B); Brentuximab vedotin, kháng thể đơn dòng kháng CD30 nhân tạo được liên kết với monomethyl auristatin E (MMAE), bằng nhóm liên kết maleimidecaproyl-valyl-xitruliny-p-aminobenzylcarbamate (FDA đã được phê

chuẩn vào ngày 19 tháng 8 năm 2011 dùng cho u bạch huyết tế bào lớn mất biệt hóa và u bạch huyết dạng Hodgkin).

Các liên kết là thành phần quan trọng của cấu trúc ADC. Một vài nhóm liên kết thể hệ hai đã được nghiên cứu, bao gồm liên kết hydrazon không bền với axit (có thể tiêu bào) (ví dụ, gemtuzumab và inotuzumab ozogamicin); liên kết trên cơ sở disulfua (môi trường nội bào có tính khử); phân tử liên kết thioete không phân cắt được (thoái biến dị hóa trong thể tiêu bào) (ví dụ, trastuzumab emtansine); liên kết peptit (ví dụ, citrulin-valin) (lysosomal proteaza tương tự cathepsin-B) (ví dụ, brentuximab vedotin): xem, ví dụ, WO2004/010957, WO2006/060533 và WO2007/024536. Quá trình tinh chế thể tiếp hợp kháng thể-được chất bằng phương pháp sắc ký loại cỡ (size exclusion chromatography - SEC) cũng được mô tả [xem, ví dụ, các bài báo: Liu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 93: 8618-8623 (1996), và Chari et al., Cancer Research, 52: 127-131 (1992)].

Trastuzumab (Herceptin) là kháng thể đơn dòng cản trở thụ thể HER2/neu. Mục đích sử dụng chính của nó là để điều trị các bệnh ung thư vú nhất định. Các thụ thể HER là các protein nằm trong màng tế bào và truyền các tín hiệu phân tử từ bên ngoài tế bào (các phân tử được gọi là EGF) vào bên trong tế bào, và kích hoạt và làm bất hoạt các gen. Các protein HER kích thích quá trình tăng sinh tế bào. Ở một số bệnh ung thư, đặc biệt là các loại bệnh ung thư vú nhất định, HER2 được biểu hiện quá mức, và khiến cho các tế bào ung thư sản sinh một cách không kiểm soát được.

Gen HER2 được khuếch đại trong 20-30% số ca mắc bệnh ung thư vú giai đoạn sớm, khiến cho nó biểu hiện quá mức các thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì (EGF) ở màng tế bào. Trong một số loại bệnh ung thư, HER2 có thể gửi các tín hiệu mà các yếu tố sinh trưởng không đến và không gắn kết được với thụ thể này, khiến cho nó ảnh hưởng tới cấu trúc của tế bào; tuy nhiên, trastuzumab lại không có tác dụng trong trường hợp này.

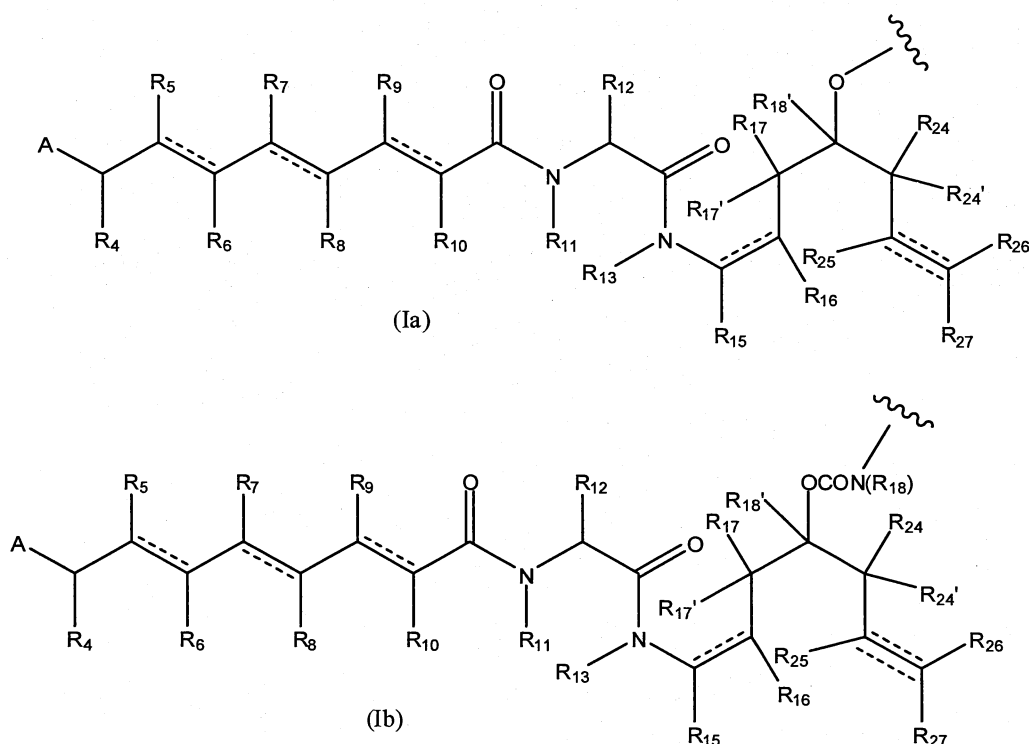
Quá trình tạo HER2 thúc đẩy sự sinh trưởng và phân chia tế bào khi nó thực hiện chức năng thông thường; tuy nhiên khi nó được biểu hiện quá mức, thì quá trình sinh trưởng tế bào sẽ diễn ra nhanh chóng hơn, vượt quá giới hạn thông thường của nó. Trong một số loại bệnh ung thư, quá trình này được diễn ra để thúc đẩy quá trình sinh trưởng và tăng sinh tế bào một cách nhanh chóng và do đó tạo ra khối u. Trong các tế bào ung thư,

protein HER2 có thể được biểu hiện tối đa 100 lần, cao hơn so với trong các tế bào khỏe mạnh (2 triệu so với 20.000/tế bào). Sự biểu hiện quá mức này khiến cho quá trình truyền tín hiệu diễn ra mạnh và ổn định hơn và do đó tạo ra khối u. Sự biểu hiện quá mức HER2 cũng dẫn đến quá trình làm bất hoạt các điểm đánh dấu, cho phép làm tăng quá trình tăng sinh ở mức lớn hơn.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

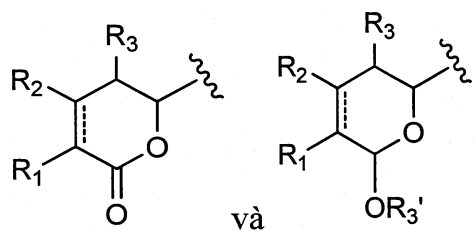
Mục đích của sáng chế là đề xuất thể tiếp hợp được chất hoạt tính mà không dựa vào các họ được chất gây độc tế bào đã được sử dụng làm được chất hữu ích. Mục đích khác của sáng chế là đề xuất hợp chất liên kết với được chất để tạo ra thể tiếp hợp được chất theo sáng chế, và được phẩm chứa thể tiếp hợp được chất này.

Để đạt được mục đích trên đây, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất thể tiếp hợp được chất chứa gốc được chất liên kết cộng hóa trị với phần còn lại của thể tiếp hợp được chất này, và thể tiếp hợp này có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab$, trong đó D là gốc được chất được chọn từ các gốc có công thức (Ia) và công thức (Ib), hoặc muối được chất, este, solvat, chất đồng phân hỗn hợp hoặc chất đồng phân lập thể của nó,



trong đó các đường lượn sóng của công thức (Ia) và công thức (Ib) thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với (X)_b nếu có, hoặc (AA)_w nếu có, hoặc nhóm liên kết L;

A được chọn từ các gốc có công thức:



trong đó các đường lượn sóng của gốc A thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với phần còn lại của gốc được chất;

mỗi R_1 , R_2 và R_3 độc lập được chọn từ hydro, OR_a , $OCOR_a$, $OCOOR_a$, NR_aR_b , NR_aCOR_b , $NR_aC(=NR_a)NR_aR_b$, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế và C_2 - C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

$R_{3'}$ được chọn từ hydro, COR_a , $COOR_a$, $CONR_aR_b$, $S(O)R_a$, SO_2R_a , $P(O)(R_a)R_b$, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế và C_2 - C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} và R_{12} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế và C_2 - C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_{11} được chọn từ nhóm bao gồm hydro, COR_a , $COOR_a$, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế và C_2 - C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế, hoặc R_{11} và R_{12} cùng với nguyên tử N và nguyên tử C tương ứng liên kết với chúng có thể tạo ra nhóm heteroxyclo không no hoặc no được thế hoặc không được thế có từ 5 đến 14 cạnh có một hoặc nhiều vòng và tùy ý có một hoặc nhiều dị nguyên tử khác được chọn từ nguyên tử oxy, nitơ và lưu huỳnh trên các vòng này ngoài nguyên tử nitơ của nhóm NR_{11} , trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_{13} được chọn từ nhóm bao gồm hydro, COR_a , $COOR_a$, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkynyl được

thế hoặc không được thế, và C_4-C_{12} alkenynyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, R_{18} , R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} và R_{26} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, C_1-C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2-C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế và C_2-C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_{18} được chọn từ nhóm bao gồm hydro, nhóm C_1-C_{12} alkyl có thể tùy ý được thế bằng ít nhất một nhóm R_x , nhóm aryl có từ 6 đến 18 nguyên tử cacbon trên một hoặc nhiều vòng thơm, nhóm aryl này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , và nhóm heteroxyclo không no hoặc no được thế hoặc không được thế có từ 5 đến 14 cạnh có một hoặc nhiều vòng, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_{27} được chọn từ hydro, C_1-C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế và halogen;

mỗi R_a và R_b độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, C_1-C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2-C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế, C_2-C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế, nhóm aryl được thế hoặc không được thế có từ 6 đến 18 nguyên tử cacbon trên một hoặc nhiều vòng, và nhóm heteroxyclo không no hoặc no được thế hoặc không được thế có từ 5 đến 14 cạnh có một hoặc nhiều vòng, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

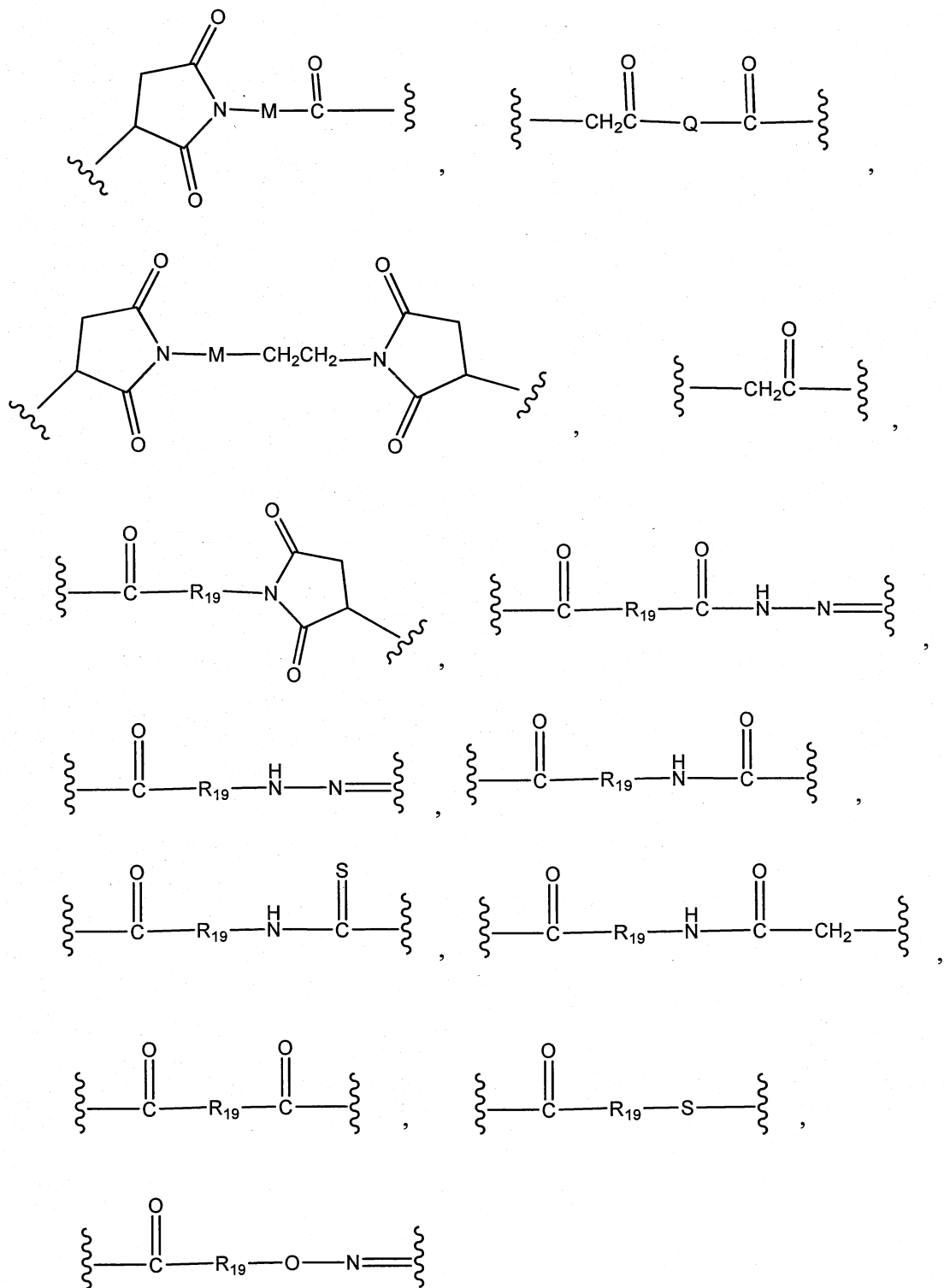
các phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm C_1-C_{12} alkyl có thể tùy ý được thế bằng ít nhất một nhóm R_y , nhóm C_2-C_{12} alkenyl có thể tùy ý được thế bằng ít nhất một nhóm R_y , nhóm C_2-C_{12} alkynyl có thể tùy ý được thế bằng ít nhất một nhóm R_y , nguyên tử halogen, nhóm oxo, nhóm thio, nhóm xyano, nhóm nitro, OR_y , $OCOR_y$, $OCOOR_y$, COR_y , $COOR_y$, $CONR_yR_z$, $CONR_yR_z$, $S(O)R_y$, SO_2R_y , $P(O)(R_y)OR_z$, NR_yR_z , NR_yCOR_z , $NR_yC(=O)NR_yR_z$, $NR_yC(=NR_y)NR_yR_z$, nhóm aryl có từ 6 đến 18 nguyên tử cacbon trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế có thể là giống nhau hoặc khác nhau được chọn từ nhóm bao gồm R_y , OR_y , $OCOR_y$, $OCOOR_y$, NR_yR_z , NR_yCOR_z và $NR_yC(=NR_y)NR_yR_z$, nhóm aralkyl bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 12 nguyên tử cacbon được thế bằng nhóm aryl tùy ý được thế như được xác định trên đây, nhóm aralkyloxy bao gồm nhóm alkoxy có từ 1 đến 12 nguyên tử cacbon được thế bằng nhóm aryl tùy ý được thế như được xác định trên đây, và nhóm

heteroxyclo no hoặc không no có từ 5 đến 14 cạnh có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm heteroxyclo này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_y , và trong đó có nhiều hơn một phần tử thế tùy ý trên nhóm đã nêu bất kỳ, các phần tử thế tùy ý này R_y có thể là giống nhau hoặc khác nhau;

mỗi R_y và R_z độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, nhóm C_1 - C_{12} alkyl, nhóm C_1 - C_{12} alkyl được thế bằng ít nhất một nguyên tử halogen, nhóm aralkyl bao gồm nhóm C_1 - C_{12} alkyl được thế bằng nhóm aryl có từ 6 đến 18 nguyên tử cacbon trên một hoặc nhiều vòng và nhóm heteroxycloalkyl bao gồm nhóm C_1 - C_{12} alkyl được thế bằng nhóm heteroxyclo không no hoặc no có từ 5 đến 14 cạnh có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này;

và mỗi đường chấm chấm thể hiện liên kết bổ sung tùy ý, nhưng khi liên kết ba có mặt giữa nguyên tử C liên kết với R_{25} và nguyên tử C liên kết với R_{26} và R_{27} , thì R_{25} và R_{26} hoặc R_{27} là không có mặt;

L là nhóm liên kết được chọn từ nhóm bao gồm các nhóm có công thức:



trong đó:

các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với Ab (đường lượn sóng sang phải) và $(AA)_w$ nếu có, hoặc $(X)_b$ nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái);

R_{19} được chọn từ $-C_1-C_{12}$ alkylen-, $-C_3-C_8$ carboxyclo, $-O-(C_1-C_{12}$ alkylen), $-C_6-C_{18}$ arylen trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phân tử

thế R_x , $-C_1-C_{12}$ alkylen- $-C_6-C_{18}$ arylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_6-C_{18}$ arylen- $-C_1-C_{12}$ alkylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_1-C_{12}$ alkylen- $-(C_3-C_8$ carboxyclo)-, $-(C_3-C_8$ carboxyclo)- $-C_1-C_{12}$ alkylen-, $-C_5-C_{14}$ heteroxyclo-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm no hoặc không no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nito hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_1-C_{12}$ alkylen- $-(C_5-C_{14}$ heteroxyclo)-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm no hoặc không no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nito hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-(C_5-C_{14}$ heteroxyclo)- $-C_1-C_{12}$ alkylen-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm no hoặc không no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nito hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-(OCH_2CH_2)_r$ - và $-CH_2-(OCH_2CH_2)_r$ -, trong đó mỗi phần tử thế trong số các phần tử thế alkylen nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào góc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

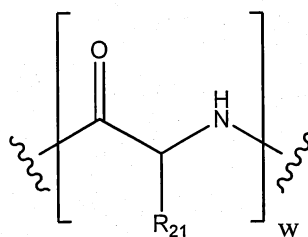
M được chọn từ nhóm bao gồm $-C_1-C_6$ alkylen-, $-C_1-C_6$ alkylen- $-(C_3-C_8$ carboxyclo)-, $-(CH_2CH_2O)_s$ -, $-C_1-C_6$ alkylen- $-(C_3-C_8$ carboxyclo)-CON(H hoặc C_1-C_6 alkyl)- $-C_1-C_6$ alkylen-, phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , phenylen- $-C_1-C_6$ alkylen-, trong đó gốc phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x và $-C_1-C_6$ alkylen-CON(H hoặc C_1-C_6 alkyl)- $-C_1-C_6$ alkylen-;

Q được chọn từ nhóm bao gồm $-N(H$ hoặc C_1-C_6 alkyl)phenylen- và $-N(H$ hoặc C_1-C_6 alkyl)- $-(CH_2)_s$;

r là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 10; và

s là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 10;

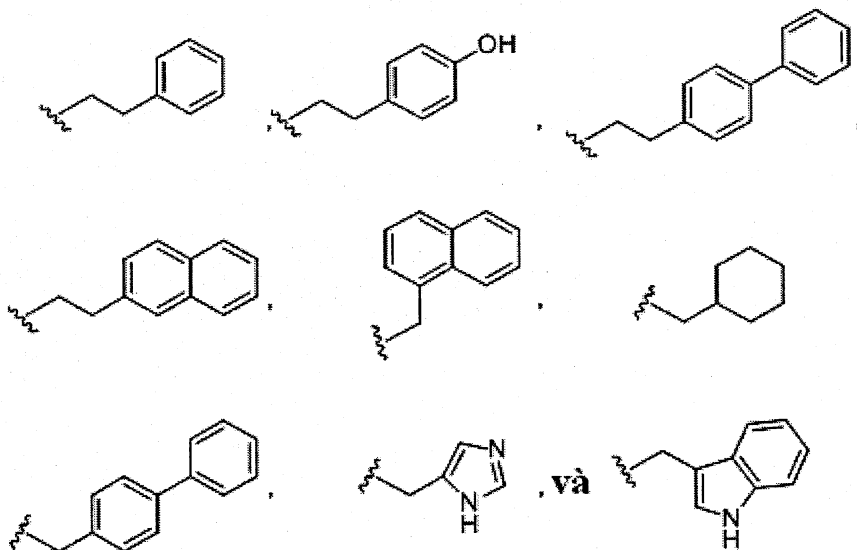
$(AA)_w$ có công thức (II):



(II)

trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với (X)_b nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải);

R₂₁, mỗi khi có mặt, được chọn từ nhóm bao gồm hydro, metyl, isopropyl, isobutyl, *sec*-butyl, benzyl, p-hydroxybenzyl, -CH₂OH, -CH(OH)CH₃, -CH₂CH₂SCH₃, -CH₂CONH₂, -CH₂COOH, -CH₂CH₂CONH₂, -CH₂CH₂COOH, -(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂, -(CH₂)₃NH₂, -(CH₂)₃NHCOCH₃, -(CH₂)₃NHCHO, -(CH₂)₄NHC(=NH)NH₂, -(CH₂)₄NH₂, -(CH₂)₄NHCOCH₃, -(CH₂)₄NHCHO, -(CH₂)₃NHCONH₂, -(CH₂)₄NHCONH₂, -CH₂CH₂CH(OH)CH₂NH₂, 2-pyridylmetyl-, 3-pyridylmetyl-, 4-pyridylmetyl-, phenyl, xyclohexyl, các nhóm có công thức:



và w là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 12;

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ nhóm bao gồm:

-CONH-(C₁-C₆ alkylen)NH-;

-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x)-NH-;

-CONH-(C₁-C₆ alkylen)NH-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x)-NH-;

-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x)-NH-;

-COCH₂NH-COCH₂-NH-;

-COCH₂NH-;

-CONH-(C₁-C₆ alkylen)S-;

-CONH-(C₁-C₆ alkylen)NHCO(C₁-C₆ alkylen)S-;

-(C₁-C₆ alkylen)NHCO(C₁-C₆ alkylen)S-;

-(C₁-C₆ alkylen)S-;

-(C₁-C₆ alkylen)NH-; và

-(C₁-C₆ alkylen)NH-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x)-NH-.

b là số nguyên bằng 0 hoặc 1;

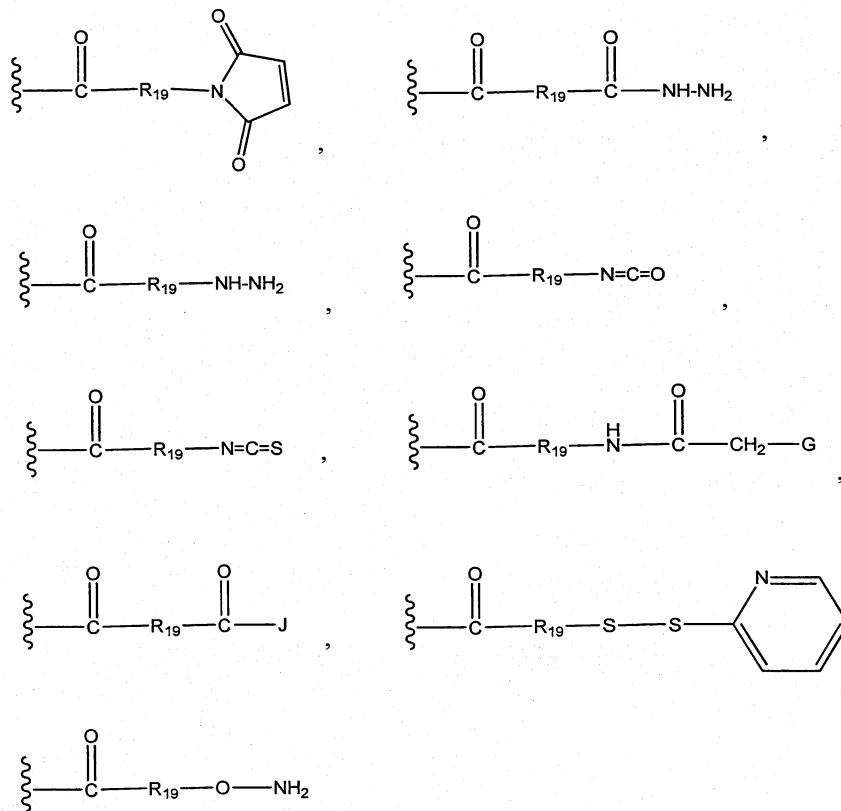
Ab là gốc chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên; và

n là tỷ lệ giữa nhóm [D-(X)_b-(AA)_w-(L)-] với gốc chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 1 đến 20.

Khi được giải thích và minh họa trong phần mô tả chi tiết sáng chế dưới đây, thể tiếp hợp được chất có công thức [D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab theo sáng chế đã giải quyết được các vấn đề nêu trên về việc yêu cầu đối với các thể tiếp hợp được chất khác ngoài các thể tiếp hợp được chất dựa trên ba họ được chất gây độc tế bào chính đã được sử dụng làm được chất hữu ích cho đến nay, có hoạt tính trị khối u vượt trội.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức D-X-(AA)_w-L₁ hoặc công thức D-X-(AA)_w-H, trong đó:

L₁ là nhóm liên kết được chọn từ nhóm các liên kết có công thức:



trong đó mỗi các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với (AA)_w nếu có, hoặc với X;

G được chọn từ halogen, -O-mesyl và -O-tosyl;

J được chọn từ halogen, hydroxy, -N-succinimidoxy, -O-(4-nitrophenyl), -O-pentaflophenyl, -O-tetraflophenyl và -O-C(O)-OR₂₀;

R₁₉ được chọn từ -C₁-C₁₂ alkylen-, -C₃-C₈ carboxyclo-, -O-(C₁-C₁₂ alkylen), -C₆-C₁₈ arylen trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -C₁-C₁₂ alkylen-C₆-C₁₈ arylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -C₆-C₁₈ arylen-C₁-C₁₂ alkylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -C₁-C₁₂ alkylen-(C₃-C₈ carboxyclo)-, -(C₃-C₈ carboxyclo)-C₁-C₁₂ alkylen-, -C₅-C₁₄ heteroxyclo-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm no hoặc không no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nito hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -C₁-C₁₂ alkylen-(C₅-C₁₄ heteroxyclo)- trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm no hoặc không no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nito hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử

thể R_x , $-(C_5-C_{14} \text{ heteroxyclo})-C_1-C_{12}$ alkylen-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm no hoặc không no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thể R_x , $-(OCH_2CH_2)_r$ - và $-CH_2-(OCH_2CH_2)_r$ -, trong đó mỗi phần tử thể trong số các phần tử thể alkylen nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào gốc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thể R_x ;

R_{20} là C_1-C_{12} alkyl hoặc nhóm aryl có từ 6 đến 18 nguyên tử cacbon trên một hoặc nhiều vòng thơm, nhóm aryl này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thể R_x ;

r là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 10; và

mỗi D , X , AA và w là như được xác định theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế.

Theo khía cạnh thứ ba, sáng chế đề cập đến được phẩm chứa thể tiếp hợp được chất theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế và chất mang được dụng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Sáng chế được minh họa bằng đồ thị, các ví dụ, các hình vẽ kèm theo, trong đó:

Fig.1 là sơ đồ thể hiện quy trình theo sáng chế trong đó quá trình tạo tiếp hợp với kháng thể được thực hiện thông qua nhóm thiol tự do;

Fig.2 là sơ đồ thể hiện quy trình khác theo sáng chế trong đó quá trình tạo tiếp hợp với kháng thể được thực hiện thông qua nhóm lysin tự do;

Fig.3 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều của thể tiếp hợp ADC1 đối với các dòng tế bào ung thư khác nhau;

Fig.4 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($10\mu\text{g/mL}$) hoặc thể tiếp hợp ADC1 ở nồng độ bằng $10\mu\text{g/mL}$ hoặc $1\mu\text{g/mL}$;

Fig.5 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều của thể tiếp hợp ADC2 đối với các dòng tế bào ung thư khác nhau;

Fig.6 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($10\mu\text{g/mL}$) hoặc thể tiếp hợp ADC2 ở nồng độ bằng $10\mu\text{g/mL}$ hoặc $1\mu\text{g/mL}$;

Fig.7 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều của thể tiếp hợp ADC3 đối với các dòng tế bào ung thư khác nhau;

Fig.8 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị của các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($10\mu\text{g/mL}$) hoặc thể tiếp hợp ADC3 ở nồng độ bằng $10\mu\text{g/mL}$ hoặc $1\mu\text{g/mL}$;

Fig.9 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều của thể tiếp hợp ADC4 đối với các dòng tế bào ung thư khác nhau;

Fig.10 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($10\mu\text{g/mL}$) hoặc thể tiếp hợp ADC4 ở nồng độ bằng $10\mu\text{g/mL}$ hoặc $1\mu\text{g/mL}$;

Fig.11 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều của thể tiếp hợp ADC5 đối với các dòng tế bào ung thư khác nhau;

Fig.12 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($10\mu\text{g/mL}$) hoặc thể tiếp hợp ADC5 ở nồng độ bằng $10\mu\text{g/mL}$ hoặc $1\mu\text{g/mL}$;

Fig.13 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều của thể tiếp hợp ADC6 đối với các dòng tế bào ung thư khác nhau;

Fig.14 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($10\mu\text{g/mL}$) hoặc thể tiếp hợp ADC6 ở nồng độ bằng $10\mu\text{g/mL}$ hoặc $1\mu\text{g/mL}$;

Fig.15 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều của thể tiếp hợp ADC7 đối với các dòng tế bào ung thư khác nhau;

Fig.16 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($50\mu\text{g/mL}$) hoặc thể tiếp hợp ADC7 ở nồng độ bằng $50\mu\text{g/mL}$ hoặc $1\mu\text{g/mL}$;

Fig.17 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều của thể tiếp hợp ADC8 đối với các dòng tế bào ung thư khác nhau;

Fig.18 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($50\mu\text{g/mL}$) hoặc thể tiếp hợp ADC8 ở nồng độ bằng $50\mu\text{g/mL}$ hoặc $10\mu\text{g/mL}$;

Fig.19 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều của thể tiếp hợp ADC9 đối với các dòng tế bào ung thư khác nhau;

Fig.20 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($50\mu\text{g/mL}$) hoặc thể tiếp hợp ADC9 ở nồng độ bằng $50\mu\text{g/mL}$ hoặc $0,1\mu\text{g/mL}$;

Fig.21 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều của thể tiếp hợp ADC10 đối với các dòng tế bào ung thư khác nhau;

Fig.22 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($50\mu\text{g/mL}$) hoặc thể tiếp hợp ADC10 ở nồng độ bằng $50\mu\text{g/mL}$ hoặc $1\mu\text{g/mL}$;

Fig.23 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều của thể tiếp hợp ADC11 đối với các dòng tế bào ung thư khác nhau;

Fig.24 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($50\mu\text{g/mL}$) hoặc thể tiếp hợp ADC11 ở nồng độ bằng $50\mu\text{g/mL}$ hoặc $1\mu\text{g/mL}$;

Fig.25 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều của thể tiếp hợp ADC12 đối với các dòng tế bào ung thư khác nhau;

Fig.26 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($50\mu\text{g/mL}$) hoặc thể tiếp hợp ADC12 ở nồng độ bằng $1\mu\text{g/mL}$ hoặc $0,1\mu\text{g/mL}$;

Fig.27 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều của thể tiếp hợp ADC13 đối với các dòng tế bào ung thư khác nhau;

Fig.28 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($50\mu\text{g/mL}$) hoặc thể tiếp hợp ADC13 ở nồng độ bằng $1\mu\text{g/mL}$ hoặc $0,1\mu\text{g/mL}$;

Fig.29 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều của thể tiếp hợp ADC14 đối với các dòng tế bào ung thư khác nhau;

Fig.30 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($50\mu\text{g/mL}$) hoặc thể tiếp hợp ADC14 ở nồng độ bằng $1\mu\text{g/mL}$;

Fig.31 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều của thể tiếp hợp ADC16 đối với các dòng tế bào ung thư khác nhau;

Fig.32 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($50\mu\text{g/mL}$) hoặc thể tiếp hợp ADC16 ở nồng độ bằng $1\mu\text{g/mL}$ và $0,1\mu\text{g/mL}$;

Fig.33 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều của thể tiếp hợp ADC17 đối với các dòng tế bào ung thư khác nhau;

Fig.34 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($50\mu\text{g/mL}$) hoặc thể tiếp hợp ADC17 ở nồng độ bằng $1\mu\text{g/mL}$ và $0,1\mu\text{g/mL}$;

Fig.35 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều của thể tiếp hợp ADC14 đối với hai dòng tế bào Raji;

Fig.36 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($50\mu\text{g/mL}$) hoặc thể tiếp hợp ADC14 ở nồng độ bằng $10\mu\text{g/mL}$;

Fig.37 là đồ thị thể hiện đường cong đáp ứng liều của thể tiếp hợp ADC15 đối với hai dòng tế bào Raji; và

Fig.38 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($50\mu\text{g/mL}$) hoặc thể tiếp hợp ADC15 ở nồng độ bằng $10\mu\text{g/mL}$.

Mô tả chi tiết sáng chế

Trong các hợp chất theo sáng chế, các nhóm alkyl theo định nghĩa của R_1 , R_2 , R_3 , R_3' , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} , R_{11} , R_{12} , R_{13} , R_{14} , R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, R_{18} , $R_{18'}$, R_{20} , R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} , R_{26} , R_{27} , R_a , R_b , R_x , R_y và R_z có thể là nhóm alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh

có từ 1 đến 12 nguyên tử cacbon, và tốt hơn nếu chúng là nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, tốt hơn nữa nếu nhóm metyl, nhóm etyl hoặc nhóm *i*-propyl, và tốt nhất nếu nhóm metyl. Trong định nghĩa của M và Q, chúng có thể là nhóm alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon.

Trong các hợp chất theo sáng chế, nhóm alkenyl trong định nghĩa của R_1 , R_2 , R_3 , R_3' , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} , R_{11} , R_{12} , R_{13} , R_{14} , R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, $R_{18'}$, R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} , R_{26} , R_a , R_b và R_x là mạch nhánh hoặc không mạch nhánh, và có thể có một hoặc nhiều liên kết đôi và có từ 2 đến 12 nguyên tử cacbon. Tốt hơn nếu chúng có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, và tốt hơn nữa nếu chúng là nhóm alkenyl mạch nhánh hoặc không mạch nhánh có 2, 3 hoặc 4 nguyên tử cacbon.

Trong các hợp chất theo sáng chế, nhóm alkynyl trong định nghĩa của R_1 , R_2 , R_3 , R_3' , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} , R_{11} , R_{12} , R_{13} , R_{14} , R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, $R_{18'}$, R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} , R_{26} , R_a , R_b và R_x là mạch nhánh hoặc không mạch nhánh, và có thể có một hoặc nhiều liên kết ba và có từ 2 đến 12 nguyên tử cacbon. Tốt hơn nếu chúng có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, và tốt hơn nữa nếu chúng là nhóm alkynyl mạch nhánh hoặc không mạch nhánh có 2, 3 hoặc 4 nguyên tử cacbon.

Trong các hợp chất theo sáng chế, nhóm alkenynyl trong định nghĩa của R_{13} và R_{14} là mạch nhánh hoặc không mạch nhánh, và có thể có một hoặc nhiều liên kết đôi và một hoặc nhiều liên kết ba. Tốt hơn nếu chúng có 4 đến 12 nguyên tử cacbon, và tốt hơn nữa nếu chúng là nhóm alkynyl mạch nhánh hoặc không mạch nhánh có từ 6 đến 10 nguyên tử cacbon.

Trong các hợp chất theo sáng chế, các phần tử thể halogen trong định nghĩa của R_{27} , R_x , R_y và R_z bao gồm F, Cl, Br và I, tốt hơn nếu Cl.

Trong các hợp chất theo sáng chế, các nhóm heteroxyclo không no hoặc no có từ 5 đến 14 cạnh trong định nghĩa của R_x , R_a , R_b , R_{18} , và các nhóm heteroxyclo có thể được tạo ra bởi R_{11} và R_{12} cùng với nguyên tử nitơ và nguyên tử cacbon liên kết với chúng là các nhóm heteroxyclo có một hoặc nhiều vòng, có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này. Các nhóm heteroxyclo này các nhóm có thể là nhóm thơm khác loại hoặc nhóm heteroxyclo béo, nhóm heteroxyclo béo này có thể không no một phần, nhóm thơm lẫn heteroxyclo béo thơm chứa 1 đến 3 vòng riêng rẽ hoặc được ngưng tụ. Tốt hơn nếu các nhóm thơm khác loại và heteroxyclo béo chứa 5 đến 10

nguyên tử trên vòng. Nhóm thiom khác loại trong các hợp chất thích hợp theo sáng chế chứa một, hai hoặc ba dị nguyên tử được chọn từ nguyên tử N, O hoặc S và bao gồm, ví dụ, quinolyl bao gồm 8-quinolyl, isoquinolyl, cumarinyll bao gồm 8-cumarinyll, pyridyl, pyrazinyl, pyrazolyl, pyrimidinyl, furyl, pyrolyl, thienyl, thiazolyl, isothiazolyl, triazolyl, tetrazolyl, isoxazolyl, oxazolyl, imidazolyl, indolyl, isoindolyl, indazolyl, indolizinyll, phtalazinyl, pteridinyl, purinyl, oxadiazolyl, thiadiazolyl, furazanyl, pyridazinyl, triazinyl, xinolinyll, benzimidazolyl, benzofuranyl, benzofurazanyl, benzothiophenyl, benzothiazolyl, benzoxazolyl, quinazolinyl, quinoxalinyl, naphthyridinyl và furopyridyl. Các nhóm heteroxyclo béo thích hợp trong các hợp chất theo sáng chế chứa một, hai hoặc ba dị nguyên tử được chọn từ nguyên tử N, O hoặc S và bao gồm, ví dụ, pyrrolidinyl, tetrahydrofuranyl, dihydrofuranyl, tetrahydrothienyl, tetrahydrothiopyranyl, piperidyl, morpholinyl, thiomorpholinyl, thioxanyl, piperazinyl, azetidinyll, oxetanyl, thietanyl, homopiperidyl, oxepanyl, thiepanyll, oxazepinyl, diazepinyl, thiazepinyl, 1,2,3,6-tetrahydropyridyl, 2-pyrrolinyl, 3-pyrrolinyl, indolinyll, 2H-pyranyl, 4H-pyranyl, dioxanyl, 1,3-dioxolanyl, pyrazolinyl, dithianyl, dithiolanyl, dihydropyranyl, dihydrothienyl, dihydrofuranyl, pyrazolidinyl, imidazolinyl, imidazolidinyl, 3-azabixyclo[3.1.0]hexyl, 3-azabixyclo[4.1.0]heptyl, 3H-indolyl, và quinolizinyll.

Trong các hợp chất theo sáng chế, nhóm aryl trong định nghĩa của R_{18} , R_{20} , R_a , R_b , và R_x , là các hợp chất có một hoặc nhiều vòng chứa nhóm aryl riêng rẽ và/hoặc được ngưng tụ và có từ 6 đến 18 nguyên tử trên vòng và tùy ý được thế. Nhóm aryl thông thường chứa 1 đến 3 vòng riêng rẽ hoặc được ngưng tụ. Tốt hơn nếu nhóm aryl chứa 6 đến 12 cacbon nguyên tử trên vòng. Đặc biệt tốt hơn nếu nhóm aryl bao gồm phenyl được thế hoặc không được thế, naphtyl được thế hoặc không được thế, biphenyl được thế hoặc không được thế, phenantryl được thế hoặc không được thế và antryl được thế hoặc không được thế, và tốt nhất nếu là phenyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế này là như đã nêu trên tùy thuộc vào nhóm aryl là một trong số các phần tử thế R_{20} , R_{28} , R_a và R_b hay nó là phần tử thế R_x .

Trong các hợp chất theo sáng chế, nhóm aralkyl trong định nghĩa của R_x , R_y và R_z bao gồm nhóm alkyl như được xác định và minh họa trên đây được thế bằng một hoặc nhiều nhóm aryl như được xác định và minh họa bằng ví dụ trên đây. Ví dụ được ưu tiên bao gồm benzyl tùy ý được thế, phenyletyl tùy ý được thế và naphtylmetyl tùy ý được thế.

Trong các hợp chất theo sáng chế, nhóm aralkyloxy trong định nghĩa của R_x có nhóm alkoxy có từ 1 đến 12 nguyên tử cacbon được thế bằng một hoặc nhiều nhóm aryl như được xác định và minh họa trên đây. Tốt hơn nếu gốc alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon và nhóm aryl chứa 6 đến 12 cacbon nguyên tử trên vòng, và tốt nhất nếu nhóm aralkyloxy là benzyloxy tùy ý được thế, phenyletoxy tùy ý được thế và naphtylmetoxy tùy ý được thế.

Trong các hợp chất theo sáng chế, nhóm heteroxycloalkyl trong định nghĩa của R_y và R_z có nhóm alkyl như được xác định và minh họa trên đây được thế bằng một hoặc nhiều nhóm heteroxycyl như được xác định và minh họa trên đây. Tốt hơn nếu nhóm heteroxycloalkyl có nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon được thế bằng nhóm heteroxycyl có từ 5 đến 10 nguyên tử trên vòng trên 1 hoặc 2 nguyên tử trên vòng và có thể là thơm, bão hòa một phần hoặc bão hòa hoàn toàn. Tốt hơn nữa nếu nhóm heteroxycloalkyl có nhóm metyl hoặc etyl được thế bằng nhóm heteroxycyl được chọn từ nhóm bao gồm pyrrolidinyl, imidazolidinyl, piperidinyl, piperazinyl, morpholinyl, tetrahydrofuranyl, oxanyl, thianyl, 8-quinolyl, isoquinolyl, pyridyl, pyrazinyl, pyrazolyl, pyrimidinyl, furyl, pyrolyl, thienyl, thiazolyl, isothiazolyl, triazolyl, tetrazolyl, isoxazolyl, oxazolyl và benzimidazol.

Trong các hợp chất theo sáng chế, nhóm alkylen trong định nghĩa của R_{19} là nhóm alkylen mạch thẳng hoặc mạch nhánh có từ 1 đến 12 nguyên tử cacbon và nhóm alkylen trong định nghĩa của M và X là nhóm alkylen mạch thẳng hoặc mạch nhánh có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon. Tốt hơn nếu nhóm alkylen trong định nghĩa của R_{19} là nhóm alkylen mạch thẳng hoặc mạch nhánh có từ 1 đến 8 nguyên tử cacbon, tốt hơn nữa nếu nhóm alkylen mạch thẳng hoặc mạch nhánh có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon. Đối với M, tốt hơn nếu nhóm alkylen mạch thẳng hoặc mạch nhánh có từ 1 đến 3 nguyên tử cacbon. Trong định nghĩa của X, tốt hơn nếu nhóm alkylen trong định nghĩa của X là nhóm alkylen mạch thẳng hoặc mạch nhánh có từ 2 đến 4 nguyên tử cacbon.

Trong các hợp chất theo sáng chế, nhóm carboxyclo trong định nghĩa của R_{19} và M là nhóm xycloalkyl có 3 đến 8 nguyên tử cacbon có hai liên kết cộng hoá trị ở vị trí bất kỳ trên vòng xycloalkyl để nhóm liên kết xycloalkyl này với phần căn của thể tiếp hợp được chất. Tốt hơn nếu nhóm carboxyclo trong định nghĩa của R_{19} và M là nhóm xycloalkyl có 3 đến 7 nguyên tử cacbon, và tốt hơn nữa nếu nhóm carboxyclo có từ 5 đến 7 nguyên tử cacbon.

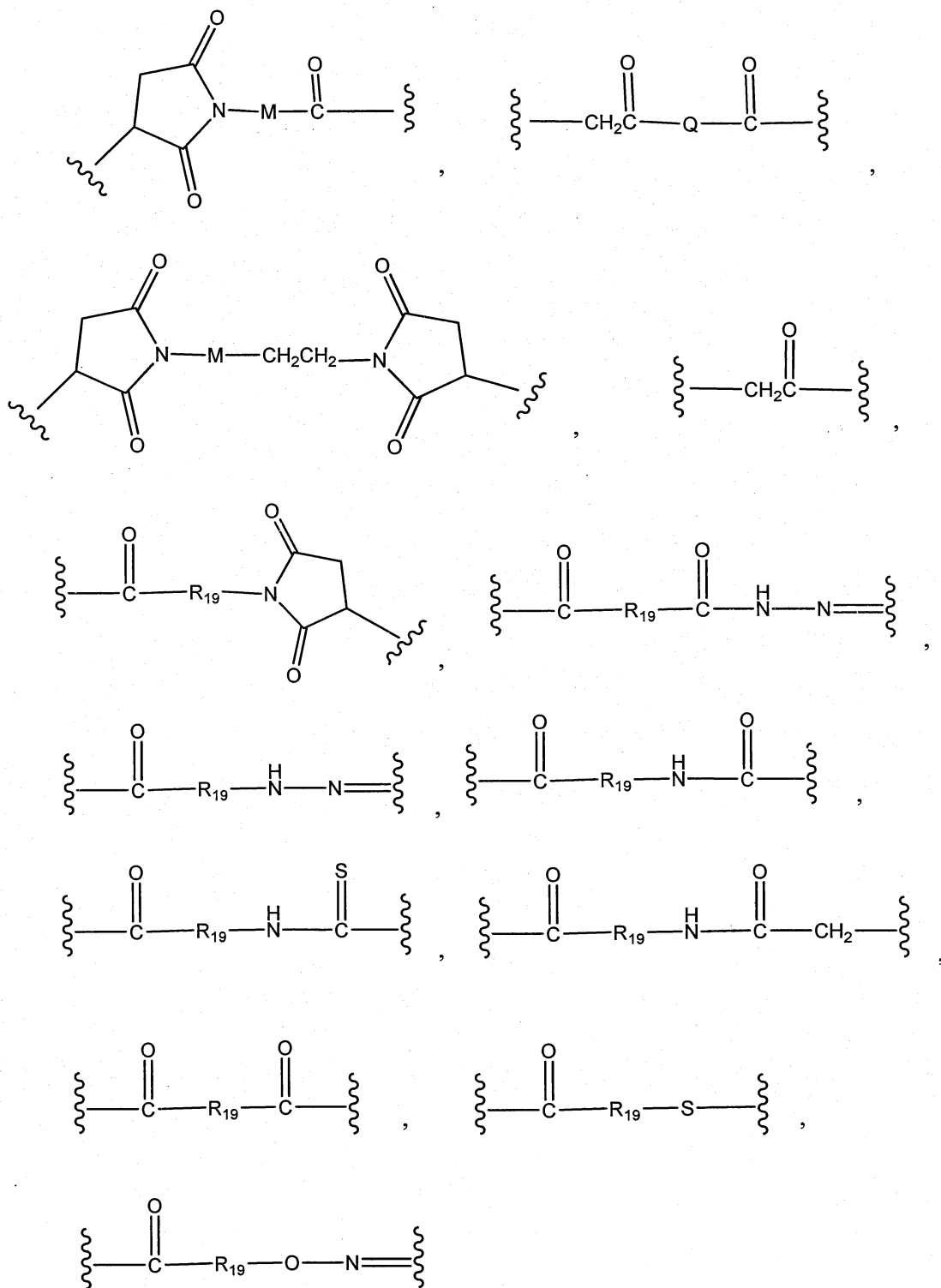
Trong các hợp chất theo sáng chế, nhóm arylen trong định nghĩa của R_{19} là nhóm aryl có từ 6 đến 18 nguyên tử cacbon trên một hoặc nhiều vòng có hai liên kết cộng hoá trị ở vị trí bất kỳ trên hệ vòng thơm nhóm liên kết arylen này với phần cần của thể tiếp hợp được chất. Tốt hơn nếu nhóm arylen trong định nghĩa của R_{19} là nhóm aryl có từ 6 đến 12 nguyên tử cacbon trên một hoặc nhiều vòng có hai liên kết cộng hoá trị ở vị trí bất kỳ trên hệ vòng thơm, và tốt nhất nếu chúng là các nhóm phenylen.

Trong các hợp chất theo sáng chế, các nhóm heteroxyclo trong định nghĩa của R_{19} là các nhóm heteroxyclyl chứa 1 đến 3 vòng riêng rẽ hoặc được ngưng tụ có từ 5 đến 14 nguyên tử trên vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, trong đó có hai liên kết cộng hoá trị ở vị trí bất kỳ trên hệ vòng chứa các nhóm heteroxyclo này. Các nhóm heteroxyclo này là các nhóm có thể là nhóm thơm khác loại hoặc nhóm heteroxyclo béo (nhóm heteroxyclo béo này có thể không no một phần). Tốt hơn nếu các nhóm heteroxyclo trong định nghĩa của R_{19} là các nhóm heteroxyclyl chứa 1 đến 3 vòng riêng rẽ hoặc được ngưng tụ có từ 5 đến 12 nguyên tử trên vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, trong đó có hai liên kết cộng hoá trị ở vị trí bất kỳ trên hệ vòng chứa các nhóm heteroxyclo này.

Khi có nhiều hơn một phần tử thể tùy ý R_x trên phần tử thể, mỗi phần tử thể R_x này có thể là giống nhau hoặc khác nhau.

Tốt hơn nếu thể tiếp hợp được chất theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế bao gồm:

thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế, trong đó L là nhóm liên kết được chọn từ nhóm bao gồm các nhóm có công thức:



trong đó

các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với Ab (đường lượn sóng sang phải) và $(\text{AA})_w$ nếu có, hoặc $(\text{X})_b$ nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái);

R_{19} được chọn từ $-\text{C}_1-\text{C}_{12}$ alkyl-, $-\text{C}_3-\text{C}_8$ carboxyclo-, $-\text{O}-(\text{C}_1-\text{C}_{12}$ alkyl-), $-\text{C}_6-\text{C}_{18}$ aryl- trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phân tử

thế R_x , $-C_1-C_{12}$ alkylen- $-C_6-C_{18}$ arylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_6-C_{18}$ arylen- $-C_1-C_{12}$ alkylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_1-C_{12}$ alkylen- $-(C_3-C_8$ carboxyclo)-, $-(C_3-C_8$ carboxyclo)- $-C_1-C_{12}$ alkylen-, $-C_5-C_{14}$ heteroxyclo-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm không no hoặc no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_1-C_{12}$ alkylen- $-(C_5-C_{14}$ heteroxyclo)- trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm không no hoặc no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-(C_5-C_{14}$ heteroxyclo)- $-C_1-C_{12}$ alkylen-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm không no hoặc no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-(OCH_2CH_2)_r$ -, và $-CH_2-(OCH_2CH_2)_r$ -, trong đó mỗi phần tử thế trong số các phần tử thế alkylen nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào góc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

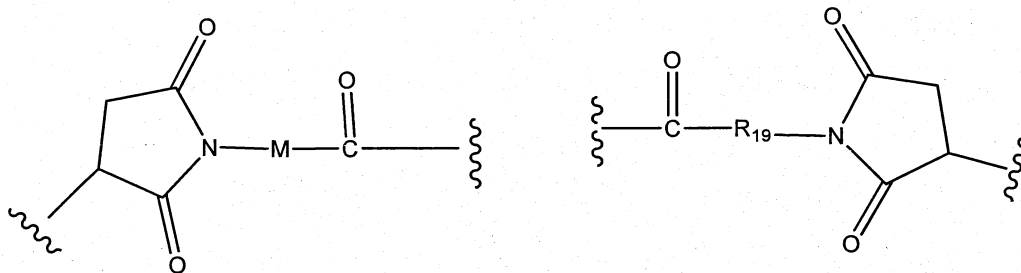
M được chọn từ nhóm bao gồm $-C_1-C_6$ alkylen-, $-C_1-C_6$ alkylen- $-(C_3-C_8$ carboxyclo)-, $-(CH_2CH_2O)_s$ -, $-C_1-C_6$ alkylen- $-(C_3-C_8$ carboxyclo)-CON(H hoặc C_{1-6} alkyl)- $-C_1-C_6$ alkylen-, phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , phenylen- $-C_1-C_6$ alkylen-, trong đó gốc phenylen này có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x và $-C_1-C_6$ alkylen-CON(H hoặc C_{1-6} alkyl) $-C_1-C_6$ alkylen-;

Q được chọn từ nhóm bao gồm $-N(H$ hoặc C_{1-6} alkyl)phenylen- và $-N(H$ hoặc C_{1-6} alkyl)- $(CH_2)_s$;

r là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 10; và

s là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 10.

thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n$ -Ab theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế, trong đó L được chọn từ nhóm bao gồm các nhóm có công thức:



trong đó:

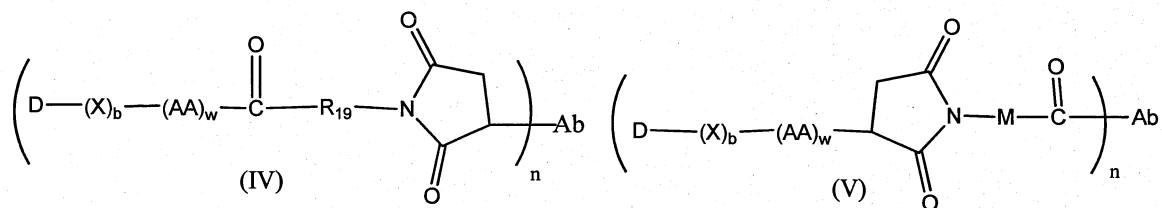
các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với Ab (đường lượn sóng sang phải) và (AA)_w nếu có, hoặc (X)_b nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái);

R₁₉ được chọn từ -C₁-C₁₂ alkylen-, -O-(C₁-C₁₂ alkylen), -C₆-C₁₂ arylen trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -C₁-C₁₂ alkylen-C₆-C₁₂ arylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -C₆-C₁₂ arylen-C₁-C₁₂ alkylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -C₅-C₁₂ heteroxyclo-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm không no hoặc no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -C₁-C₁₂ alkylen-(C₅-C₁₂ heteroxyclo)- trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm không no hoặc no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -(C₅-C₁₂ heteroxyclo)-C₁-C₁₂ alkylen-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm không no hoặc no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -(OCH₂CH₂)_r-, và -CH₂-(OCH₂CH₂)_r- trong đó mỗi phần tử thế trong số các phần tử thế alkylen nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào gốc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x; và

M được chọn từ nhóm bao gồm -C₁-C₆ alkylen-, -C₁-C₆ alkylen-(C₃-C₈ carboxyclo)- và phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x; và

r là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 6.

thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế được chọn từ các thể tiếp hợp có các công thức (IV) và công thức (V):



trong đó:

X là nhóm kéo dài mạch như được xác định theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế;
mỗi AA độc lập là đơn vị axit amin như được xác định theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế;

w là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 12;

b là số nguyên bằng 0 hoặc 1;

D là gốc dược chất;

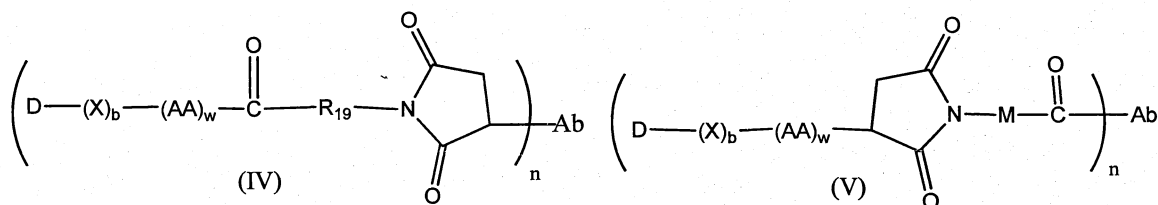
Ab là gốc chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên;

n là tỷ lệ giữa nhóm $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]$ trong đó L là như được xác định trong công thức (IV) hoặc công thức (V) với gốc chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 1 đến 20;

R₁₉ được chọn từ -C₁-C₈ alkylen-, -O-(C₁-C₈ alkylen), -C₁-C₈ alkylen-C₆-C₁₂ arylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -C₆-C₁₂ arylen-C₁-C₈ alkylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, trong đó mỗi phần tử thế trong số các phần tử thế alkylen nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào gốc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x; và

M được chọn từ nhóm bao gồm -C₁-C₃ alkylen- và -C₁-C₃ alkylen-(C₅-C₇ carboxyclo)-.

thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế, được chọn từ các thể tiếp hợp có công thức (IV) và công thức (V):



trong đó:

X là nhóm kéo dài mạch;

mỗi AA độc lập là đơn vị axit amin;

w là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 12;

b là số nguyên bằng 0 hoặc 1;

D là gốc được chất;

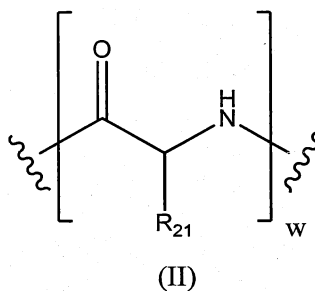
Ab là gốc chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên;

n là tỷ lệ giữa nhóm $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]$ trong đó L là như được xác định trong (IV) hoặc (V) và gốc chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 1 đến 20;

R_{19} được chọn từ $-C_1-C_6$ alkylen-, phenylen- $-C_1-C_6$ alkylen-, trong đó nhóm phenylen này có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, trong đó mỗi phần tử thế trong số các phần tử thế alkylen nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào gốc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm aryl có từ 6 đến 12 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, và tốt hơn nếu R_{19} là nhóm $-C_1-C_6$ alkylen; và

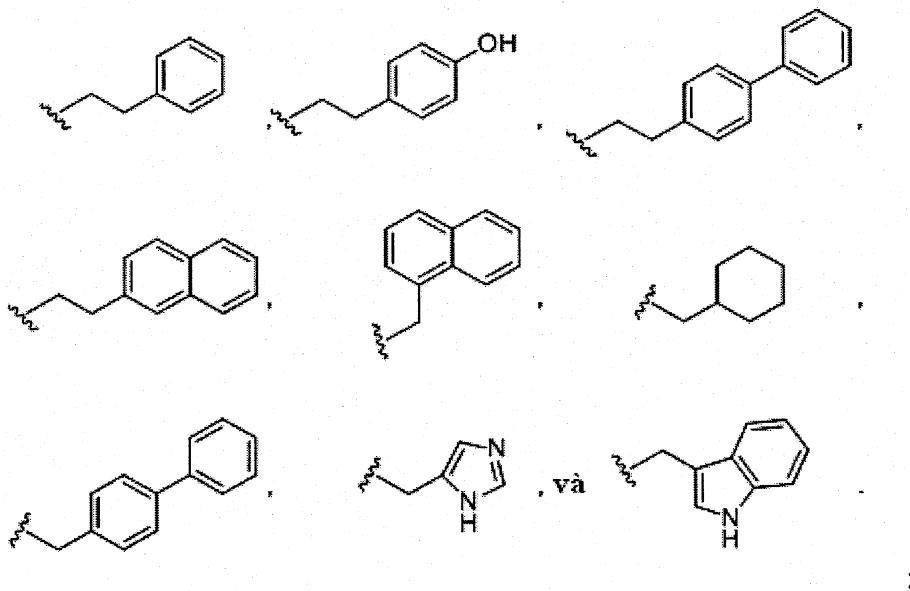
M là $-C_1-C_3$ alkylen- $-(C_5-C_7$ carboxyclo)-.

Tốt hơn nếu trong định nghĩa của thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab$, L là như được xác định trong định nghĩa được ưu tiên đối với nhóm nêu trên và $(AA)_w$ có công thức (II):



trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với (X)_b nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải); và

R₂₁, mỗi khi có mặt, được chọn từ nhóm bao gồm hydro, metyl, isopropyl, isobutyl, sec-butyl, benzyl, p-hydroxybenzyl, -CH₂OH, -CH(OH)CH₃, -CH₂CH₂SCH₃, -CH₂CONH₂, -CH₂COOH, -CH₂CH₂CONH₂, -CH₂CH₂COOH, (CH₂)₃NHC(=NH)NH₂, -(CH₂)₃NH₂, -(CH₂)₃NHCOCH₃, -(CH₂)₃NHCHO, -(CH₂)₄NHC(=NH)NH₂, -(CH₂)₄NH₂, -(CH₂)₄NHCOCH₃, -(CH₂)₄NHCHO, -(CH₂)₃NHCONH₂, -(CH₂)₄NHCONH₂, -CH₂CH₂CH(OH)CH₂NH₂, 2-pyridylmetyl-, 3-pyridylmetyl-, 4-pyridylmetyl-, phenyl, xyclohexyl,



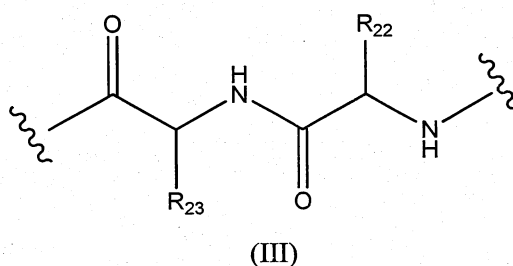
và w là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 12.

thể tiếp hợp được chất có công thức [D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế, trong đó L là như được xác định trong định nghĩa được ưu tiên đối với nhóm nêu trên và (AA)_w có công thức (II), trong đó:

R_{21} được chọn, mỗi khi có mặt, từ nhóm bao gồm hydro, metyl, isopropyl, *sec*-butyl, benzyl, indolylmetyl, $-(CH_2)_3NHCONH_2$, $-(CH_2)_4NH_2$, $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ và $-(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$; và

w là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 6.

thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế, trong đó L là như được xác định trong định nghĩa được ưu tiên đối với nhóm nêu trên, trong đó w bằng 0 hoặc 2, và khi w bằng 2, thì $(AA)_w$ có công thức (III) trong đó:



các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải);

R_{22} được chọn từ metyl, benzyl, isopropyl, *sec*-butyl và indolylmetyl; và

R_{23} được chọn từ metyl, $-(CH_2)_4NH_2$, $-(CH_2)_3NHCONH_2$ và $(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$.

Ngoài ra, tốt hơn nếu trong định nghĩa của thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$, L và AA là như được xác định trong định nghĩa được ưu tiên đối với các nhóm nêu trên và X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ nhóm bao gồm:

$-CONH-(C_1-C_6 \text{ alkylen})NH-$;

$-COO-CH_2-(\text{phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế } R_x)-NH-$;

$-CONH-(C_1-C_6 \text{ alkylen})NH-COO-CH_2-(\text{phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế } R_x)-NH-$;

$-CH_2-(\text{phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế } R_x)-NH-$;

$-COCH_2NH-COCH_2NH-$;

$-COCH_2NH-$;

-CONH-(C₁-C₆ alkylen)S-;

-CONH-(C₁-C₆ alkylen)NHCO(C₁-C₆ alkylen)S-;

-(C₁-C₆ alkylen)NHCO(C₁-C₆ alkylen)S-;

-(C₁-C₆ alkylen)S-;

-(C₁-C₆ alkylen)NH-; và

-(C₁-C₆ alkylen)NH-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x)-NH-.

thể tiếp hợp được chất có công thức [D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế, trong đó L và AA là như được xác định trong định nghĩa được ưu tiên đối với các nhóm nêu trên và X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ nhóm bao gồm:

-CONH-(C₂-C₄ alkylen)NH-;

-COO-CH₂-phenylen-NH-, trong đó nhóm phenylen này có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano;

-CONH-(C₂-C₄ alkylen)NH-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)-NH-;

-COCH₂NH-COCH₂NH-;

-CONH-(C₂-C₄ alkylen)S-;

-CONH-(C₂-C₄ alkylen)NHCO(C₁-C₃ alkylen)S-;

-(C₂-C₄ alkylen)NHCO(C₁-C₃ alkylen)S-;

-(C₂-C₄ alkylen)S-;

-(C₂-C₄ alkylen)NH-; và

-(C₂-C₄ alkylen)NH-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon,

nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)-NH-.

thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế, trong đó L và AA là như được xác định trong định nghĩa được ưu tiên đối với các nhóm nêu trên và X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ nhóm bao gồm:

-CONH(CH₂)₃NHCOOCH₂-phenylen-NH-;

-CONH(CH₂)₃NH-;

-CONH(CH₂)₃-S-;

-CONH(CH₂)₃NHCO(CH₂)₂S-;

-(CH₂)₃NHCO(CH₂)₂S-;

-(CH₂)₃S-;

-(CH₂)₃NH-; và

-(CH₂)₃NHCOOCH₂-phenylen-NH-.

Tốt hơn nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, (AA)_w và X là như được xác định nêu trên và trong đó D là hợp chất có công thức (I), công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗ biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó mỗi R₂ và R₃ độc lập được chọn từ hydro và C₁-C₆ alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x, và tốt hơn nữa nếu mỗi R₂ và R₃ là hydro.

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, (AA)_w và X là như được xác định nêu trên và trong đó D là hợp chất có công thức (I), công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗ biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó R₁ được chọn từ hydro, OR_a và OCOR_a, trong đó R_a được chọn từ hydro và thế hoặc không được thế C₁-C₆ alkyl, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x, và tốt hơn nữa nếu R₁ là hydro hoặc metoxy.

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, (AA)_w và X là như được

xác định nêu trên và trong đó D là hợp chất có công thức (I), công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗ biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó R_3 được chọn từ hydro, COR_a , và C_1 - C_6 alkyl được thể hoặc không được thể, trong đó R_a là C_1 - C_6 alkyl được thể hoặc không được thể, trong đó các phân tử thể tùy ý này là một hoặc nhiều phân tử thể R_x , và tốt hơn nữa nếu R_3 là hydro.

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$ và X là như được xác định nêu trên và trong đó D là hợp chất có công thức (I), công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗ biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó mỗi R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} và R_{12} độc lập được chọn từ hydro và thể và không được thể C_1 - C_6 alkyl, trong đó các phân tử thể tùy ý này là một hoặc nhiều phân tử thể R_x , và tốt hơn nữa nếu mỗi R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} và R_{12} độc lập được chọn từ hydro, methyl được thể và không được thể, isopropyl được thể và không được thể và tert-butyl được thể và không được thể, trong đó các phân tử thể tùy ý này là một hoặc nhiều phân tử thể R_x .

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$ và X là như được xác định nêu trên và trong đó D là hợp chất có công thức (I), công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗ biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó mỗi R_5 , R_7 , R_8 , R_9 và R_{10} là hydro.

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$ và X là như được xác định nêu trên và trong đó D là hợp chất có công thức (I), công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗ biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó mỗi R_4 và R_6 là methyl.

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$ và X là như được xác định nêu trên và trong đó D là hợp chất có công thức (I), công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗ biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó R_{12} là isopropyl, tert-butyl hoặc benzyl.

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, AA và X là như được xác định nêu trên và trong đó D là hợp chất có công thức (I), công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗ biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó mỗi R_{11} và R_{13} độc lập được chọn từ hydro và thế và không được thế C_1-C_6 alkyl, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x , và tốt hơn nữa nếu mỗi R_{11} và R_{13} là hydro.

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$ và X là như được xác định nêu trên và trong đó D là hợp chất có công thức (Ia) hoặc (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗ biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó mỗi R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, $R_{18'}$, R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} và R_{26} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, C_2-C_6 alkenyl được thế hoặc không được thế và C_2-C_6 alkynyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x , tốt hơn nữa nếu mỗi R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, $R_{18'}$, R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} và R_{26} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm hydroxyl, nhóm oxo, nguyên tử halogen, $OCOR_y$, $OCOOR_y$, COR_y , $COOR_y$, $CONR_yR_z$, $CONR_yR_z$, NR_yR_z , và NR_yCOR_z , trong đó mỗi R_y và R_z được chọn từ nguyên tử hydro và nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, còn tốt hơn nữa nếu mỗi R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, $R_{18'}$, R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} và R_{26} độc lập là hydro hoặc nhóm C_1-C_6 alkyl, và tốt nhất nếu mỗi R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, $R_{18'}$, R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} và R_{26} là hydro hoặc metyl.

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$ và X là như được xác định nêu trên và trong đó D là hợp chất có công thức (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗ biến hoặc chất đồng phân lập thể của nó, trong đó R_{18} được chọn từ hydro, nhóm C_1-C_6 alkyl có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , nhóm aryl có từ 6 đến 12 nguyên tử cacbon trên một hoặc nhiều vòng thơm, nhóm aryl này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x và nhóm heteroxyclo không no hoặc no có từ 5 đến 10 cạnh có một hoặc nhiều vòng, nhóm heteroxyclo này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , trong đó các phần tử thế R_x được chọn từ

nhóm bao gồm nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm hydroxyl, nguyên tử halogen, nhóm alkylamino có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon và nhóm dialkylamino có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, tốt hơn nữa nếu R_{18} được chọn từ hydro, nhóm C_1 - C_6 alkyl có thể tùy ý được thế bằng ít nhất một nhóm R_x và nhóm phenyl có thể tùy ý được thế bằng ít nhất một nhóm R_x , và tốt nhất nếu R_{18} là hydro hoặc nhóm phenyl, đặc biệt là hydro.

Tốt hơn nữa nếu thế tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thế tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$ và X là như được xác định nêu trên và trong đó D là hợp chất có công thức (Ia) hoặc (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗ biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó R_{27} được chọn từ nguyên tử hydro, nguyên tử halogen hoặc C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x , và tốt hơn nữa nếu R_{27} được chọn từ nguyên tử hydro và nguyên tử clo.

Tốt hơn nữa nếu thế tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thế tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$ và X là như được xác định nêu trên và trong đó D là hợp chất có công thức (I), công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗ biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó mỗi cặp nguyên tử cacbon đã được liên kết bởi một hoặc nhiều đường chấm chấm được gắn kết bởi các liên kết đôi.

Tốt hơn nữa nếu thế tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thế tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$ và X là như được xác định nêu trên và trong đó D là hợp chất có công thức (Ia) hoặc (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗ biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó:

R_1 được chọn từ hydro, OR_a và $OCOR_a$, trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_2 và R_3 độc lập được chọn từ hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_3 , được chọn từ hydro, COR_a , và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó R_a là C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} và R_{12} độc lập được chọn từ hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế và không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_{11} và R_{13} độc lập được chọn từ hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế và không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, $R_{18'}$, R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} và R_{26} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm:

hydro và nhóm C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế trong đó các phần tử thế tùy ý này được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm hydroxyl, nhóm oxo, nguyên tử halogen, $OCOR_y$, $OCOOR_y$, COR_y , $COOR_y$, $CONR_yR_z$, $CONR_yR_z$, NR_yR_z và NR_yCOR_z , trong đó mỗi R_y và R_z được chọn từ nguyên tử hydro và nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon;

R_{18} được chọn từ hydro, nhóm C_1 - C_6 alkyl có thể tùy ý được thế bằng ít nhất một nhóm R_x , nhóm aryl có từ 6 đến 12 nguyên tử cacbon trên một hoặc nhiều vòng thơm, nhóm aryl này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x và nhóm heteroxyclo không no hoặc no có từ 5 đến 10 cạnh có một hoặc nhiều vòng, nhóm heteroxyclo này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , trong đó các phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm hydroxyl, nguyên tử halogen, nhóm alkylamino có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon và nhóm dialkylamino có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon;

R_{27} được chọn từ hydro, halogen và C_1 - C_6 alkyl được thế và không được thế trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ; và

mỗi đường chấm chấm thể hiện liên kết bổ sung tùy ý, nhưng khi liên kết ba có mặt giữa nguyên tử C liên kết với R_{25} và nguyên tử C liên kết với R_{26} và R_{27} , thì R_{25} và R_{26} hoặc R_{27} là không có mặt.

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L , $(AA)_w$ và X là như được xác định nêu trên và trong đó D là hợp chất có công thức (Ia) hoặc (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó:

R_1 là hydro hoặc metoxy;

mỗi R_2 và R_3 là hydro;

$R_{3'}$ là hydro;

mỗi $R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}$ và R_{12} độc lập được chọn từ hydro, methyl được thể hoặc không được thể, isopropyl được thể hoặc không được thể và tert-butyl được thể hoặc không được thể trong đó các phần tử thể tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thể R_x ;

mỗi R_{11} và R_{13} là hydro;

mỗi $R_{15}, R_{16}, R_{17}, R_{17'}, R_{18}, R_{24}, R_{24'}, R_{25}$ và R_{26} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm:

hydro và nhóm C_1 - C_6 alkyl được thể hoặc không được thể trong đó các phần tử thể tùy ý này được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm hydroxyl, nhóm oxo, nguyên tử halogen, $OCOR_y$, $OCOOR_y$, COR_y , $COOR_y$, $CONR_yR_z$, $CONR_yR_z$, NR_yR_z và NR_yCOR_z , trong đó mỗi R_y và R_z được chọn từ nguyên tử hydro, và nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon.

R_{18} được chọn từ hydro, nhóm C_1 - C_6 alkyl có thể tùy ý được thể bằng ít nhất một nhóm R_x và nhóm phenyl có thể tùy ý được thể bằng ít nhất một nhóm R_x ;

R_{27} là nguyên tử hydro hoặc nguyên tử clo; và

mỗi đường chấm chấm thể hiện liên kết bổ sung tùy ý, nhưng khi liên kết ba có mặt giữa nguyên tử C liên kết với R_{25} và nguyên tử C liên kết với R_{26} và R_{27} , thì R_{25} và R_{26} hoặc R_{27} là không có mặt.

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$ và X là như được xác định nêu trên và trong đó D là hợp chất có công thức (Ia) hoặc (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó:

R_1 là hydro hoặc metoxy;

mỗi R_2 và R_3 là hydro;

$R_{3'}$ là hydro;

mỗi R_5, R_7, R_8, R_9 và R_{10} là hydro;

mỗi R_4 và R_6 là methyl;

mỗi R_{11} và R_{13} là hydro;

R_{12} là isopropyl, tert-butyl hoặc benzyl;

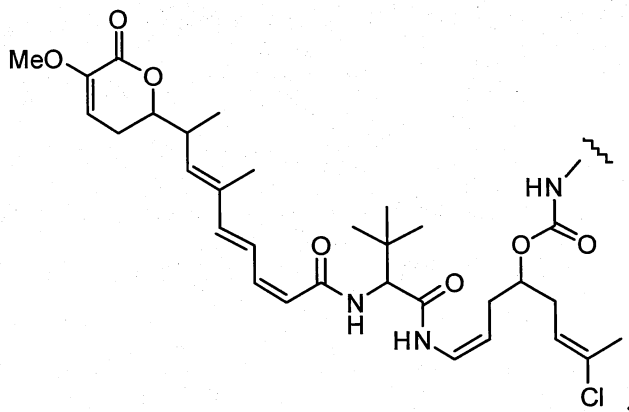
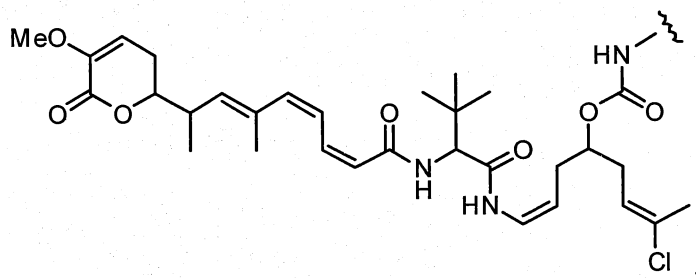
mỗi R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, R_{18} , R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} và R_{26} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro và nhóm C_1 - C_6 alkyl, tốt hơn nếu hydro và methyl;

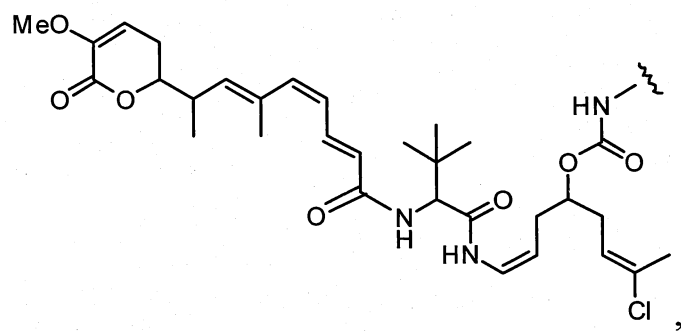
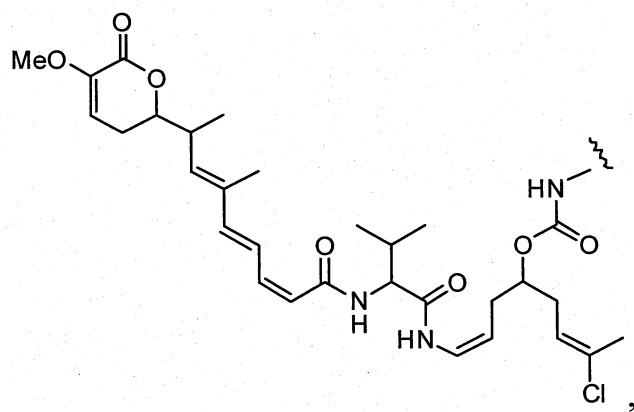
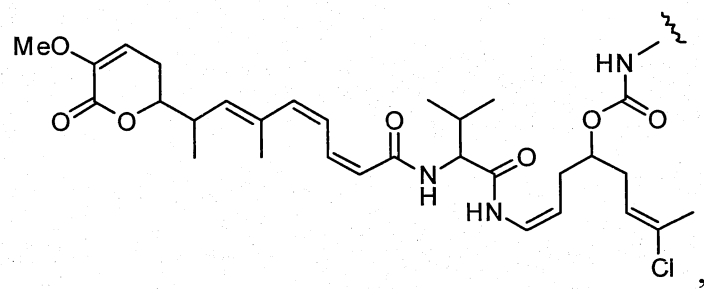
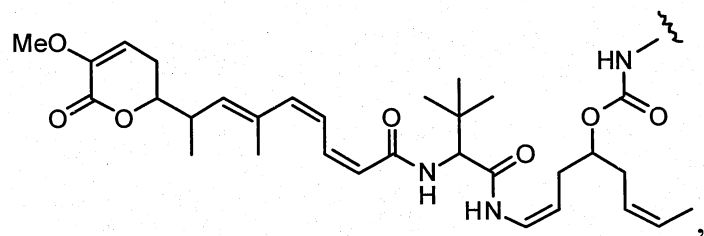
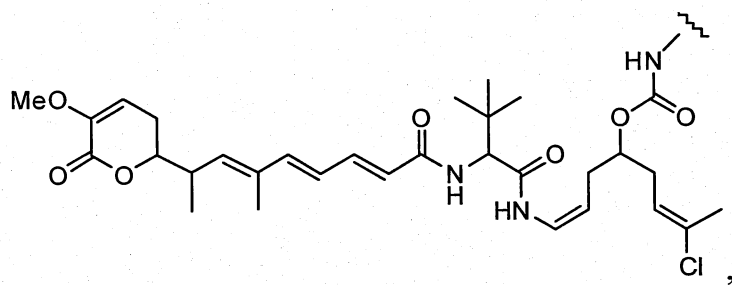
R_{18} được chọn từ hydro và phenyl, tốt hơn nếu hydro;

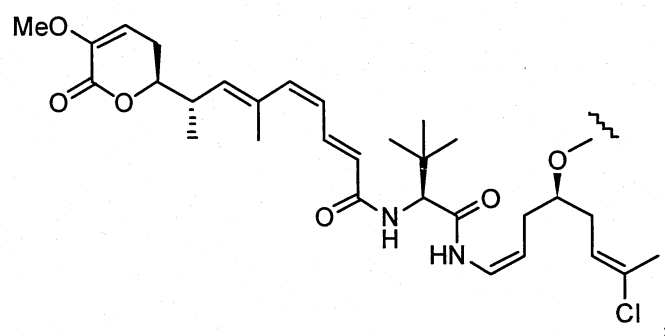
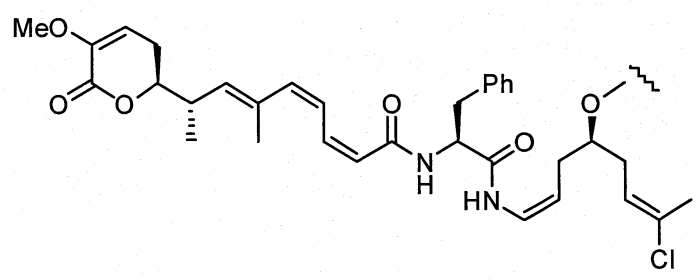
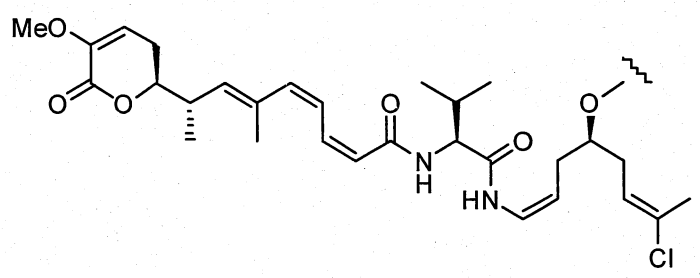
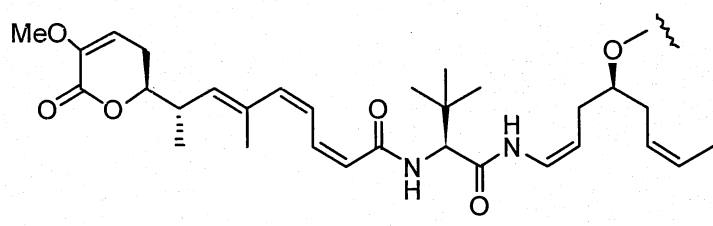
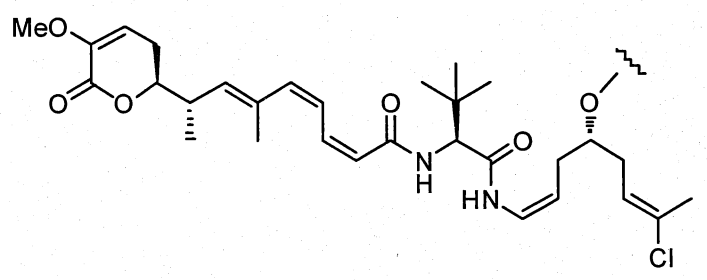
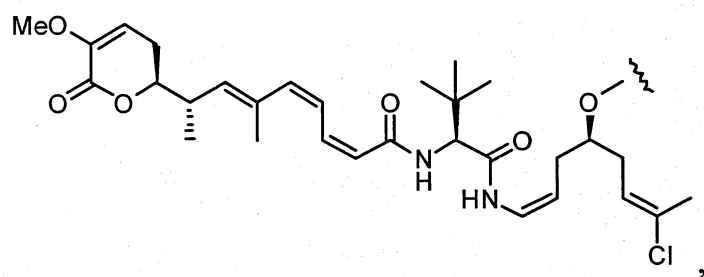
R_{27} là nguyên tử hydro hoặc nguyên tử clo; và

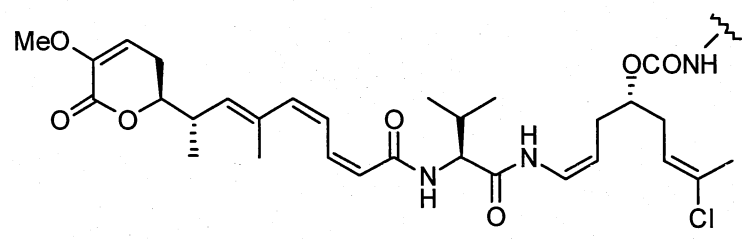
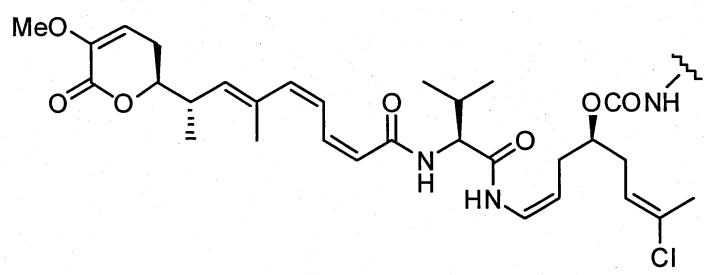
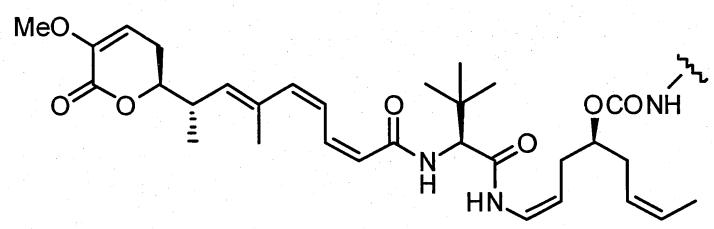
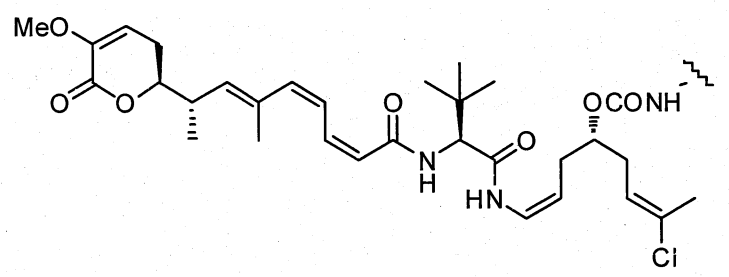
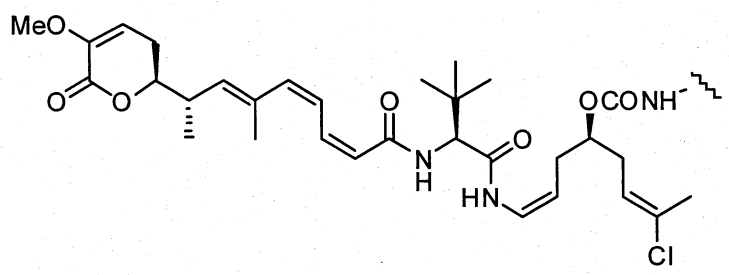
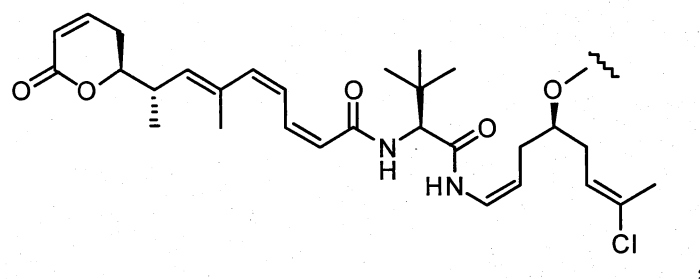
mỗi cặp nguyên tử cacbon đã được liên kết bởi một hoặc nhiều đường chấm chấm được gắn kết bởi các liên kết đôi.

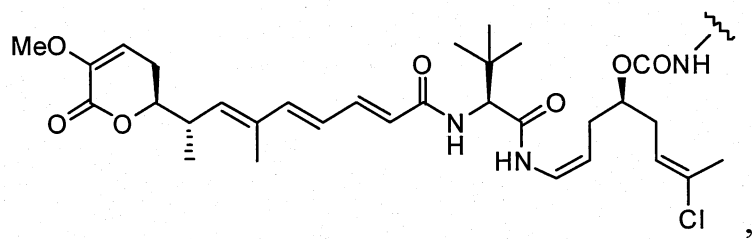
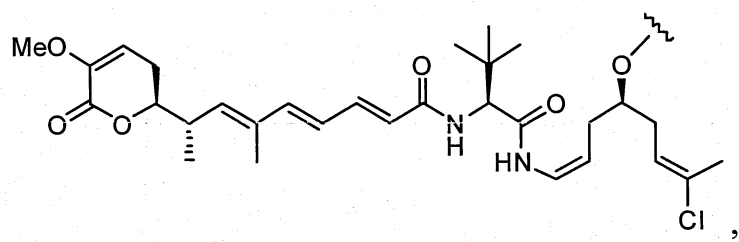
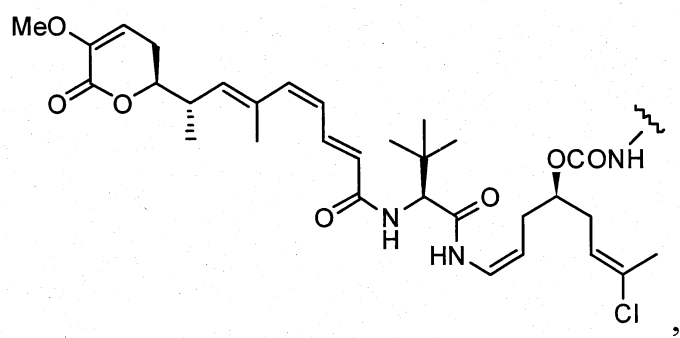
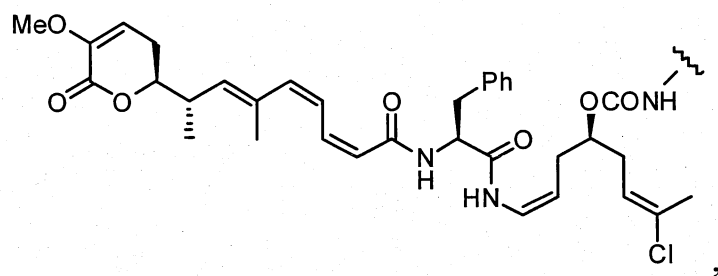
Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$ và X là như được xác định nêu trên và trong đó D là hợp chất có công thức (I), công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗ biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng được chọn từ các hợp chất có công thức:

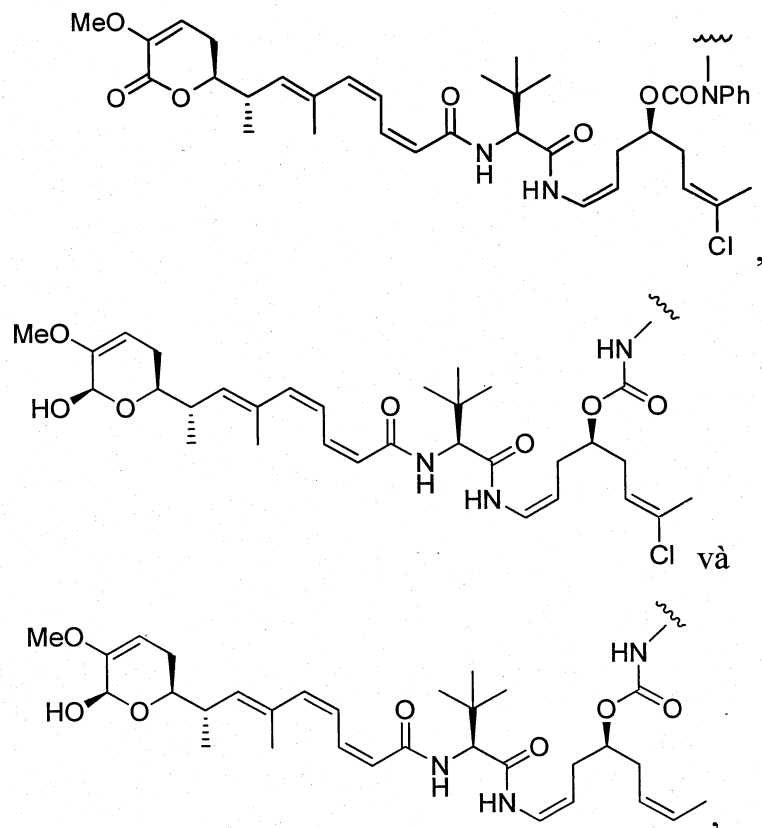






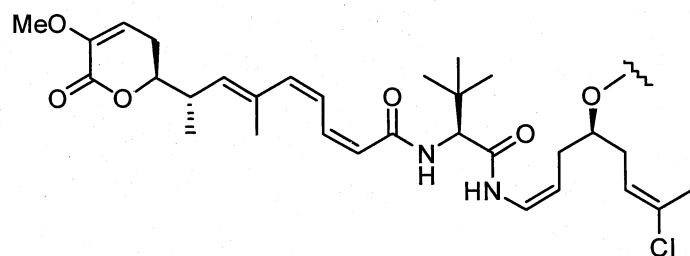




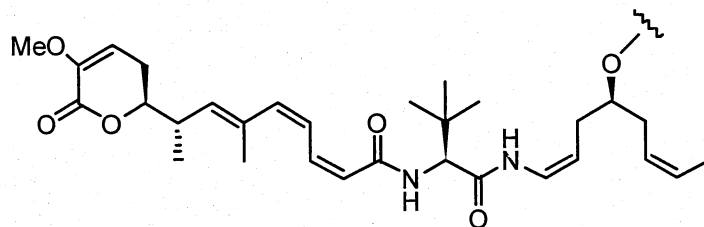


trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc $(AA)_w$ nếu có, hoặc nhóm liên kết L.

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$ và X là như được xác định nêu trên và trong đó D là hợp chất có công thức (I), công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn hợp hoặc chất đồng phân lập thể của chúng được chọn từ các hợp chất có công thức:

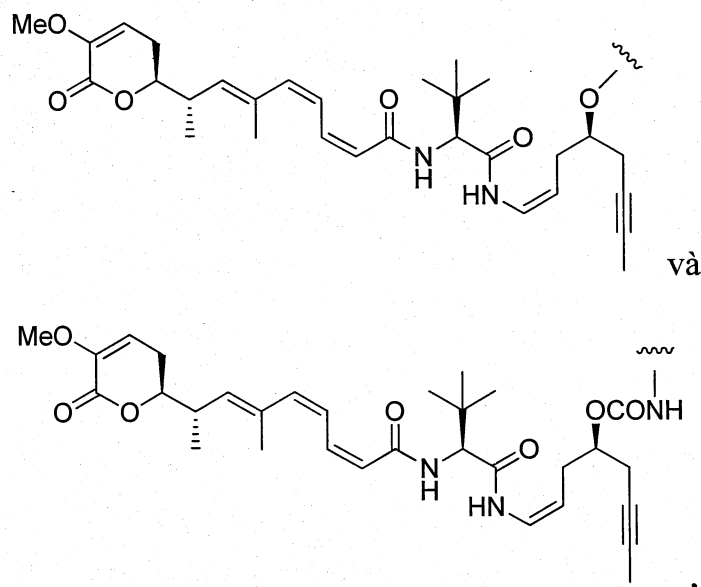


và



trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc $(AA)_w$ nếu có, hoặc nhóm liên kết L.

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$ và X là như được xác định nêu trên và trong đó D là hợp chất có công thức (I), công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗ biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng được chọn từ các hợp chất có công thức:



trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc $(AA)_w$ nếu có, hoặc nhóm liên kết L.

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$, X và D là như được xác định nêu trên và trong đó gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên là peptit gắn kết với kháng nguyên.

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$, X và D là như

được xác định nêu trên và gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên là kháng thể, kháng thể đơn miền hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$, X và D là như được xác định nêu trên và gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên là kháng thể đơn dòng, đa dòng hoặc kháng thể đặc hiệu kép và trong đó kháng thể này hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó có nguồn gốc từ các loài bất kỳ, tốt hơn nếu người, chuột nhắt hoặc thỏ.

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$, X và D là như được xác định nêu trên và gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên là kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó được chọn từ nhóm bao gồm kháng thể của người, mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể của người, kháng thể nhân tạo, mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể nhân tạo, kháng thể thể khảm, mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể thể khảm, kháng thể đã được glycosyl hóa và mảnh gắn kết kháng nguyên đã được glycosyl hóa.

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$, X và D là như được xác định nêu trên và gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên là kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, trong đó kháng thể này hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là mảnh gắn kết kháng nguyên được chọn từ nhóm bao gồm đoạn Fab, đoạn Fab', đoạn F(ab')₂ và đoạn Fv.

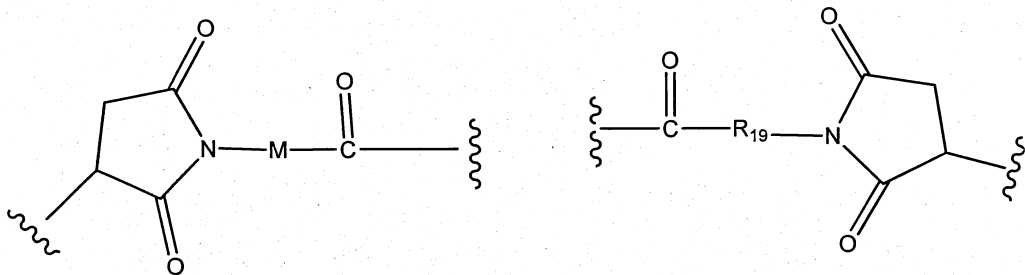
Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$, X và D là như được xác định nêu trên và gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên là kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, trong đó kháng thể này hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là kháng thể đơn dòng gắn kết miễn dịch đặc hiệu với kháng nguyên của tế bào ung thư, kháng nguyên của virus, kháng nguyên của các tế bào sản sinh các kháng thể tự miễn liên quan đến bệnh tự miễn, kháng nguyên của vi khuẩn, và tốt hơn nếu kháng thể đơn dòng gắn kết miễn dịch đặc hiệu với kháng nguyên của tế bào ung thư.

Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là thể tiếp hợp trong đó L, $(AA)_w$, X và D là như được xác định nêu trên và gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên là kháng thể được chọn từ nhóm bao gồm Abciximab, Alemtuzumab, Basiliximab, Bevacizumab, Cetuximab, Daclizumab, Glembatumumab, Gemtuzumab, Ibritumomab, Inotuzumab, Labetuzumab, Lorvotuzumab, Milatuzumab, Nimotuzumab, Omalizumab, Palivizumab, Panitumumab, Pinatuzumab, Rituximab, Vorsetuzumab, Trastuzumab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13, hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, trong đó tốt hơn nếu kháng thể này được chọn từ Abciximab, Alemtuzumab, Basiliximab, Bevacizumab, Cetuximab, Daclizumab, Glembatumumab, Gemtuzumab, Ibritumomab, Inotuzumab, Labetuzumab, Lorvotuzumab, Milatuzumab, Nimotuzumab, Omalizumab, Palivizumab, Panitumumab, Pinatuzumab, Rituximab, Vorsetuzumab, Trastuzumab và kháng thể kháng CD4, hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, và còn tốt hơn nữa nếu là Abciximab, Alemtuzumab, Basiliximab, Bevacizumab, Cetuximab, Daclizumab, Gemtuzumab, Ibritumomab, Nimotuzumab, Omalizumab, Palivizumab, Panitumumab, Rituximab và Trastuzumab, hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng. Trong số chúng, đặc biệt tốt hơn nếu là Trastuzumab, Rituximab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng; hoặc kháng thể này được chọn từ Trastuzumab, Rituximab và kháng thể kháng CD4 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, đặc biệt là Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó; hoặc kháng thể này được chọn từ kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, đặc biệt là kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó.

Đặc biệt tốt hơn nếu thể tiếp hợp được chất có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab$ theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế bao gồm các thể tiếp hợp sau:

(a) thể tiếp hợp được chất theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế trong đó:

L được chọn từ nhóm bao gồm:



và

trong đó:

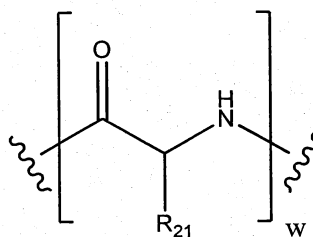
các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với Ab (đường lượn sóng sang phải) và (AA)_w nếu có, hoặc (X)_b nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái);

R₁₉ được chọn từ -C₁-C₁₂ alkylen-, -O-(C₁-C₁₂ alkylen), -C₆-C₁₂ arylen trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -C₁-C₁₂ alkylen-C₆-C₁₂ arylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -C₆-C₁₂ arylen-C₁-C₁₂ alkylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -C₅-C₁₂ heteroxyclo-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm không no hoặc no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -C₁-C₁₂ alkylen-(C₅-C₁₂ heteroxyclo)- trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm không no hoặc no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -(C₅-C₁₂ heteroxyclo)-C₁-C₁₂ alkylen-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm không no hoặc no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -(OCH₂CH₂)_r- và -CH₂-(OCH₂CH₂)_r-, trong đó mỗi phần tử thế trong số các phần tử thế alkylen nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào góc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x;

M được chọn từ nhóm bao gồm -C₁-C₆ alkylen-, -C₁-C₆ alkylen-(C₃-C₈ carboxyclo)- và phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x;

r là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 6;

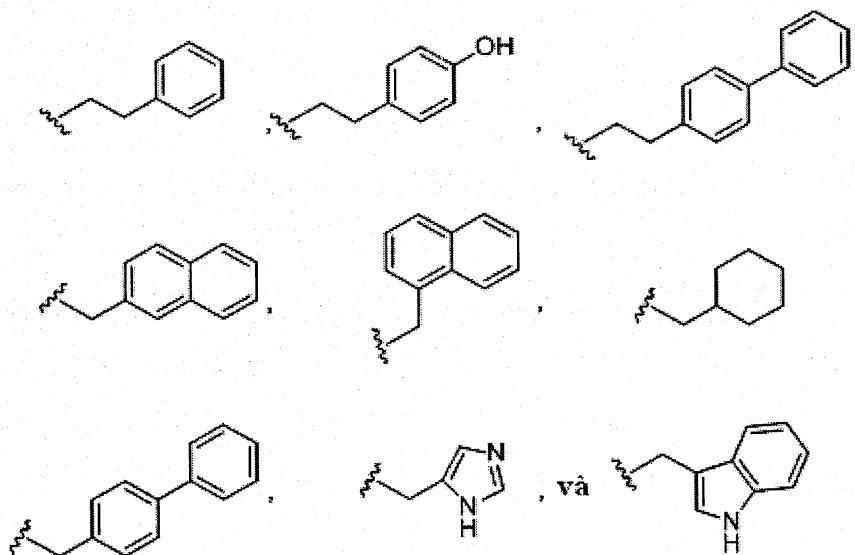
(AA)_w có công thức (II):



(II)

trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với (X)_b nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải);

R₂₁, mỗi khi có mặt, được chọn từ nhóm bao gồm hydro, metyl, isopropyl, isobutyl, sec-butyl, benzyl, p-hydroxybenzyl, -CH₂OH, -CH(OH)CH₃, -CH₂CH₂SCH₃, -CH₂CONH₂, -CH₂COOH, -CH₂CH₂CONH₂, -CH₂CH₂COOH, -(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂, -(CH₂)₃NH₂, -(CH₂)₃NHCOCH₃, -(CH₂)₃NHCHO, -(CH₂)₄NHC(=NH)NH₂, -(CH₂)₄NH₂, -(CH₂)₄NHCOCH₃, -(CH₂)₄NHCHO, -(CH₂)₃NHCONH₂, -(CH₂)₄NHCONH₂, -CH₂CH₂CH(OH)CH₂NH₂, 2-pyridylmetyl-, 3-pyridylmetyl-, 4-pyridylmetyl-, phenyl, xyclohexyl, các nhóm có công thức:



w là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 12;

trong đó X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ -CONH-(C₁-C₆ alkylen)NH-, -COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x)-NH-, -CONH-(C₁-C₆ alkylen)NH-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x)-NH-, -CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều

phần tử thế R_x)-NH-, -COCH₂NH-COCH₂NH-, -COCH₂NH-, -CONH-(C₁-C₆ alkyl)S-, -CONH-(C₁-C₆ alkyl)NHCO(C₁-C₆ alkyl)S-, -(C₁-C₆ alkyl)NHCO(C₁-C₆ alkyl)S-, -(C₁-C₆ alkyl)S-, -(C₁-C₆ alkyl)NH- và -(C₁-C₆ alkyl)NH-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x)-NH-;

D là gốc được chất có công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗ biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó:

R_1 được chọn từ hydro, OR_a và OCOR_a, trong đó R_a được chọn từ hydro và thế hoặc không được thế C₁-C₆ alkyl, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_2 và R_3 độc lập được chọn từ hydro và C₁-C₆ alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_3 được chọn từ hydro, COR_a, và C₁-C₆ alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó R_a là C₁-C₆ alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} và R_{12} độc lập được chọn từ hydro và C₁-C₆ alkyl được thế và không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_{11} và R_{13} độc lập được chọn từ hydro và C₁-C₆ alkyl được thế và không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, $R_{18'}$, R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} và R_{26} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm:

hydro và nhóm C₁-C₆ alkyl được thế hoặc không được thế trong đó các phần tử thế tùy ý này được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm hydroxyl, nhóm oxo, nguyên tử halogen, OCOR_y, OCOOR_y, COR_y, COOR_y, OCONR_yR_z, CONR_yR_z, NR_yR_z và NR_yCOR_z, trong đó mỗi R_y và R_z được chọn từ nguyên tử hydro và nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon;

R_{18} được chọn từ hydro, nhóm C₁-C₆ alkyl có thể tùy ý được thế bằng ít nhất một nhóm R_x , nhóm aryl có từ 6 đến 12 nguyên tử cacbon trên một hoặc nhiều vòng thơm, nhóm aryl này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x và nhóm heteroxyclo không no hoặc no có từ 5 đến 10 cạnh có một hoặc nhiều vòng, nhóm heteroxyclo này

tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , trong đó các phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm hydroxyl, nguyên tử halogen, nhóm alkylamino có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon và nhóm dialkylamino có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon;

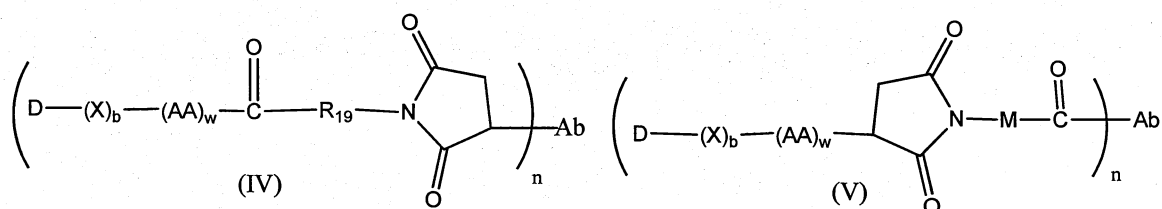
R_{27} được chọn từ hydro, halogen và C_1 - C_6 alkyl được thế và không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi đường chấm chấm thể hiện liên kết bổ sung tùy ý, nhưng khi liên kết ba có mặt giữa nguyên tử C liên kết với R_{25} và nguyên tử C liên kết với R_{26} và R_{27} , thì R_{25} và R_{26} hoặc R_{27} là không có mặt;

gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên là kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó và chọn từ nhóm bao gồm kháng thể của người, mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể của người, kháng thể nhân tạo, mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể nhân tạo, kháng thể thể khảm, mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể thể khảm, kháng thể đã được glycosyl hóa và mảnh gắn kết kháng nguyên đã được glycosyl hóa; và

n là tỷ lệ giữa nhóm $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]$ với gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 1 đến 12.

(b) thể tiếp hợp được chất theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế được chọn từ các thể tiếp hợp có công thức (IV) và công thức (V):



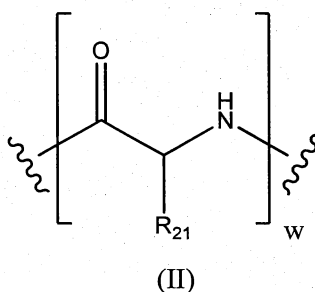
trong đó:

R_{19} được chọn từ $-C_1$ - C_8 alkyl-, $-O-(C_1$ - C_8 alkyl-), $-C_1$ - C_8 alkyl- C_6 - C_{12} aryl-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x và $-C_6$ - C_{12} aryl- C_1 - C_8 alkyl-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , trong đó mỗi phần tử thế trong số các phần tử thế alkylen nêu trên ở dạng

riêng rẽ hoặc được gắn vào gốc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

M được chọn từ nhóm bao gồm $-C_1-C_3$ alkylen- và $-C_1-C_3$ alkylen- $(C_5-C_7$ carboxyclo)-;

$(AA)_w$ có công thức (II):



trong đó:

các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải);

R_{21} , mỗi khi có mặt, được chọn từ nhóm bao gồm hydro, methyl, isopropyl, *sec*-butyl, benzyl, indolylmethyl, $-(CH_2)_3NHCONH_2$, $-(CH_2)_4NH_2$, $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ và $-(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$;

w là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 6;

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ nhóm bao gồm $-CONH-(C_2-C_4$ alkylen) $NH-$, $-COO-CH_2$ -phenylen- $NH-$, trong đó nhóm phenylen này có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, $-CONH-(C_2-C_4$ alkylen) $NH-COO-CH_2$ -(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)- $NH-$, $-COCH_2NH-COCH_2-NH-$, $-CONH-(C_2-C_4$ alkylen) $S-$, $-CONH-(C_2-C_4$ alkylen) $NHCO(C_1-C_3$ alkylen) $S-$, $-(C_2-C_4$ alkylen) $NHCO(C_1-C_3$ alkylen) $S-$, $-(C_2-C_4$ alkylen) $S-$, $-(C_2-C_4$ alkylen) $NH-$ và $-(C_2-C_4$ alkylen) $NH-COO-CH_2$ -(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)- $NH-$;

D là gốc dược chất có công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối dược dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn hợp hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó:

R_1 là hydro hoặc metoxy;

mỗi R_2 và R_3 là hydro;

R_3' là hydro;

mỗi R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} và R_{12} độc lập được chọn từ hydro, methyl được thế và không được thế, isopropyl được thế và không được thế và tert-butyl được thế và không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_{11} và R_{13} là hydro;

mỗi R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, R_{18} , R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} và R_{26} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm:

hydro và nhóm C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế trong đó các phần tử thế tùy ý này được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm hydroxyl, nhóm oxo, nguyên tử halogen, $OCOR_y$, $OCOOR_y$, COR_y , $COOR_y$, $CONR_yR_z$, $CONR_yR_z$, NR_yR_z , NR_yCOR_z , trong đó mỗi R_y và R_z được chọn từ nguyên tử hydro và nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon.

R_{18} được chọn từ hydro, nhóm C_1 - C_6 alkyl có thể tùy ý được thế bằng ít nhất một nhóm R_x , và nhóm phenyl tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

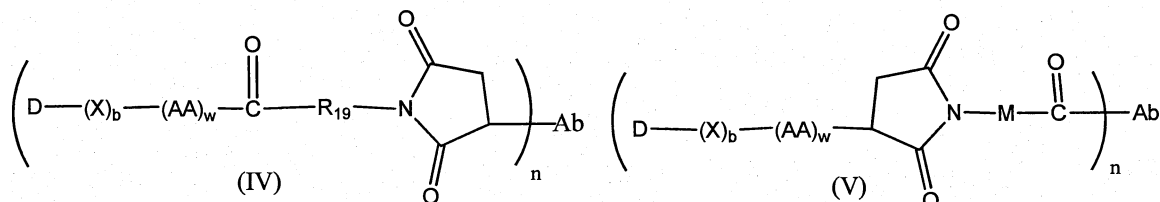
R_{27} là nguyên tử hydro hoặc nguyên tử clo;

mỗi đường chấm chấm thể hiện liên kết bổ sung tùy ý, nhưng khi liên kết ba có mặt giữa nguyên tử C liên kết với R_{25} và nguyên tử C liên kết với R_{26} và R_{27} , thì R_{25} và R_{26} hoặc R_{27} là không có mặt;

gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên là kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, trong đó kháng thể này hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên là kháng thể đơn dòng gắn kết miễn dịch đặc hiệu với kháng nguyên của tế bào ung thư, kháng nguyên của virus, kháng nguyên của các tế bào sản sinh các kháng thể tự miễn liên quan đến bệnh tự miễn, kháng nguyên của vi khuẩn, và tốt hơn nữa kháng thể đơn dòng gắn kết miễn dịch đặc hiệu với kháng nguyên của tế bào ung thư; và

n là tỷ lệ giữa nhóm $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]$ trong đó L là như được xác định trong các thể tiếp hợp có công thức (IV) hoặc công thức (V) với gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 3 đến 8.

(c) thể tiếp hợp được chất theo khía cạnh thứ nhất được chọn từ các thể tiếp hợp có công thức (IV) và công thức (V):

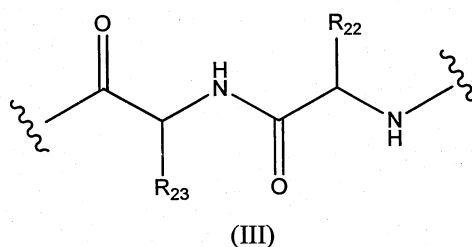


trong đó:

R_{19} được chọn từ $-C_1-C_6$ alkyl-, $-phenylen-C_1-C_6$ alkyl-, trong đó nhóm phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, trong đó mỗi phần tử thế trong số các phần tử thế alkylen nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào gốc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm aryl có từ 6 đến 12 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, và tốt hơn nếu R_{19} là nhóm C_1-C_6 alkyl-;

M là $-C_1-C_3$ alkyl- $-(C_5-C_7$ carboxyclo)-;

w bằng 0 hoặc 2, và khi w bằng 2 thì $(AA)_w$ có công thức (III):



trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải);

R_{22} được chọn từ methyl, benzyl, isopropyl, *sec*-butyl và indolylmethyl;

R_{23} được chọn từ methyl, $-(CH_2)_4NH_2$, $-(CH_2)_3NHCONH_2$ và $(CH_2)_3NHC(=NH)-NH_2$;

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ nhóm bao gồm $-CONH-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NH-$, $-COO-CH_2\text{-phenylen-NH-}$, trong đó nhóm phenylen này có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, $-CONH-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NH-$, $-COO-CH_2\text{-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế } R_x \text{ được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro hoặc nhóm xyano)-NH-}$, $-COCH_2NH-COCH_2-NH-$, $-CONH-(C_2-C_4 \text{ alkylen})S-$, $-CONH-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NHCO(C_1-C_3 \text{ alkylen})S-$, $-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NHCO(C_1-C_3 \text{ alkylen})S-$, $-(C_2-C_4 \text{ alkylen})S-$, $-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NH-$ và $-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NH-COO-CH_2\text{-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế } R_x \text{ được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)-NH-}$;

D là gốc dược chất có công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối dược dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn hợp hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó:

R_1 là hydro hoặc metoxy;

mỗi R_2 và R_3 là hydro;

R_3 là hydro;

mỗi R_5 , R_7 , R_8 , R_9 và R_{10} là hydro;

mỗi R_4 và R_6 là methyl;

mỗi R_{11} và R_{13} là hydro;

R_{12} là isopropyl, tert-butyl hoặc benzyl;

mỗi R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, $R_{18'}$, R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} và R_{26} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro và nhóm C_1-C_6 alkyl, tốt hơn nếu hydro và methyl;

R_{18} được chọn từ hydro và phenyl, tốt hơn nếu hydro;

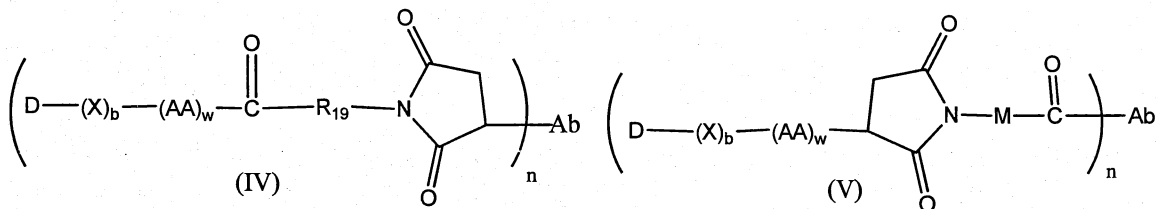
R_{27} là nguyên tử hydro hoặc nguyên tử clo;

mỗi cặp nguyên tử cacbon liên kết bởi một hoặc nhiều đường chấm chấm được gắn kết qua các liên kết đôi;

gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên là kháng thể đơn dòng được chọn từ nhóm bao gồm Abciximab, Alemtuzumab, Basiliximab, Bevacizumab, Cetuximab, Daclizumab, Glembatumumab, Gemtuzumab, Ibritumomab, Inotuzumab, Labetuzumab, Lorvotuzumab, Milatuzumab, Nimotuzumab, Omalizumab, Palivizumab, Panitumumab, Pinatuzumab, Rituximab, Vorsetuzumab, Trastuzumab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5, và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, tốt hơn nếu nó là kháng thể đơn dòng được chọn từ nhóm bao gồm Abciximab, Alemtuzumab, Basiliximab, Bevacizumab, Cetuximab, Daclizumab, Glembatumumab, Gemtuzumab, Ibritumomab, Inotuzumab, Labetuzumab, Lorvotuzumab, Milatuzumab, Nimotuzumab, Omalizumab, Palivizumab, Panitumumab, Pinatuzumab, Rituximab, Vorsetuzumab, Trastuzumab và kháng thể kháng CD4, hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, và còn tốt hơn nữa nếu Abciximab, Alemtuzumab, Basiliximab, Bevacizumab, Cetuximab, Daclizumab, Gemtuzumab, Ibritumomab, Nimotuzumab, Omalizumab, Palivizumab, Panitumumab, Rituximab và Trastuzumab, hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng. Trong số chúng, đặc biệt tốt hơn nếu là kháng thể được chọn từ Trastuzumab, Rituximab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5, và kháng thể kháng CD13, hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, tốt hơn nữa nếu kháng thể này được chọn từ Trastuzumab, kháng thể kháng CD13, và kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng; hoặc kháng thể được chọn từ Trastuzumab, Rituximab và kháng thể kháng CD4, hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, tốt hơn nếu Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó; hoặc kháng thể được chọn từ kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, đặc biệt là kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó; và

n là tỷ lệ giữa nhóm $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]$ trong đó L là như được xác định trong các công thức (IV) hoặc công thức (V) với gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 3 đến 5.

(d) thể tiếp hợp được chất theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế được chọn từ các thể tiếp hợp có công thức (IV) và công thức (V):

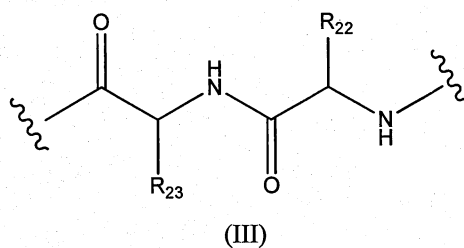


trong đó:

R_{19} là $-C_3-C_6$ alkylen-;

M là $-C_1-C_3$ alkylen- $(C_5-C_7$ carboxyclo)-;

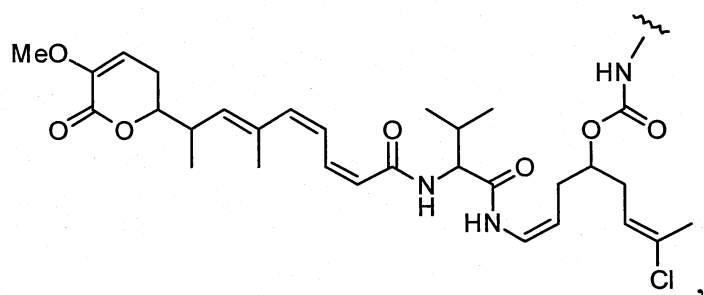
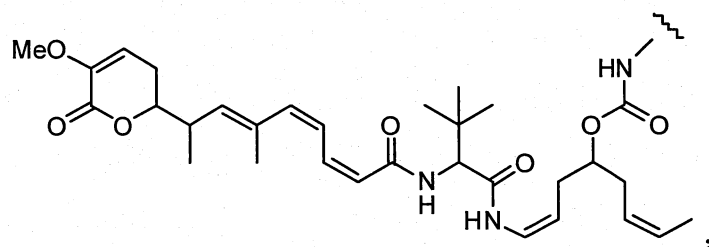
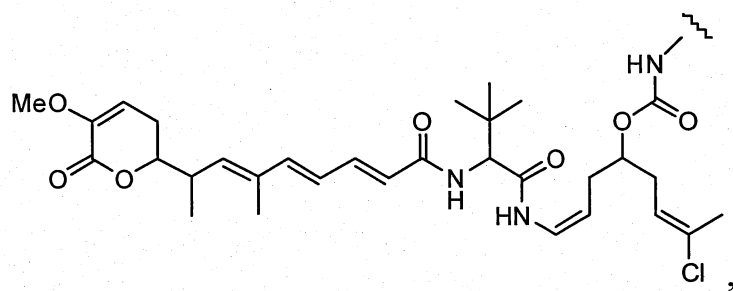
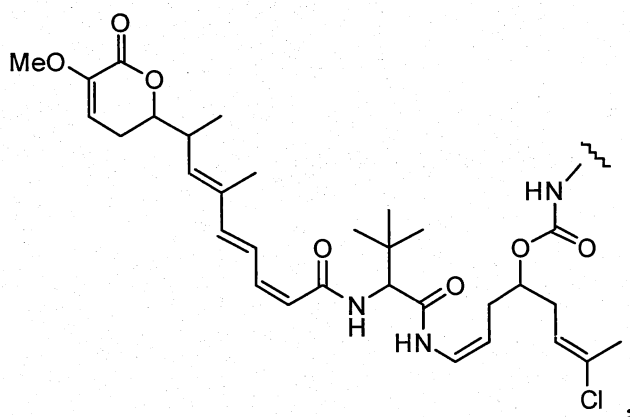
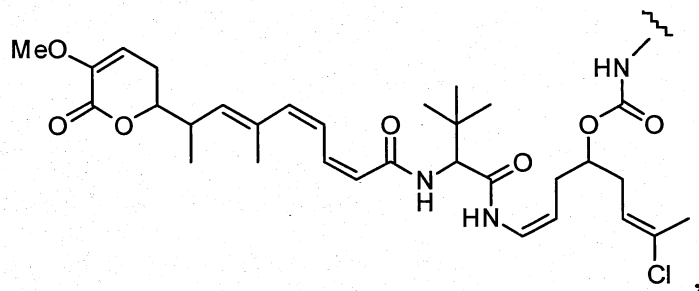
w bằng 0 hoặc 2, và khi w bằng 2 thì $(AA)_w$ có công thức (III):



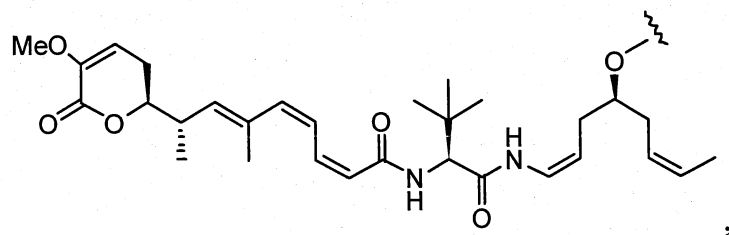
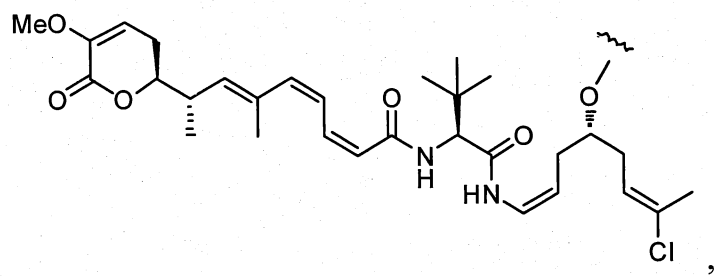
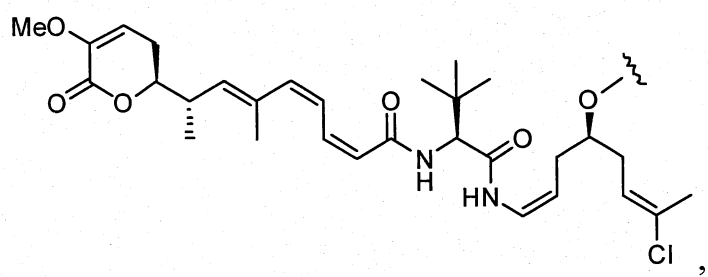
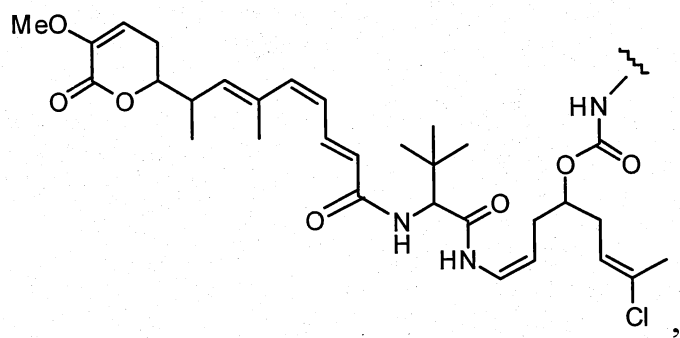
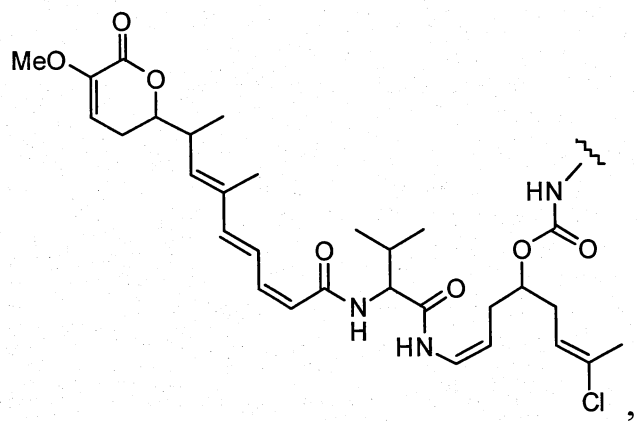
trong đó R_{22} là isopropyl, R_{23} là $-(CH_2)_3NHCONH_2$, trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải);

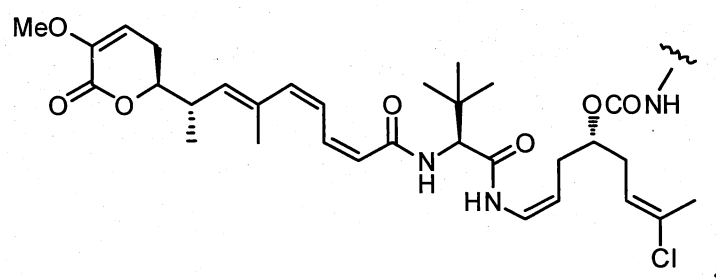
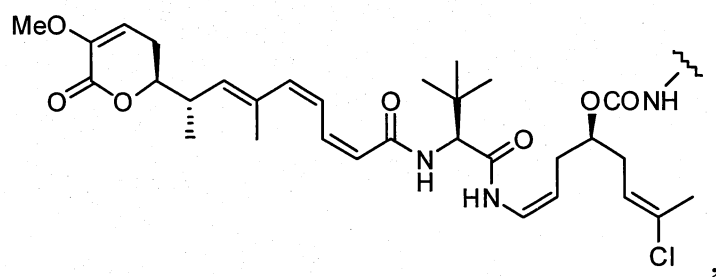
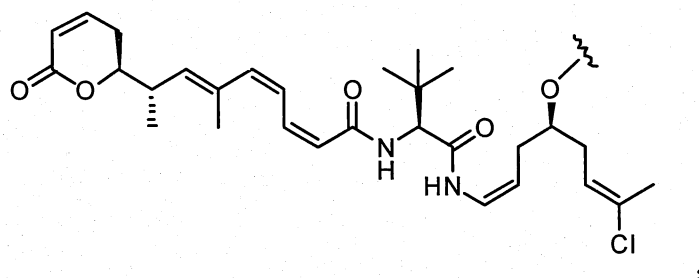
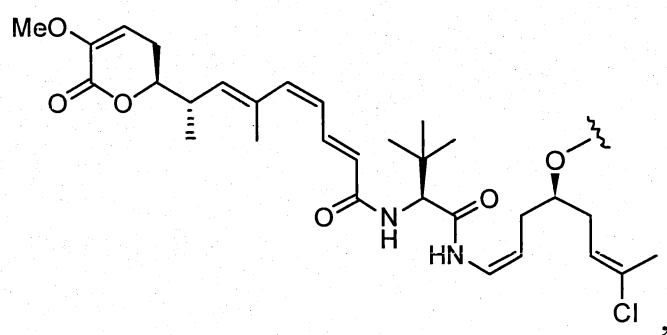
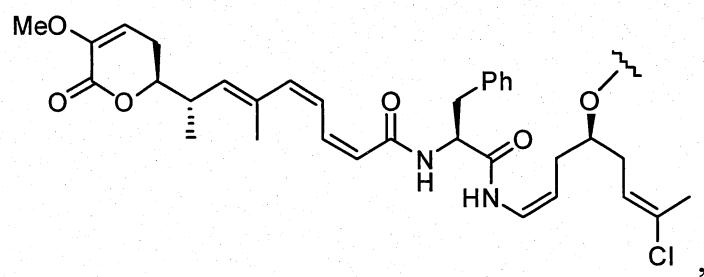
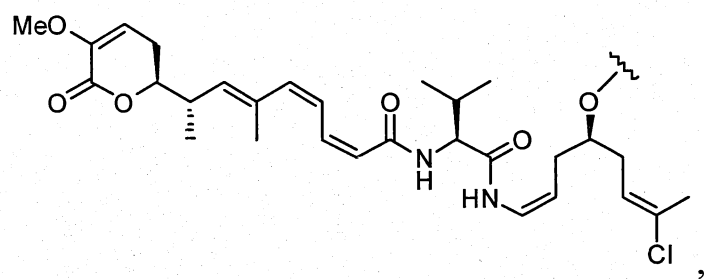
X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ nhóm bao gồm $-CONH-(C_2-C_4$ alkylen) $NH-$, $-COO-CH_2$ -phenylen- $NH-$, trong đó nhóm phenylen này có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, $-CONH-(C_2-C_4$ alkylen) $NH-COO-CH_2$ -(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)- $NH-$, $-COCH_2NH-COCH_2-NH-$, $-CONH-(C_2-C_4$ alkylen) $S-$, $-CONH-(C_2-C_4$ alkylen) $NHCO(C_1-C_3$ alkylen) $S-$, $-(C_2-C_4$ alkylen) $NHCO(C_1-C_3$ alkylen) $S-$, $-(C_2-C_4$ alkylen) $S-$, $-(C_2-C_4$ alkylen) $NH-$ và $-(C_2-C_4$ alkylen) $NH-COO-CH_2$ -(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)- $NH-$;

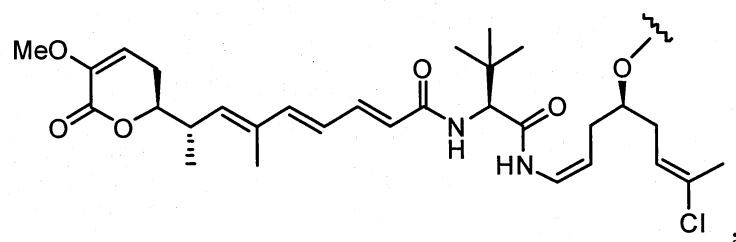
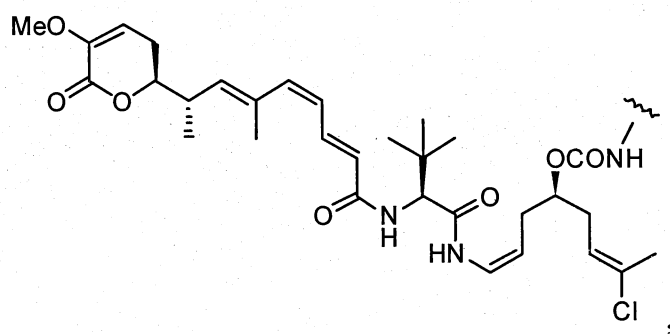
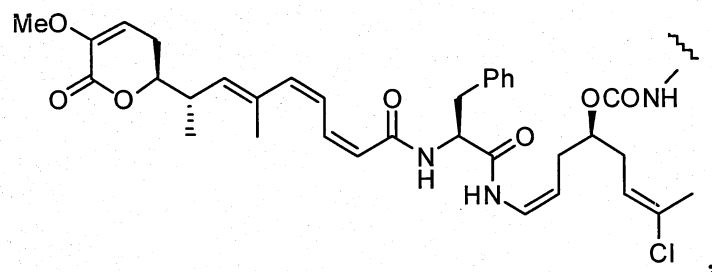
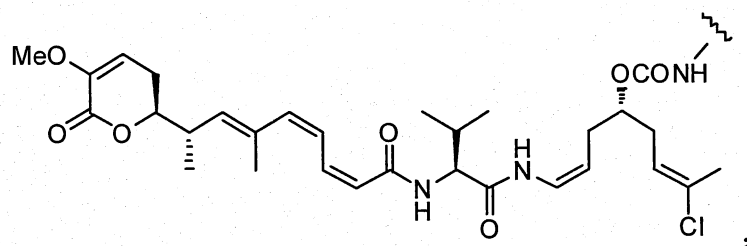
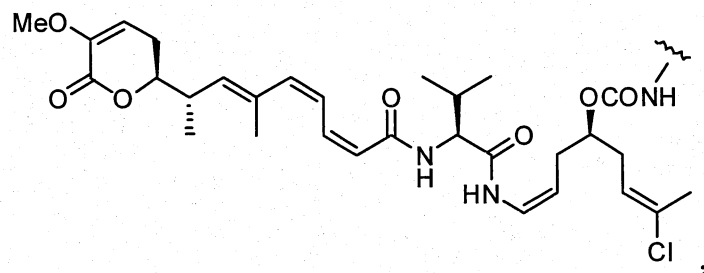
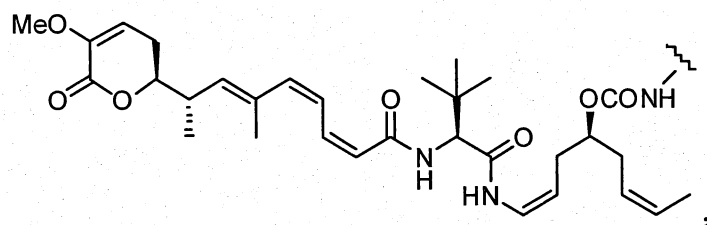
D là gốc dược chất có công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối dược dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗ biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng được chọn từ các gốc có các công thức sau:

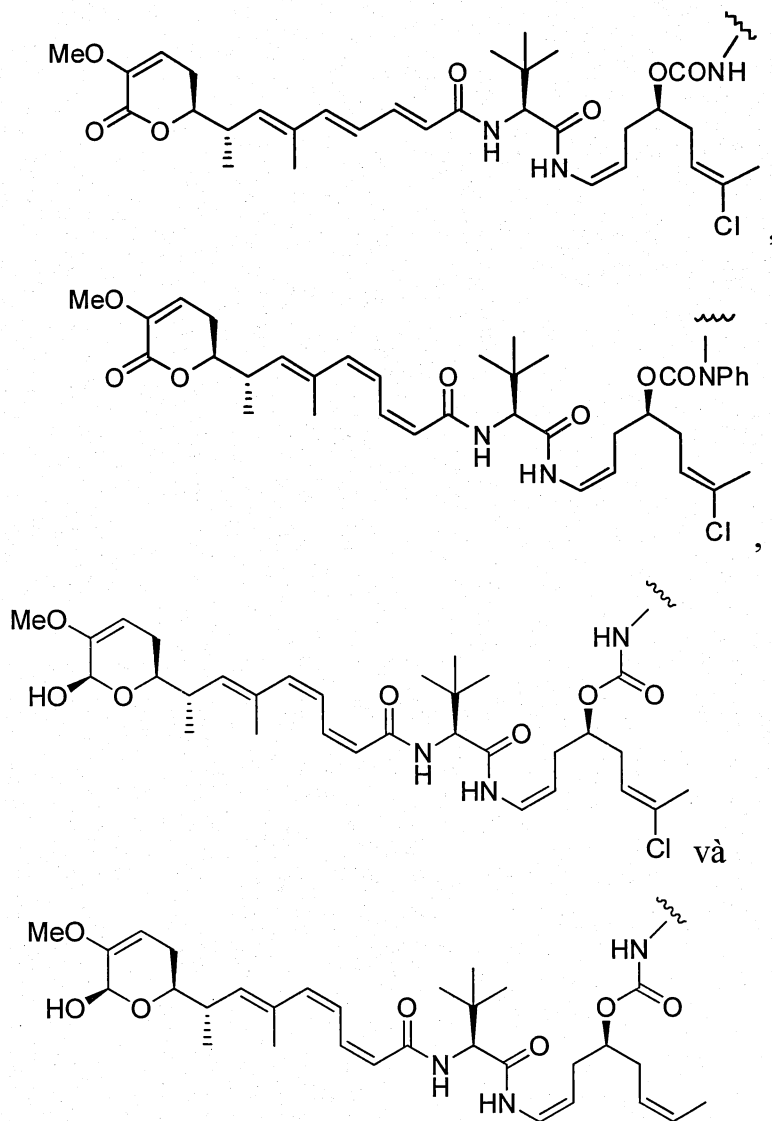


26474







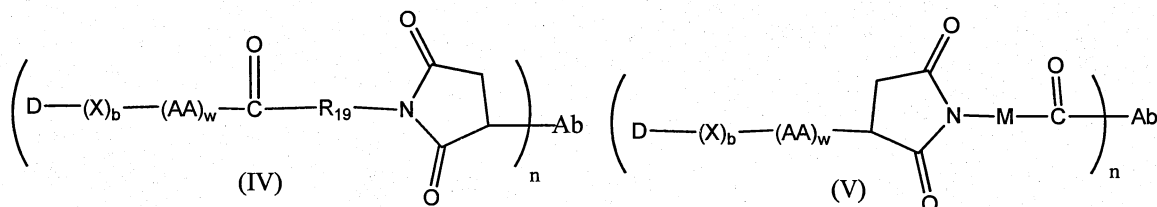


trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc $(AA)_w$ nếu có, hoặc nhóm liên kết L;

gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên được chọn từ Trastuzumab, Rituximab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5, và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, và tốt hơn nữa nếu nó được chọn từ Trastuzumab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, hoặc nó được chọn từ Trastuzumab, Rituximab và kháng thể kháng CD4 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, tốt hơn nếu Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó; hoặc nó được chọn từ kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, đặc biệt là kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó; và

n là tỷ lệ giữa nhóm $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]$ trong đó L là như được xác định trong các công thức (IV) hoặc công thức (V) với gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 3 đến 5.

(e) thể tiếp hợp được chất theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế được chọn từ các thể tiếp hợp có công thức (IV) và công thức (V):

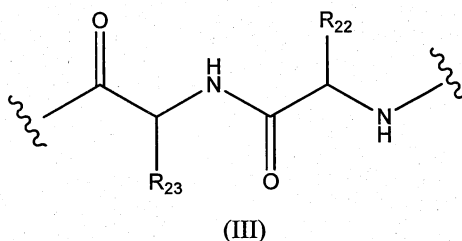


trong đó:

R_{19} là $-C_3-C_6$ alkylen-;

M là $-C_1-C_3$ alkylen- $(C_5-C_7$ carboxyclo)-;

w bằng 0 hoặc 2, và khi w bằng 2 thì $(AA)_w$ có công thức (III):

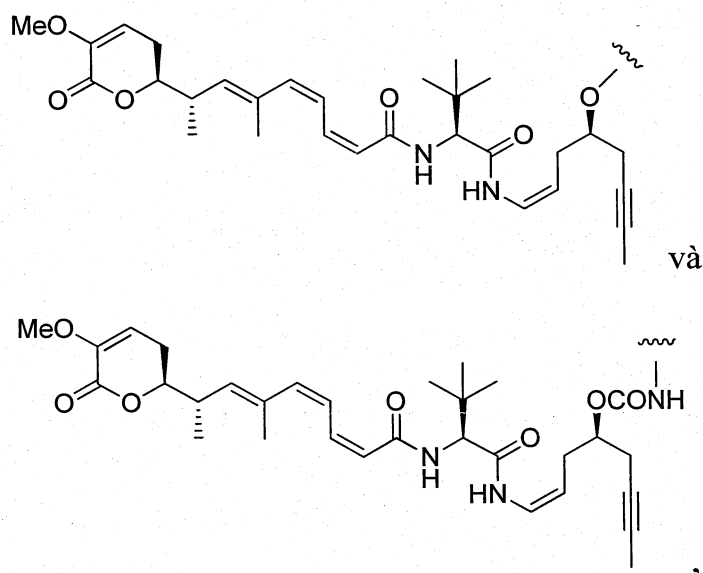


trong đó R_{22} là isopropyl, R_{23} là $-(CH_2)_3NHCONH_2$, và các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải);

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ nhóm bao gồm $-CONH-(C_2-C_4$ alkylen) $NH-$, $-COO-CH_2$ -phenylen- $NH-$, trong đó nhóm phenylen này có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, $-CONH-(C_2-C_4$ alkylen) $NH-COO-CH_2$ -(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)- $NH-$, $-COCH_2NH-COCH_2-NH-$, $-CONH-(C_2-C_4$ alkylen) $S-$, $-CONH-(C_2-C_4$ alkylen) $NHCO(C_1-C_3$ alkylen) $S-$, $-(C_2-C_4$ alkylen) $NHCO(C_1-$

C_3 alkylen)S-, $-(C_2-C_4$ alkylen)S-, $-(C_2-C_4$ alkylen)NH- và $-(C_2-C_4$ alkylen)NH-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)-NH-;

D là gốc dược chất có công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối dược dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng được chọn từ các gốc có công thức:

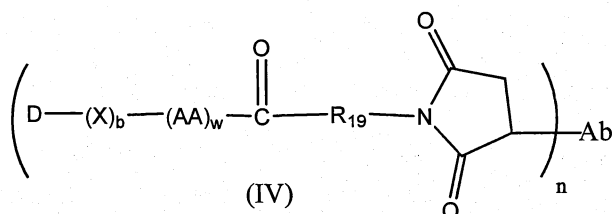


trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với (X)_b nếu có, hoặc (AA)_w nếu có, hoặc nhóm liên kết L;

gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên được chọn từ Trastuzumab, Rituximab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng; tốt hơn nữa nếu nó được chọn từ Trastuzumab, Rituximab và kháng thể kháng CD4 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, và tốt nhất nếu Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó; và

n là tỷ lệ giữa nhóm [D-(X)_b-(AA)_w-(L)-] trong đó L là như được xác định trong các công thức (IV) hoặc công thức (V) với gốc chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 3 đến 5.

(f) thể tiếp hợp dược chất theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế có công thức (IV):

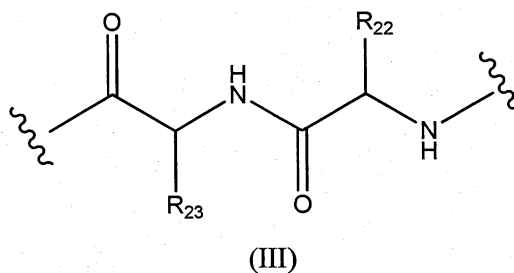


trong đó:

R_{19} là C_5 alkylen-;

b bằng 1;

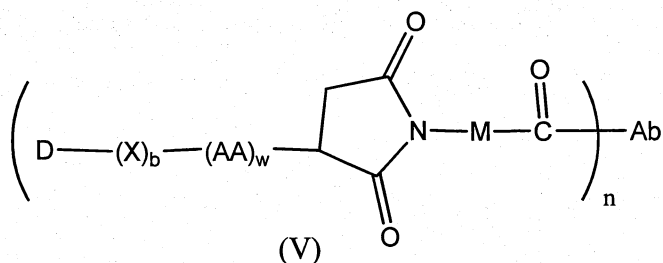
w bằng 0 hoặc 2, và khi w bằng 2 thì $(AA)_w$ có công thức (III):



trong đó R_{22} là isopropyl, R_{23} là $-(CH_2)_3NHCONH_2$, và các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải); và

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ $-CONH(CH_2)_3NHCOOCH_2$ -phenylen-NH-, và $-CONH(CH_2)_3NH$ -;

hoặc nhóm có công thức (V):



trong đó M là -metyl-xyclohexylen-;

b bằng 1;

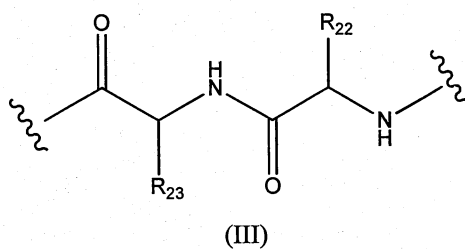
w bằng 0; và

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ $-CONH(CH_2)_3S-$ và $-CONH(CH_2)_3NHCO-(CH_2)_2S-$;

trong đó R_{19} là $-C_5$ alkylen-;

b bằng 1;

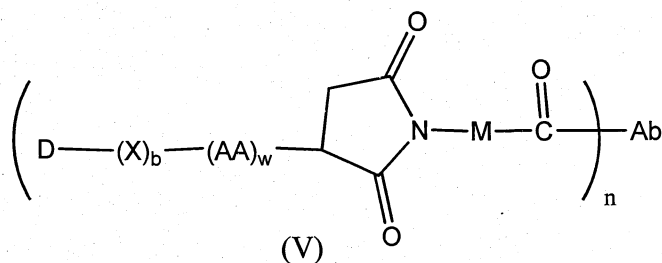
w bằng 0 hoặc 2, và khi w bằng 2 thì $(AA)_w$ có công thức (III):



trong đó R_{22} là isopropyl, R_{23} là $-(CH_2)_3NHCONH_2$, và các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải); và

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ $-(CH_2)_3NHCOOCH_2$ -phenylen-NH-, và $-(CH_2)_3NH$ -;

hoặc nhóm có công thức (V):



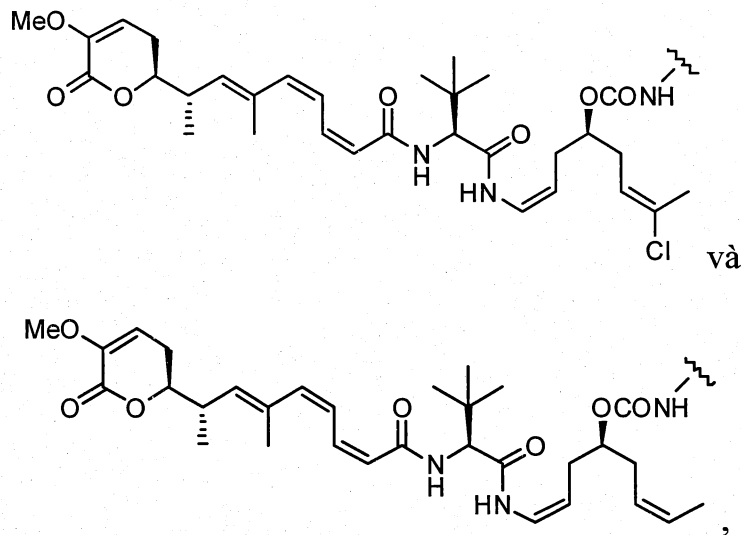
trong đó M là -metyl-xyclohexylen-;

b bằng 1;

w bằng 0; và

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ $-(CH_2)_3S$ - và $-(CH_2)_3NHCO(CH_2)_2S$ -;

D là gốc được chất có công thức (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn hợp hoặc chất đồng phân lập thể của nó được chọn từ các gốc có công thức:

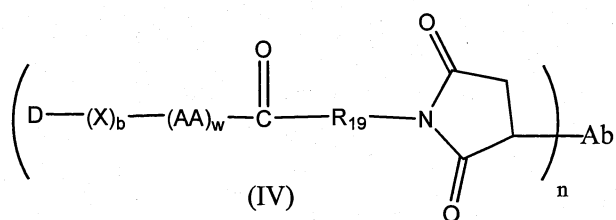


trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc $(AA)_w$ nếu có, hoặc nhóm liên kết L;

gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên được chọn từ Trastuzumab, Rituximab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5, và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng; và tốt hơn nữa nếu nó được chọn từ Trastuzumab, kháng thể kháng CD13, kháng thể kháng CD4, và kháng thể kháng CD5 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng; hoặc nó được chọn từ Trastuzumab, Rituximab và kháng thể kháng CD4, hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng; và tốt nhất nếu Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó; hoặc được chọn từ kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, đặc biệt là kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó; và

n là tỷ lệ giữa nhóm $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]$ trong đó L là như được xác định trong các công thức (IV) hoặc công thức (V) với gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 3 đến 5, và tốt hơn nếu bằng 4.

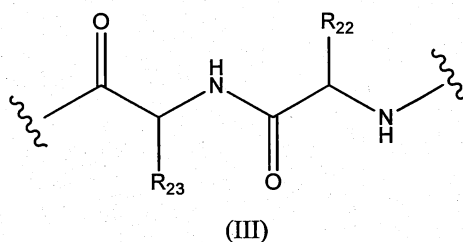
h) Thể tiếp hợp được chất theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế có công thức (IV):



trong đó R_{19} là $-C_5$ alkylen-;

b bằng 1;

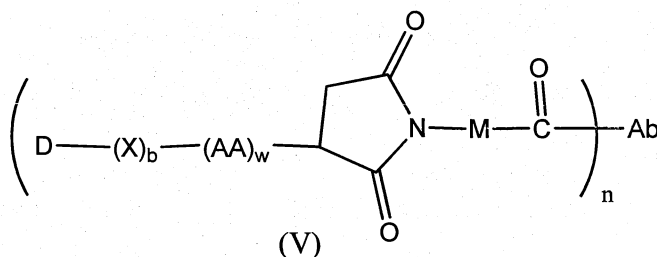
w bằng 0 hoặc 2, và trong đó w bằng 2, thì $(AA)_w$ có công thức (III):



Trong đó R_{22} là isopropyl, R_{23} là $-(CH_2)_3NHCONH_2$, và các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải); và

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ $-(CH_2)_3NHCOOCH_2$ -phenylen-NH-, và $-(CH_2)_3NH$;

hoặc có công thức V)



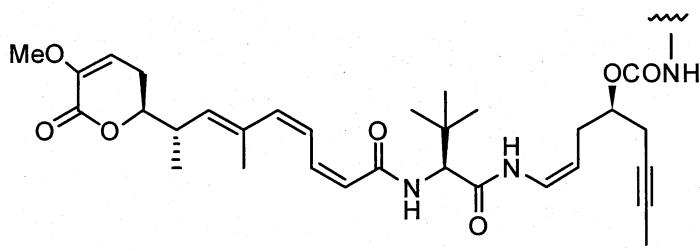
trong đó M là -metyl-xyclohexylen-;

b bằng 1;

w bằng 0; và

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ $-(CH_2)_3S$ - và $-(CH_2)_3NHCO(CH_2)_2S$ -;

D là gốc được chất có công thức:

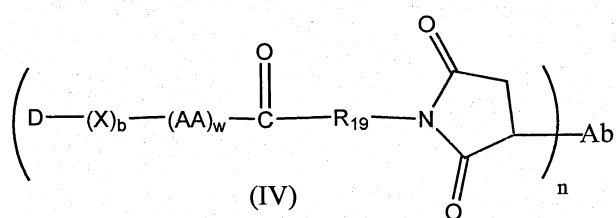


hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hổ biến hoặc chất đồng phân lập thể của nó, trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc $(AA)_w$ nếu có, hoặc nhóm liên kết L;

gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên được chọn từ Trastuzumab, Rituximab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5, và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng hoặc nó được chọn từ Trastuzumab, Rituximab và kháng thể kháng CD4, hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng; và tốt nhất nếu Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó; và

n là tỷ lệ giữa các nhóm $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]$ trong đó L là như được xác định trong các công thức (IV) hoặc công thức (V) với gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 3 đến 5, và tốt hơn nếu bằng 4.

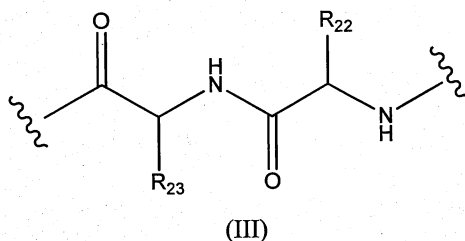
i) Thể tiếp hợp được chất theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế có công thức (IV):



trong đó R_{19} là $-C_5$ alkylen-;

b bằng 1;

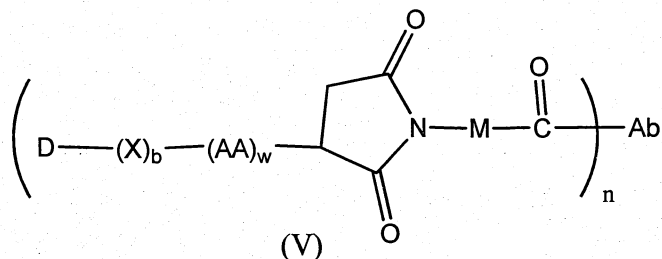
w bằng 0 hoặc 2, và trong đó w bằng 2, $(AA)_w$ có công thức (III):



Trong đó R_{22} là isopropyl, R_{23} là $-(CH_2)_3NHCONH_2$, và các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải); và

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ $-CONH(CH_2)_3NHCOOCH_2$ -phenylen-NH-, và $-CONH(CH_2)_3NH$ -;

hoặc nhóm có công thức (V):



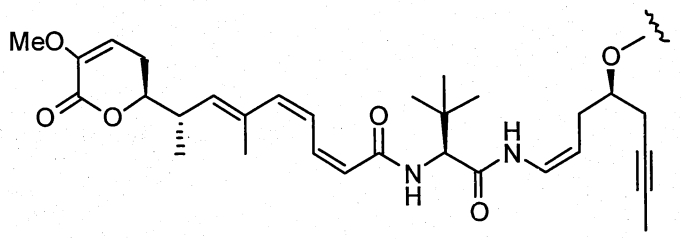
trong đó M là -metyl-xyclohexylen-;

b bằng 1;

w bằng 0; và

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ $-\text{CONH}(\text{CH}_2)_3\text{S}-$ và $-\text{CONH}(\text{CH}_2)_3\text{NHCO}(-\text{CH}_2)_2\text{S}-$;

D là gốc dược chất có công thức:



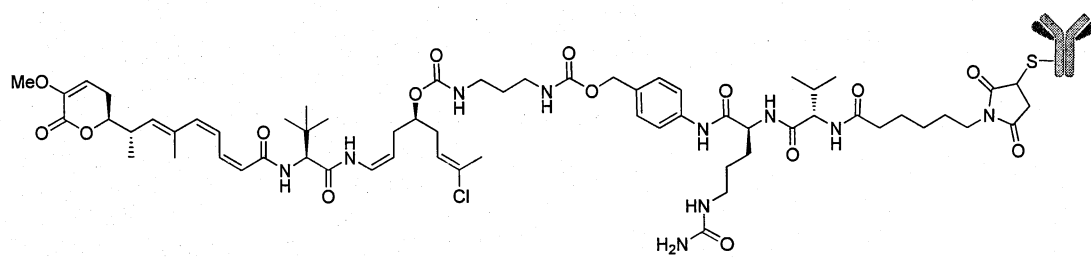
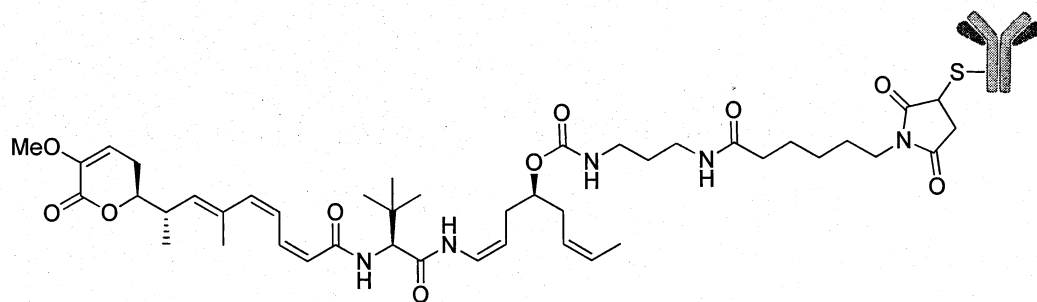
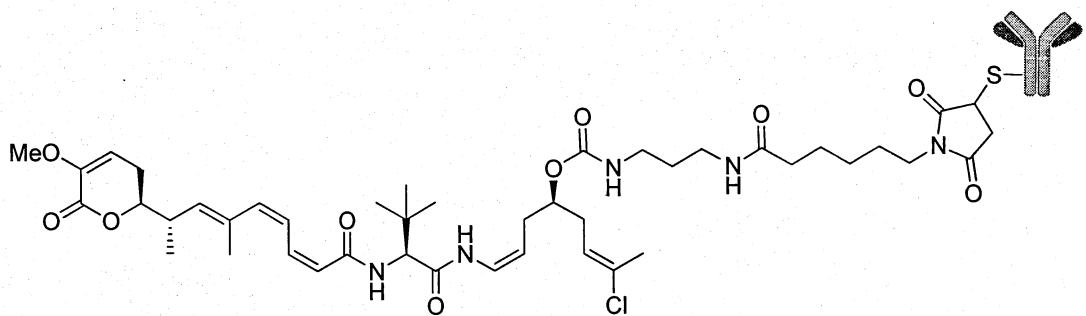
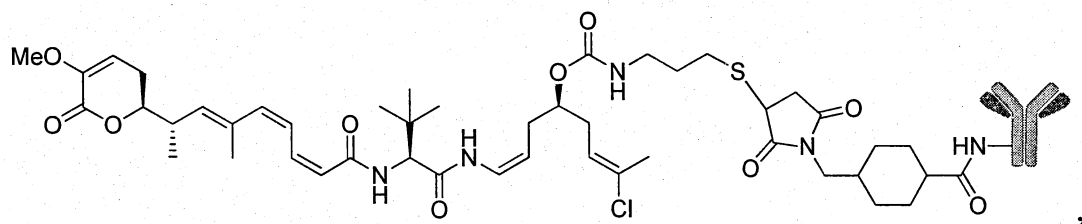
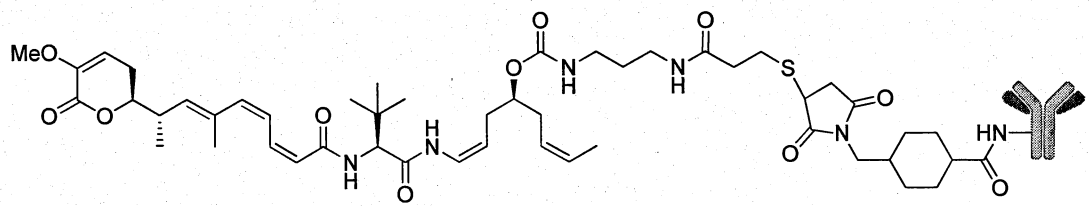
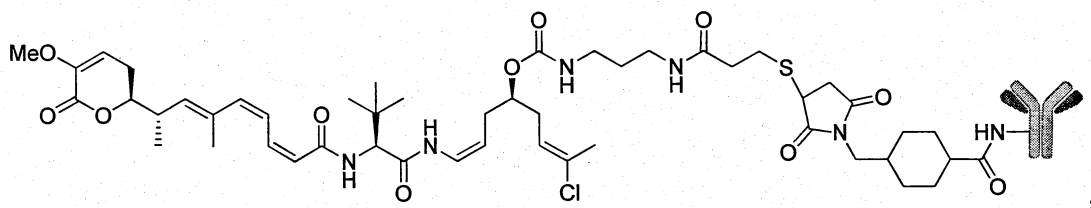
hoặc muối dược dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn hợp hoặc chất đồng phân lập thể của nó,

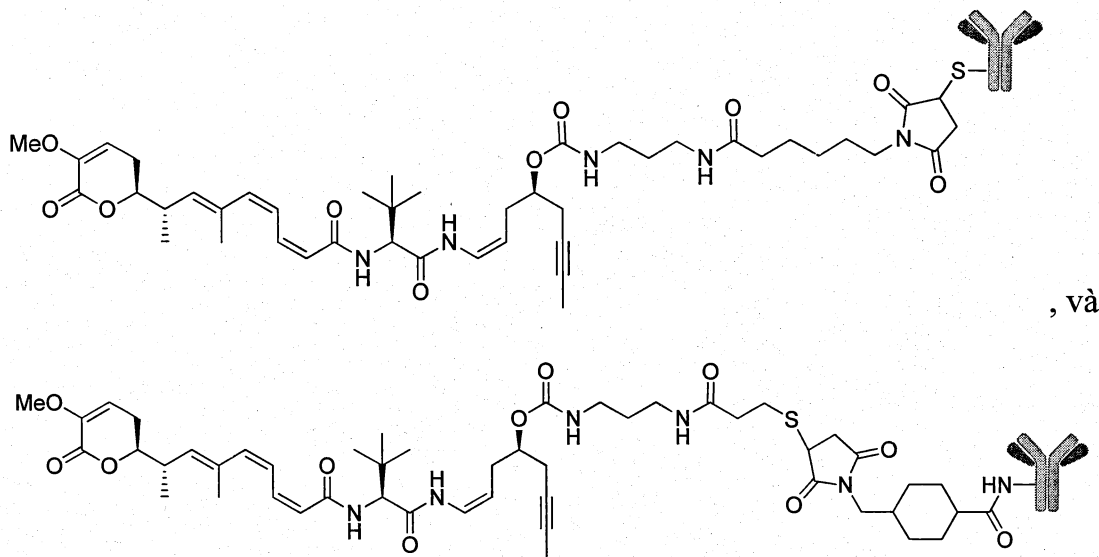
trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc $(AA)_w$ nếu có, hoặc nhóm liên kết L;

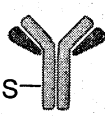
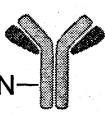
gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên được chọn từ Trastuzumab, Rituximab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5, và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng hoặc nó được chọn từ Trastuzumab, Rituximab và kháng thể kháng CD4, hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng; và tốt hơn nữa nếu nó được chọn từ Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó; và

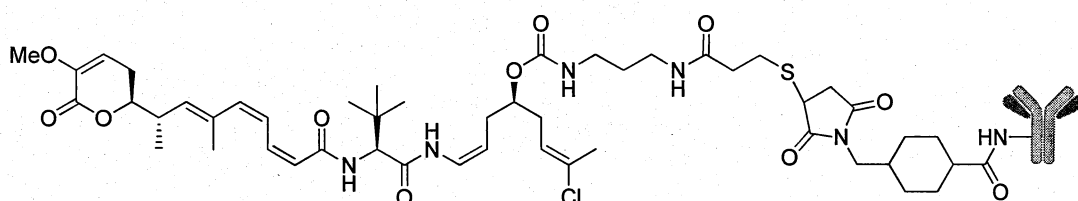
n là tỷ lệ giữa các nhóm $[\text{D}-(X)_b-(AA)_w-(L)-]$ trong đó L là như được xác định trong các công thức (IV) hoặc công thức (V) với gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 3 đến 5, và tốt hơn nếu bằng 4.

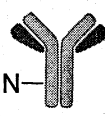
j) thể tiếp hợp dược chất-kháng thể theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế, được chọn từ nhóm bao gồm các thể tiếp hợp có công thức:

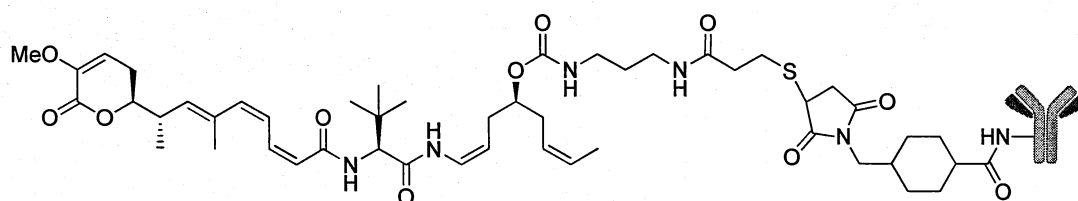




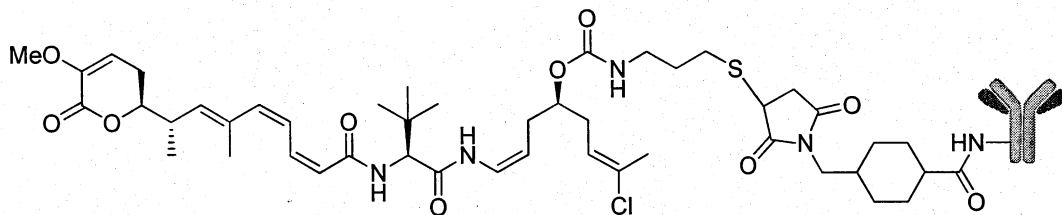
trong đó mỗi  và  được chọn từ Trastuzumab, Rituximab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, tốt hơn nếu Trastuzumab, Rituximab và kháng thể kháng CD4 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, và tốt nhất nếu Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó; hoặc theo cách khác, kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, và tốt nhất nếu là kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó. Tốt hơn nữa nếu thể tiếp hợp được chất-kháng thể này được chọn từ nhóm bao gồm:



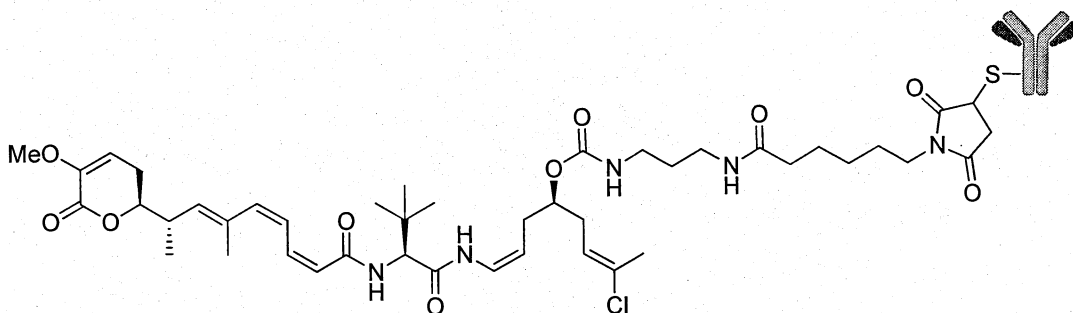
trong đó  được chọn từ Trastuzumab và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, tốt hơn nếu Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó; hoặc tốt hơn nếu kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng,



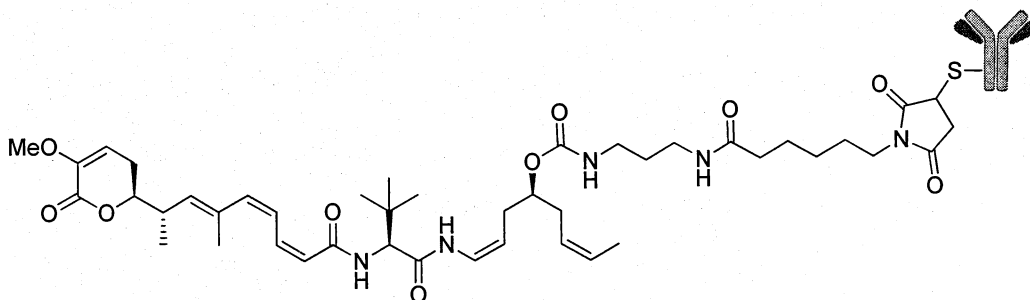
trong đó  là Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng,



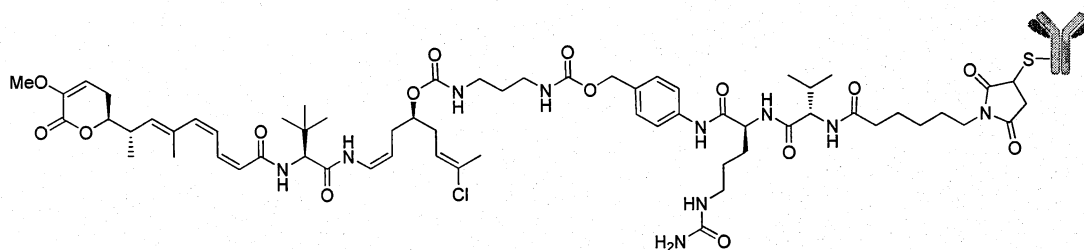
trong đó  là Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng,



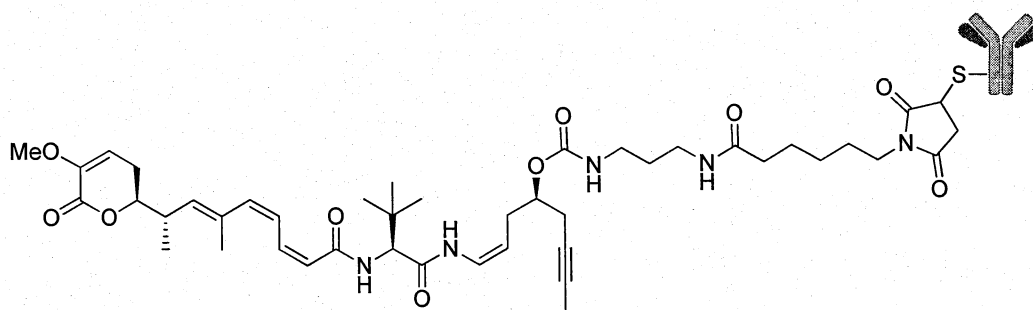
trong đó  được chọn từ Trastuzumab, Rituximab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, tốt hơn nếu Trastuzumab, Rituximab và kháng thể kháng CD4 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, và tốt nhất nếu Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó; hoặc theo cách khác, kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13, hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, và tốt nhất nếu kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng,



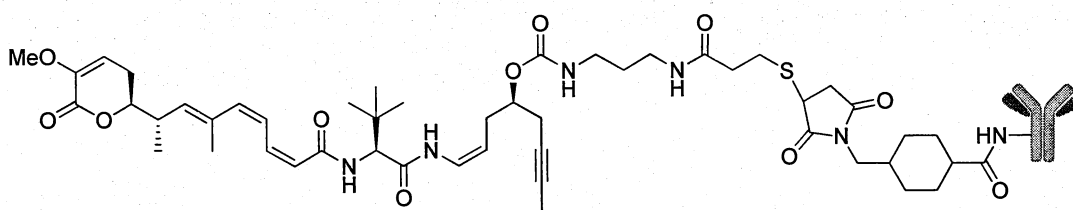
trong đó  là Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng,

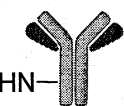


trong đó  được chọn từ Trastuzumab, Rituximab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5, và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, tốt hơn nếu Trastuzumab, Rituximab và kháng thể kháng CD4 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, và tốt nhất nếu Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó; hoặc theo cách khác, kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, và tốt nhất nếu kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng,



trong đó  là Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, và



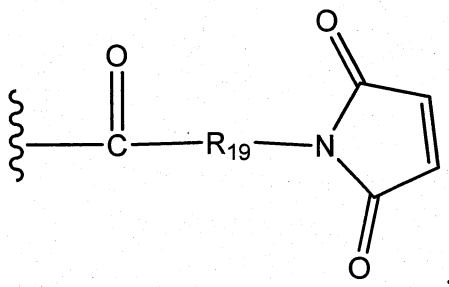
trong đó  là Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó.

Đặc biệt tốt hơn nếu thể tiếp hợp được chất-kháng thể này theo sáng chế ở dạng đã được phân lập hoặc tinh chế.

Tốt hơn nếu các hợp chất có công thức $D-X-(AA)_w-(L_1)_b$ theo khía cạnh thứ hai của sáng chế bao gồm:

hợp chất có công thức $D-X-(AA)_w-L_1$ hoặc công thức $D-X-(AA)_w-H$ theo khía cạnh thứ hai của sáng chế trong đó:

L_1 là nhóm liên kết có công thức:



trong đó:

đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(AA)_w$ nếu có, hoặc với X;

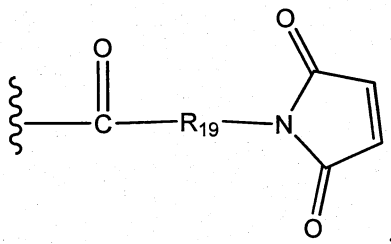
R_{19} được chọn từ $-C_1-C_{12}$ alkylen-, $-O-(C_1-C_{12}$ alkylen), $-C_6-C_{12}$ arylen trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_1-C_{12}$ alkylen- $-C_6-C_{12}$ arylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_6-C_{12}$ arylen- $-C_1-C_{12}$ alkylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_5-C_{12}$ heteroxyclo-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm không no hoặc no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_1-C_{12}$ alkylen- $(C_5-C_{12}$ heteroxyclo)-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm không no hoặc no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-(C_5-C_{12}$ heteroxyclo)- $-C_1-C_{12}$ alkylen-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm không no hoặc no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-(OCH_2CH_2)_r-$ và $-CH_2-(OCH_2CH_2)_r-$, trong đó mỗi phần tử thế trong số các phần tử thế alkylen nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào gốc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

r là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 6; và

mỗi D, X, AA và w là như được xác định theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế.

hợp chất có công thức $D-X-(AA)_w-L_1$ hoặc công thức $D-X-(AA)_w-H$ theo khía cạnh thứ hai của sáng chế trong đó:

L_1 là nhóm liên kết có công thức:

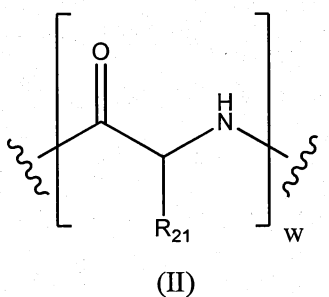


trong đó:

đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(AA)_w$ nếu có, hoặc với X;

R_{19} được chọn từ $-C_1-C_8$ alkyl-, $-O-(C_1-C_8$ alkyl-), $-C_1-C_8$ alkyl- C_6-C_{12} aryl-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phân tử thế R_x , $-C_6-C_{12}$ aryl- C_1-C_8 alkyl-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phân tử thế R_x , trong đó mỗi phân tử thế trong số các phân tử thế alkylen nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào gốc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phân tử thế R_x ;

$(AA)_w$ có công thức (II):

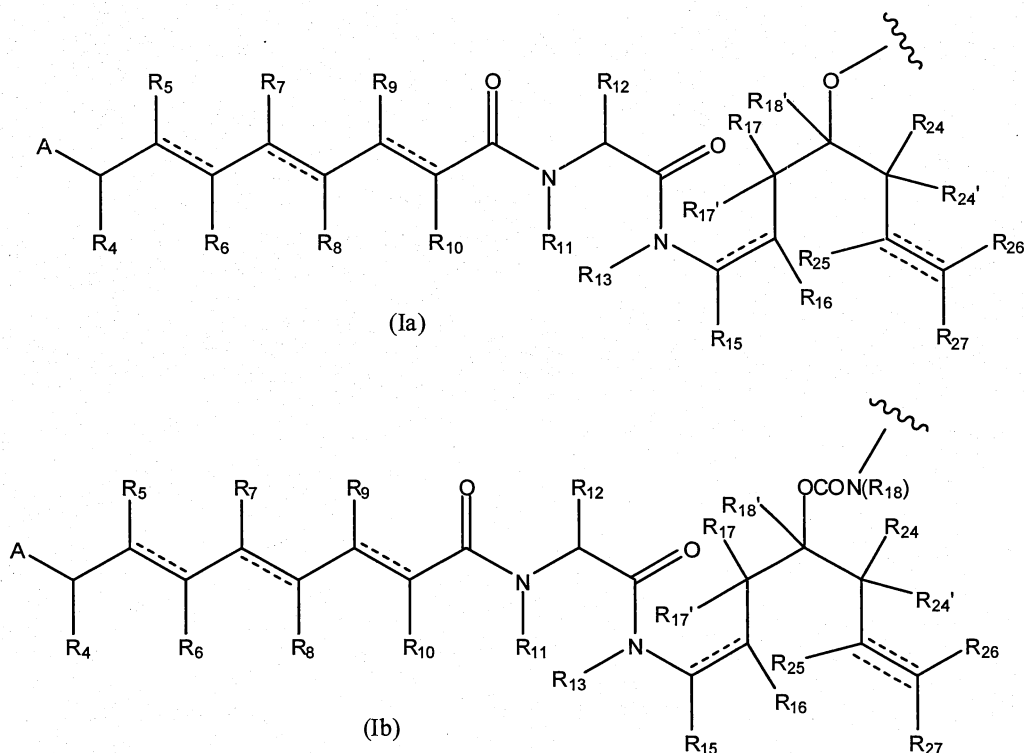


trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với X (đường lượn sóng sang trái) và với L_1 hoặc với nguyên tử hydro (đường lượn sóng sang phải);

trong đó R_{21} được chọn, mỗi khi có mặt, từ nhóm bao gồm hydro, methyl, isopropyl, *sec*-butyl, benzyl, indolylmethyl, $-(CH_2)_3NHCONH_2$, $-(CH_2)_4NH_2$, $-(CH_2)_3NH-C(=NH)NH_2$ và $-(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$, và w là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 6;

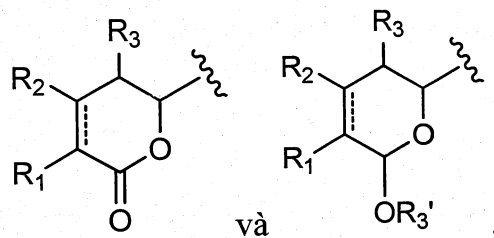
X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CONH}-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NH}-$, $-\text{COO}-\text{CH}_2\text{-phenylen-NH-}$, trong đó nhóm phenylen này có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, $-\text{CONH}-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NH- COO}-\text{CH}_2\text{-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế } \text{R}_x \text{ được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)-NH-}$, $-\text{COCH}_2\text{NH-COCH}_2\text{-NH-}$, $-\text{CONH}-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{S-}$, $-\text{CONH}-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{-NHCO}(\text{C}_1-\text{C}_3 \text{ alkylen})\text{S-}$, $-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NHCO}(\text{C}_1-\text{C}_3 \text{ alkylen})\text{S-}$, $-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{S-}$, $-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NH-}$ và $-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NH-COO}-\text{CH}_2\text{-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế } \text{R}_x \text{ được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)-NH-}$; và

D là gốc dược chất có công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối dược dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn hợp hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó:



trong đó các đường lượn sóng của gốc dược chất có công thức (Ia) và công thức (Ib) thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với X;

A được chọn từ các gốc có công thức:



trong đó các đường lượn sóng của gốc A thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với phần còn lại của gốc được chất;

R_1 được chọn từ hydro, OR_a và $OCOR_a$, trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_2 và R_3 độc lập được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_3 được chọn từ hydro, COR_a , và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó R_a là C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} và R_{12} độc lập được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế và không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_{11} và R_{13} độc lập được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, $R_{18'}$, R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} và R_{26} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm:

hydro và nhóm C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế trong đó các phần tử thế tùy ý này được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm hydroxyl, nhóm oxo, nguyên tử halogen, $OCOR_y$, $OCOOR_y$, COR_y , $COOR_y$, $OCONR_yR_z$, $CONR_yR_z$, NR_yR_z , NR_yCOR_z trong đó mỗi R_y và R_z được chọn từ nguyên tử hydro và nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon.

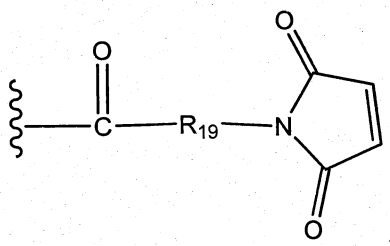
R_{18} được chọn từ hydro, nhóm C_1-C_6 alkyl có thể tùy ý được thế bằng ít nhất một nhóm R_x , và nhóm phenyl tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_{27} được chọn từ hydro, halogen và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

và mỗi đường chấm chấm thể hiện liên kết bổ sung tùy ý, nhưng khi liên kết ba có mặt giữa nguyên tử C liên kết với R_{25} và nguyên tử C liên kết với R_{26} và R_{27} , thì R_{25} và R_{26} hoặc R_{27} là không có mặt.

hợp chất có công thức $D-X-(AA)_w-L_1$ hoặc công thức $D-X-(AA)_w-H$ theo khía cạnh thứ hai của sáng chế trong đó:

L_1 là nhóm có công thức:

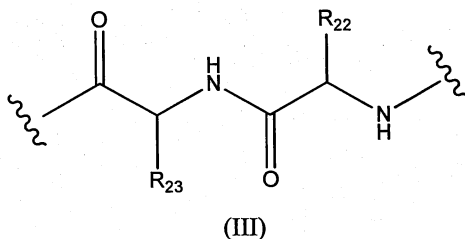


trong đó:

đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(AA)_w$ nếu có, hoặc với X;

R_{19} được chọn từ $-C_1$ - C_6 alkylen-, phenylen- C_1 - C_6 alkylen-, trong đó nhóm phenylen này có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, trong đó mỗi phần tử thế trong số các phần tử thế alkylen nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào gốc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm aryl có từ 6 đến 12 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, và tốt hơn nếu R_{19} là nhóm C_1 - C_6 alkylen;

w bằng 0 hoặc 2, và khi w bằng 2 thì $(AA)_w$ có công thức (III):



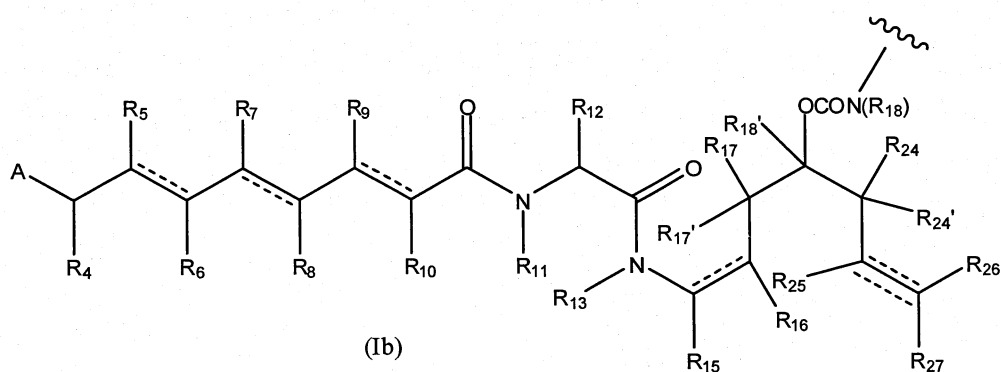
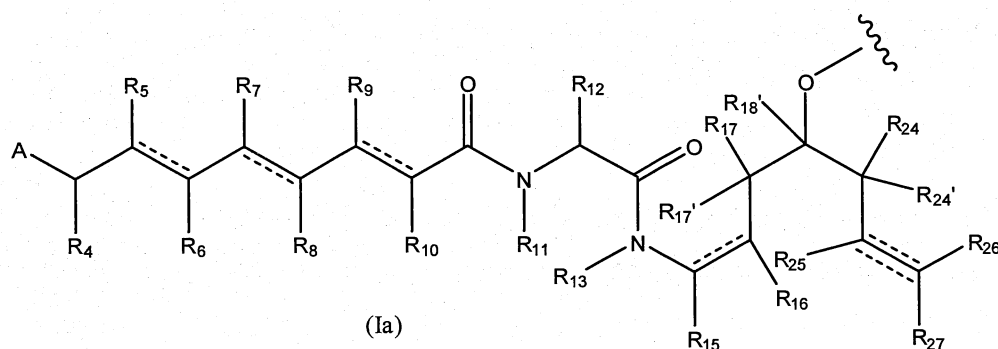
trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với X (đường lượn sóng sang trái) và với L_1 hoặc với nguyên tử hydro (đường lượn sóng sang phải);

R_{22} được chọn từ methyl, benzyl, isopropyl, *sec-butyl* và indolylmethyl;

R_{23} được chọn từ methyl, $-(CH_2)_4NH_2$, $-(CH_2)_3NHCONH_2$ và $(CH_2)_3NHC(=NH)-NH_2$;

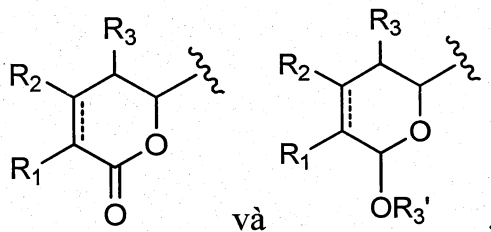
X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ $-CONH-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NH-$, $-CONH(C_2-C_4 \text{ alkylen})NHCOO-CH_2-(\text{phenylen có thể tùy ý được thể bằng một hoặc nhiều phần tử thể } R_x \text{ được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano})-$ NH, $-CONH-(C_2-C_4 \text{ alkylen})S-$, $-CONH-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NHCO-(C_1-C_3 \text{ alkylen})S-$, $-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NHCO(C_1-C_3 \text{ alkylen})S-$, $-(C_2-C_4 \text{ alkylen})S-$, $-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NH-$ và $-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NH- COO-CH_2-(\text{phenylen có thể tùy ý được thể bằng một đến bốn phần tử thể } R_x \text{ được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano})-NH-$; và

D là gốc dược chất có công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối dược dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng:



trong đó các đường lượn sóng của gốc dược chất có công thức (Ia) và công thức (Ib) thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với X;

A được chọn từ các gốc có công thức



trong đó các đường lượn sóng của gốc A thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với phần còn lại của gốc được chất;

R_1 là hydro hoặc metoxy;

mỗi R_2 và R_3 là hydro;

$R_{3'}$ là hydro;

mỗi R_5 , R_7 , R_8 , R_9 và R_{10} là hydro;

mỗi R_4 và R_6 là methyl;

R_{12} là isopropyl, tert-butyl hoặc benzyl;

mỗi R_{11} và R_{13} là hydro;

mỗi R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, $R_{18'}$, R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} và R_{26} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro và nhóm C_1 - C_6 alkyl, tốt hơn nếu hydro và methyl;

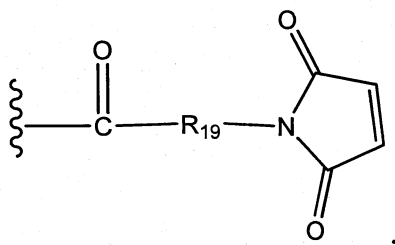
R_{18} được chọn từ hydro và phenyl, và tốt hơn nếu hydro;

R_{27} là hydro hoặc halogen;

và mỗi đường chấm chấm thể hiện liên kết bổ sung tùy ý, nhưng khi liên kết ba có mặt giữa nguyên tử C liên kết với R_{25} và nguyên tử C liên kết với R_{26} và R_{27} , thì R_{25} và R_{26} hoặc R_{27} là không có mặt.

hợp chất có công thức $D-X-(AA)_w-L_1$ hoặc công thức $D-X-(AA)_w-H$ theo khía cạnh thứ hai của sáng chế trong đó:

L_1 là nhóm liên kết có công thức:

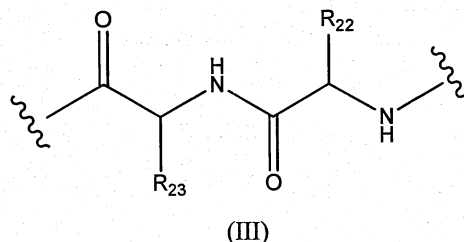


trong đó:

đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(AA)_w$ nếu có, hoặc với X;

R_{19} là $-C_3-C_6$ alkylen-;

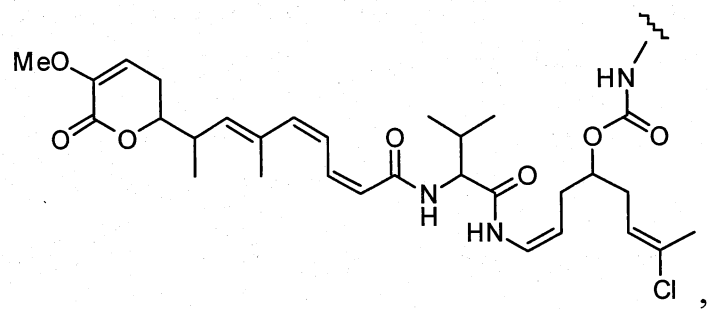
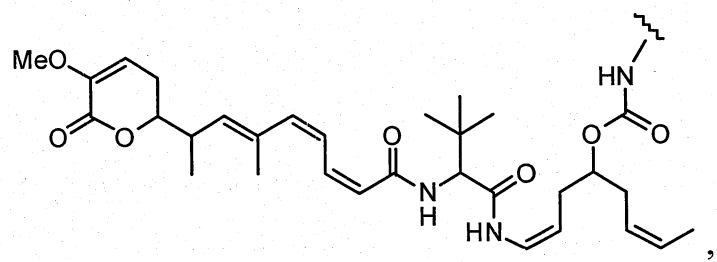
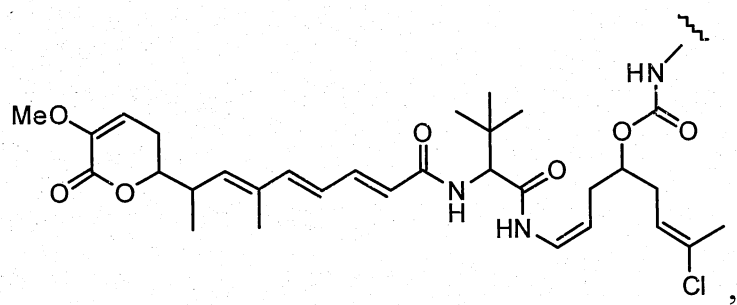
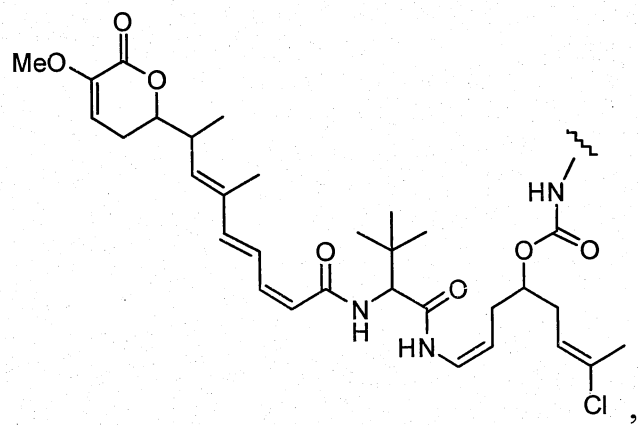
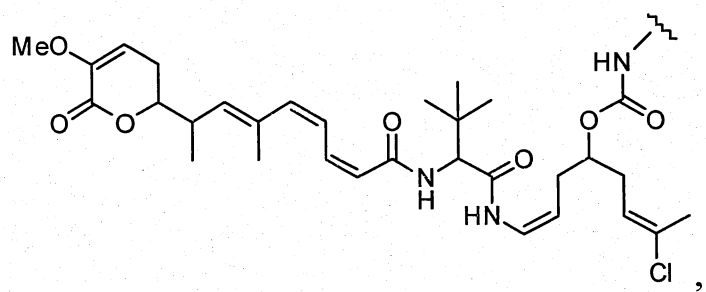
w bằng 0 hoặc 2, và khi w bằng 2 thì $(AA)_w$ có công thức (III):



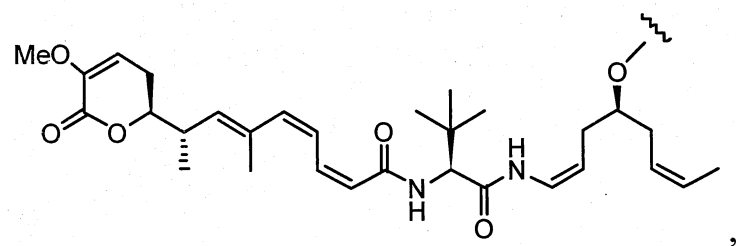
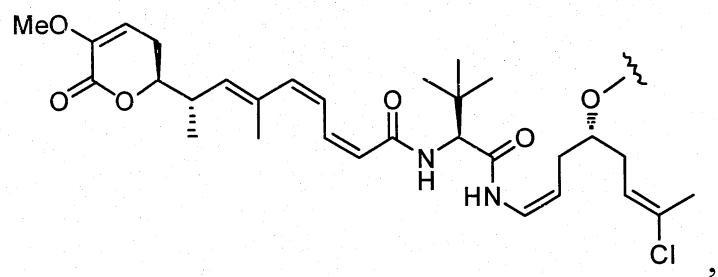
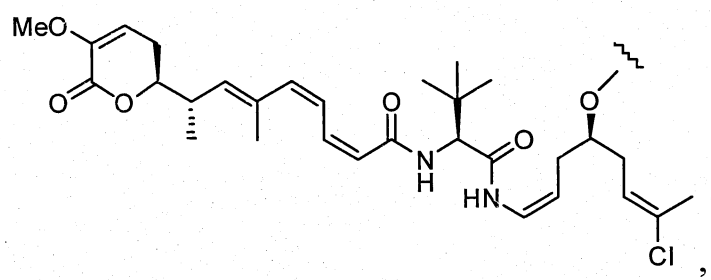
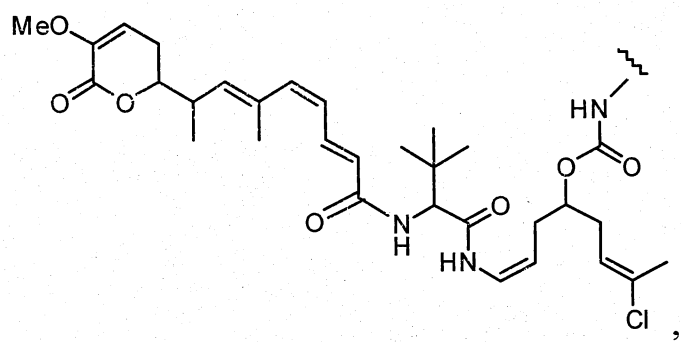
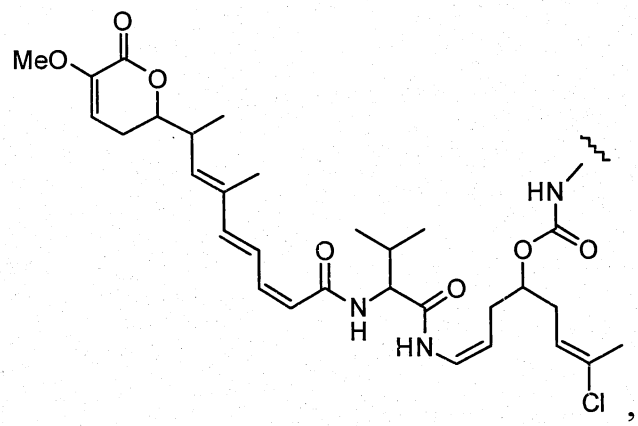
R_{22} là isopropyl, R_{23} là $-(CH_2)_3NHCONH_2$, trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với X (đường lượn sóng sang trái) và với L_1 hoặc với nguyên tử hydro (đường lượn sóng sang phải);

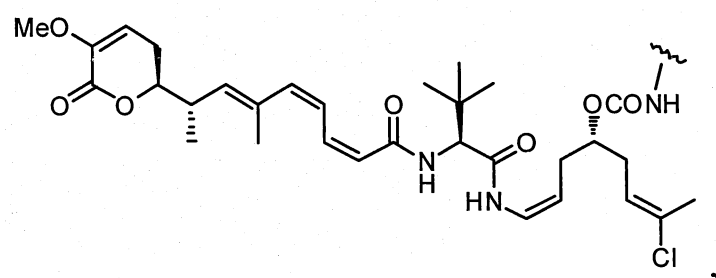
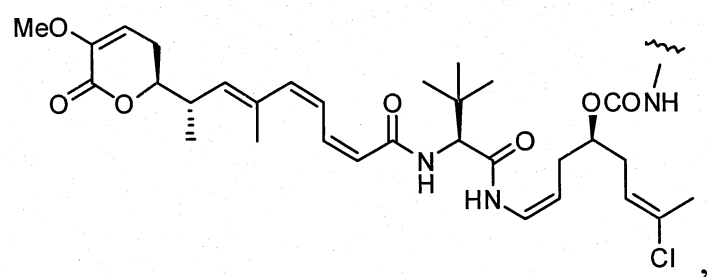
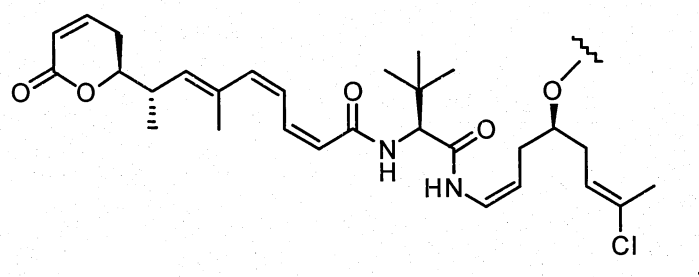
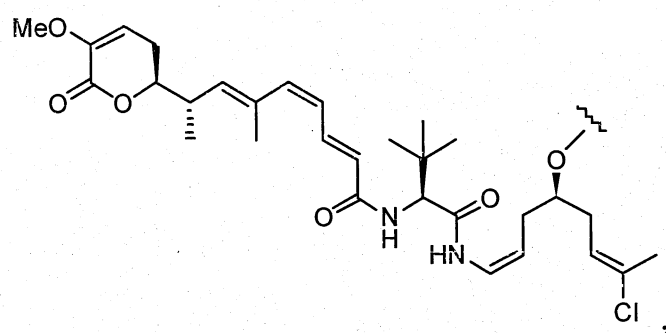
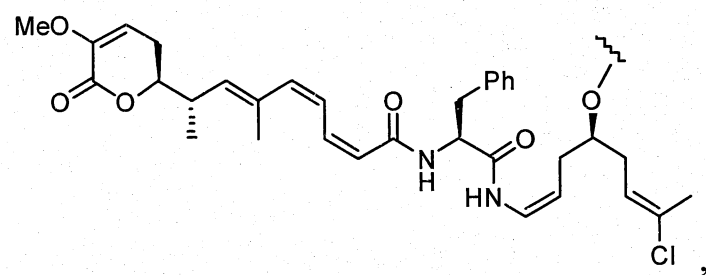
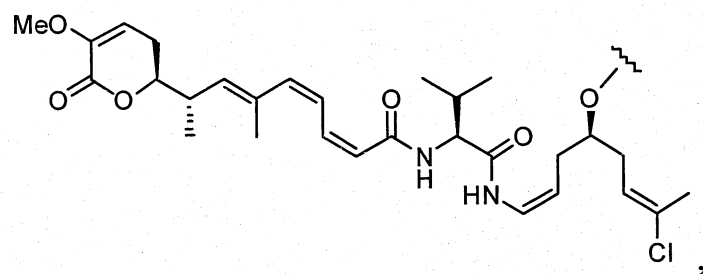
X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ nhóm bao gồm $-CONH-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NH-$, $-COO-CH_2\text{-phenylen-NH-}$, trong đó nhóm phenylen này có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, $-CONH-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NH-COO-CH_2\text{-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế } R_x \text{ được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)-NH-}$, $-CONH-(C_2-C_4 \text{ alkylen})S-$, $-CONH-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NHCO(C_1-C_3 \text{ alkylen})S-$, $-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NHCO(C_1-C_3 \text{ alkylen})S-$, $-(C_2-C_4 \text{ alkylen})S-$, $-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NH-$ và $-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NH-COO-CH_2\text{-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế } R_x \text{ được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)-NH-}$; và

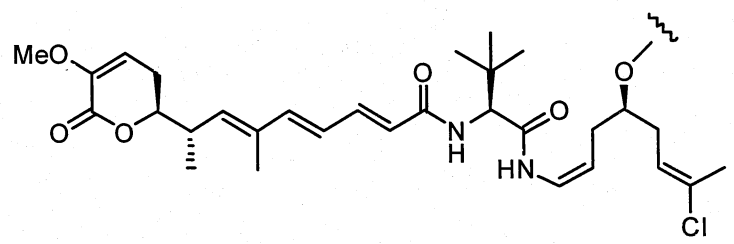
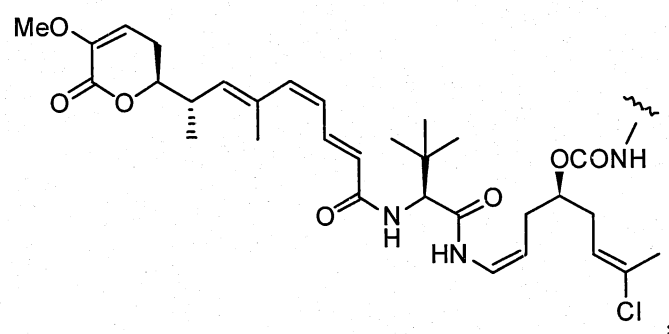
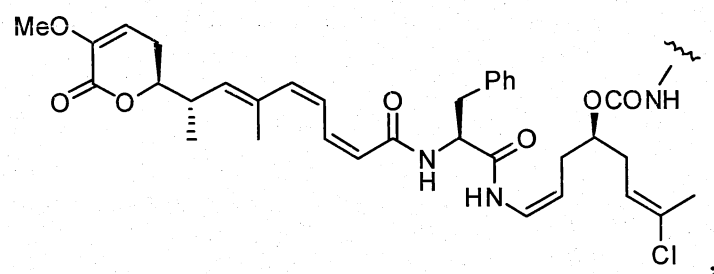
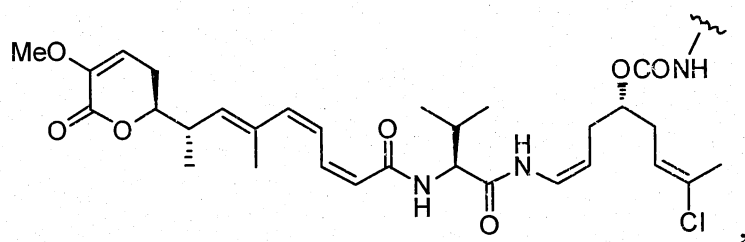
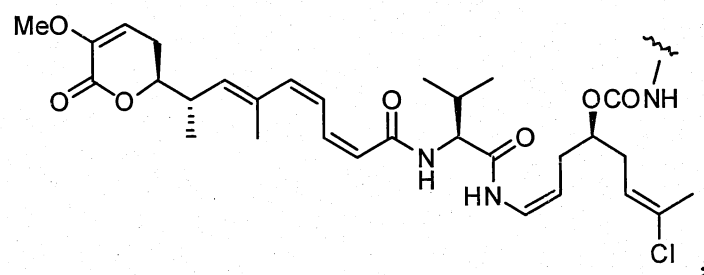
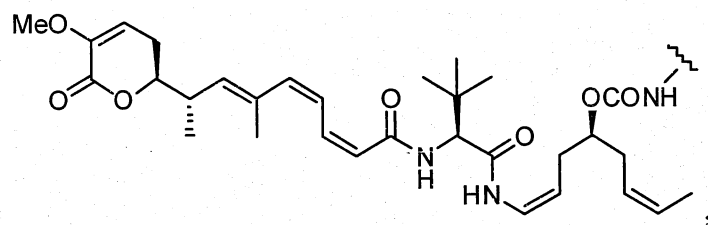
D là gốc dược chất có công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối dược dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn hợp hoặc chất đồng phân lập thể của chúng được chọn từ gốc có các công thức sau:

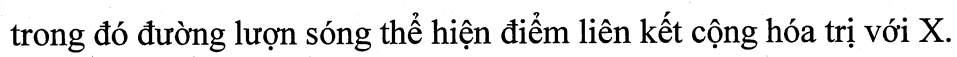


26474



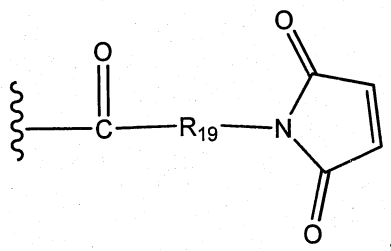






hợp chất có công thức $D-X-(AA)_w-L_1$ hoặc công thức $D-X-(AA)_w-H$ theo khía cạnh thứ hai của sáng chế trong đó:

L_1 là nhóm có công thức:

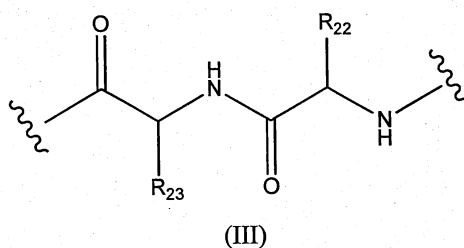


trong đó:

đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(AA)_w$ nếu có, hoặc với X;

R_{19} là $-C_5$ alkylen-;

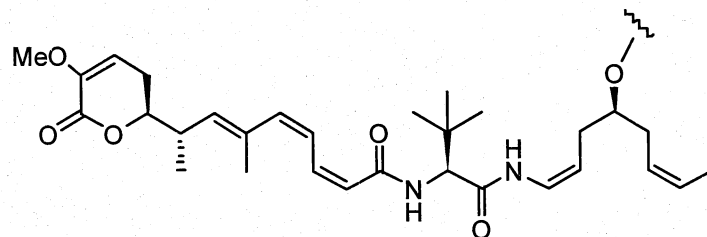
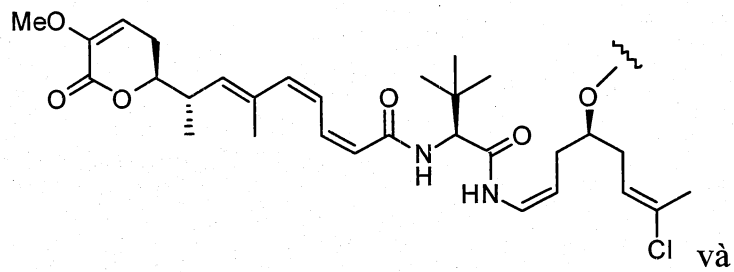
w bằng 0 hoặc 2, và khi w bằng 2 thì $(AA)_w$ có công thức (III):



trong đó R_{22} là isopropyl, R_{23} là $-(CH_2)_3NHCONH_2$, trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với X (đường lượn sóng sang trái) và với L_1 hoặc với nguyên tử hydro (đường lượn sóng sang phải);

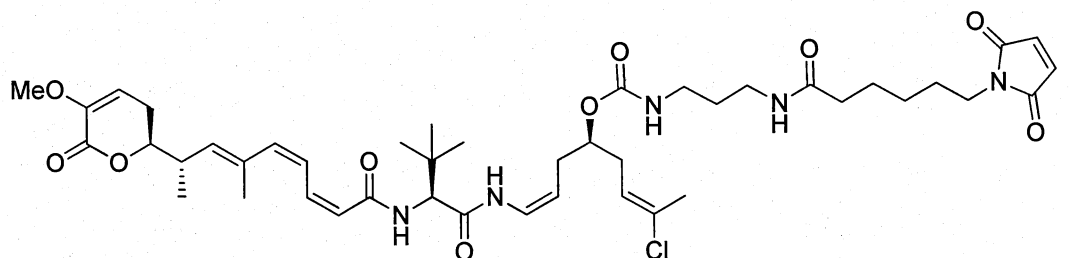
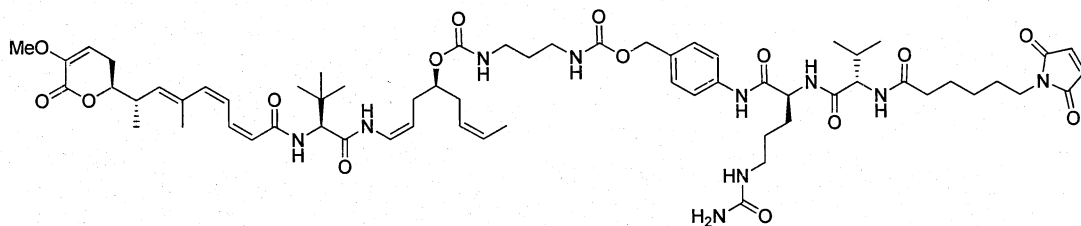
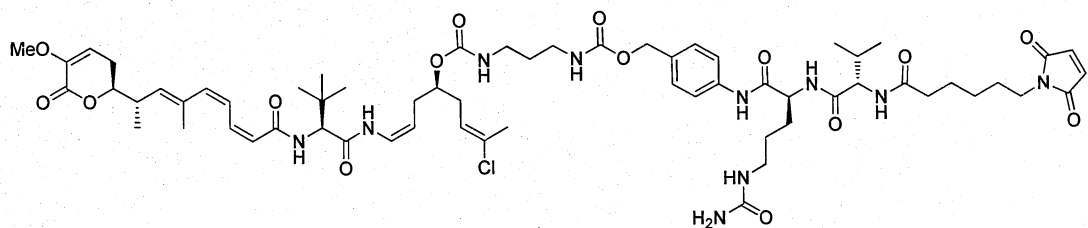
X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ $-CONH(CH_2)_3NHCOOCH_2$ -phenylen- $NH-$, và $-CONH(CH_2)_3NH-$, $-CONH(CH_2)_3-S-$ và $-CONH(CH_2)_3NHCO(CH_2)_2S-$; và

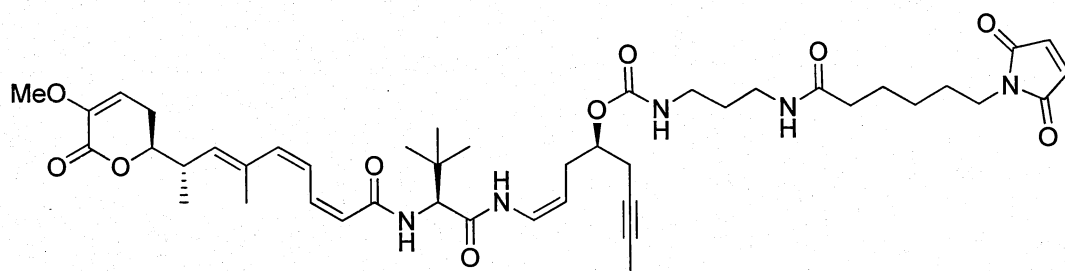
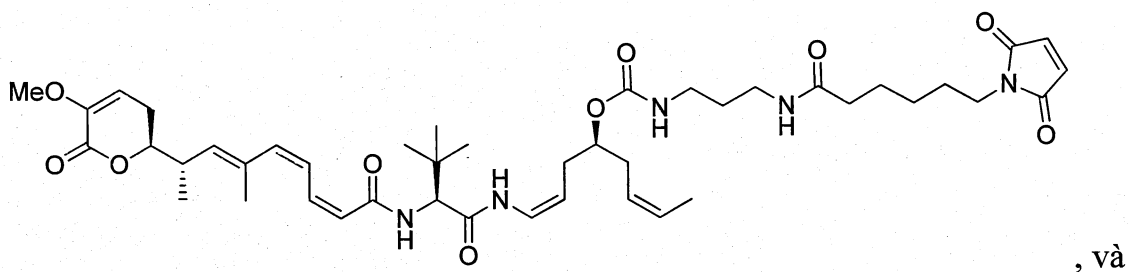
D là gốc dược chất có công thức (Ia), hoặc muối dược dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn hợp hoặc chất đồng phân lập thể của chúng được chọn từ các gốc có công thức:



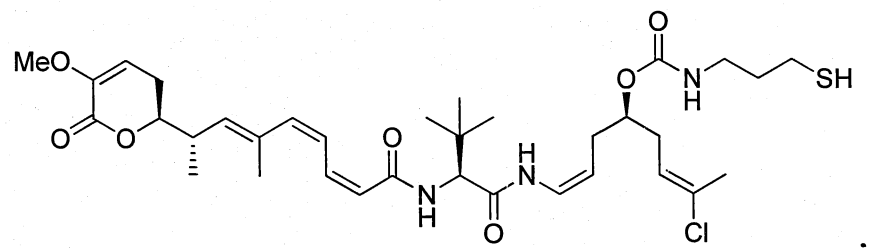
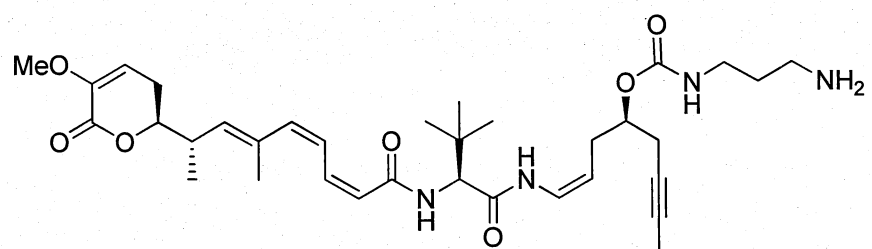
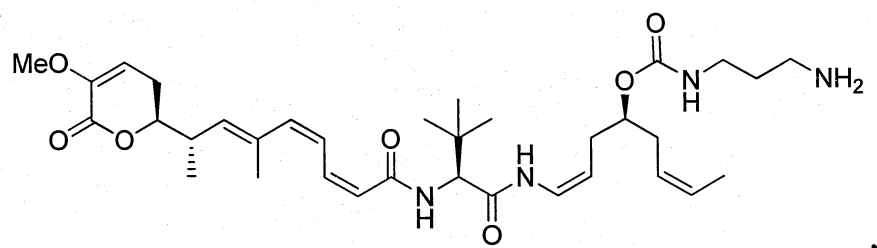
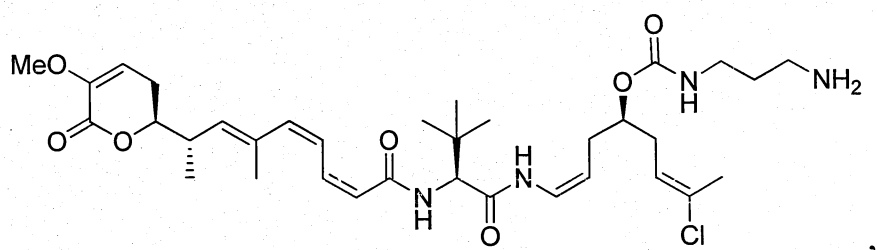
trong đó đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với X.

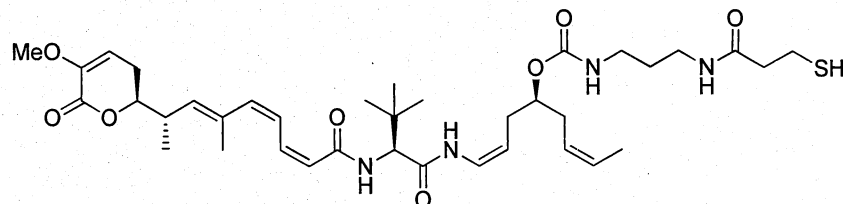
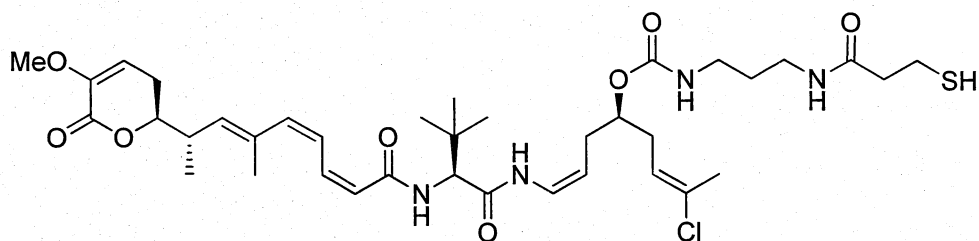
hợp chất có công thức D-X-(AA)_w-L₁ được chọn từ các hợp chất có công thức:



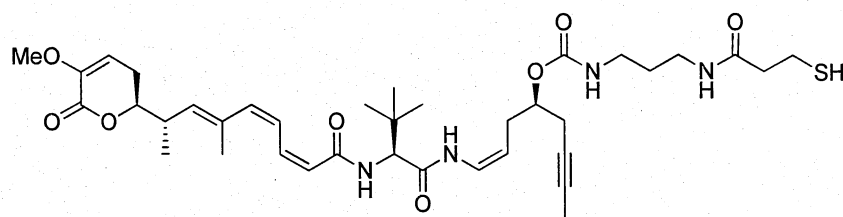


hợp chất có công thức D-X-(AA)_w-H được chọn từ các hợp chất có công thức:





và



Thuật ngữ “muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hổ biến hoặc chất đồng phân lập thể trong thể tiếp hợp được chất theo sáng chế” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ dạng muối được dụng, este, solvat, hydrat hoặc chất đồng phân lập thể bất kỳ hoặc hợp chất khác bất kỳ mà khi dùng cho đối tượng bị bệnh có khả năng tạo ra hợp chất như đã nêu trong bản mô tả, một cách trực tiếp hoặc gián tiếp. Tuy nhiên, cần phải hiểu rằng các muối không được dụng cũng nằm trong phạm vi của sáng chế do chúng có thể là hữu ích trong quá trình điều chế các muối được dụng. Quy trình điều chế các muối, tiền được chất và dẫn xuất có thể được thực hiện bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này.

Ví dụ, muối được dụng của các hợp chất đã nêu trong bản mô tả này được tổng hợp từ hợp chất gốc, chứa gốc bazơ hoặc axit, bằng các phương pháp hóa học thông thường. Nói chung, các muối này, ví dụ, được điều chế bằng cách dạng axit hoặc bazơ tự do của các hợp chất này phản ứng với hệ số tỷ lượng của bazơ hoặc axit thích hợp trong nước hoặc trong dung môi hữu cơ hoặc trong hỗn hợp chứa cả hai loại này. Nói chung, tốt hơn nếu môi trường không phải là nước như ete, etyl axetat, etanol, isopropanol hoặc axetonitril. Ví dụ về các muối cộng axit bao gồm muối cộng axit khoáng như, ví dụ, hydroclorua, hydrobromua, hydroiodua, sulphat, nitrat, phosphat, và muối cộng axit hữu cơ như, ví dụ, axetat, trifloaxetat, maleat, fumarat, xitrat, oxalat, suxinat, tartrat, malat,

mandelat, metansulphonat và p-toluenulphonat. Ví dụ về các muối cộng kiềm bao gồm muối vô cơ như, ví dụ, các muối natri, kali, canxi và amoni, và các muối hữu cơ kiềm như, ví dụ, etylendiamin, etanolamin, N,N-dialkylentanolamin, trietanolamin và muối axit amin bazơ.

Thể tiếp hợp được chất theo sáng chế có thể là ở dạng kết tinh dưới dạng hợp chất tự do hoặc dưới dạng solvat (ví dụ, hydrat) và dự định rằng cả hai dạng này đều nằm trong phạm vi của sáng chế. Các phương pháp solvat hóa thường đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Hợp chất bất kỳ là tiền được chất của thể tiếp hợp được chất theo sáng chế là nằm trong phạm vi và ý tưởng của sáng chế. Thuật ngữ “tiền được chất” được sử dụng với ý nghĩa rộng nhất và bao hàm các dẫn xuất được chuyển hóa *in vivo* thành các hợp chất theo sáng chế. Các dẫn xuất này được hiểu một cách dễ dàng bởi các chuyên gia trong lĩnh vực này, và bao gồm, ví dụ, các hợp chất trong đó nhóm hydroxy tự do được chuyển hóa thành dẫn xuất este. Nhiều tiền được chất thích hợp là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này và có thể được tìm thấy, ví dụ, trong ấn phẩm: Burger “Medicinal Chemistry and Drug Discovery 6th ed. (Donald J. Abraham ed., 2001, Wiley) và “Design and Applications of Prodrugs” (H. Bundgaard ed., 1985, Harwood Academic Publishers), nội dung của chúng được đưa vào trong bản mô tả này bằng cách viện dẫn.

Liên quan đến các hợp chất theo sáng chế, các este được dụng không bị giới hạn đặc biệt, và có thể được lựa chọn bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Trong trường hợp các este này, tốt hơn nếu các este này có thể được phân giải bởi quy trình sinh học như thủy phân *in vivo*. Nhóm tạo ra các este này (nhóm được thể hiện bằng R khi các este của nó được thể hiện bằng -COOR) có thể là, ví dụ, nhóm C₁-C₄ alkoxy C₁-C₄ alkyl như metoxyetyl, 1-etoxetyl, 1-metyl-1-metoxetyl, 1-(isopropoxy)etyl, 2-metoxetyl, 2-etoxetyl, 1,1-đimetyl-1-metoxymetyl, etoxymetyl, propoxymetyl, isopropoxymetyl, butoxymetyl hoặc t-butoxymetyl; nhóm C₁-C₄ alkoxy C₁-C₄ alkyl đã được alkoxy hoá C₁-C₄ như 2-metoxyetoxymetyl; nhóm C₆-C₁₀ aryloxy C₁-C₄ alkyl như phenoxymetyl; nhóm C₁-C₄ alkoxy C₁-C₄ alkyl đã được halogen hóa như 2,2,2-tricloetoxymetyl hoặc bis(2-cloetoxi)metyl; nhóm C₁-C₄ alkoxy carbonyl C₁-C₄ alkyl như metoxycarbonylmetyl; nhóm xyano C₁-C₄ alkyl như xyanometyl hoặc 2-xyanoetyl; nhóm C₁-C₄ alkylthiometyl như metylthiometyl hoặc etylthiometyl; nhóm C₆-C₁₀ arylthiometyl như phenylthiometyl hoặc naphtylthiometyl; nhóm C₁-C₄ alkylsulfonyl

C₁-C₄ alkyl bậc thấp, có thể tùy ý được thế bằng nguyên tử halogen như 2-metansulfonyletyl hoặc 2-triflometansulfonyletyl; nhóm C₆-C₁₀ arylsulfonyl C₁-C₄ alkyl như 2-benzensulfonyletyl hoặc 2-toluenulfonyletyl; nhóm C₁-C₇ axyloxy béo C₁-C₄ alkyl như formyloxymetyl, axetoxymetyl, propionyloxymetyl, butyryloxymetyl, pivaloyloxymetyl, valeryloxymetyl, isovaleryloxymetyl, hexanoyloxymetyl, 1-formyloxyetyl, 1-axetoxyetyl, 1-propionyloxyetyl, 1-butyryloxyetyl, 1-pivaloyloxyetyl, 1-valeryloxyetyl, 1-isovaleryloxyetyl, 1-hexanoyloxyetyl, 2-formyloxyetyl, 2-axetoxyetyl, 2-propionyloxyetyl, 2-butyryloxyetyl, 2-pivaloyloxyetyl, 2-valeryloxyetyl, 2-isovaleryloxyetyl, 2-hexanoyloxyetyl, 1-formyloxypropyl, 1-axetoxypetyl, 1-propionyloxypropyl, 1-butyryloxypropyl, 1-pivaloyloxypropyl, 1-valeryloxypropyl, 1-isovaleryloxypropyl, 1-hexanoyloxypropyl, 1-axetoxypetyl, 1-propionyloxybutyl, 1-butyryloxybutyl, 1-pivaloyloxybutyl, 1-axetoxypetyl, 1-propionyloxybutyl, 1-butyryloxybutyl, 1-pivaloyloxybutyl hoặc 1-pivaloyloxyhexyl; nhóm C₅-C₆ xycloalkylcarbonyloxy C₁-C₄ alkyl như xyclopentylcarbonyloxymetyl, xyclohexylcarbonyloxymetyl, 1-xyclopentylcarbonyloxyetyl, 1-xyclohexylcarbonyloxyetyl, 1-xyclopentylcarbonyloxypropyl, 1-xyclohexylcarbonyloxypropyl, 1-xyclopentylcarbonyloxybutyl hoặc 1-xyclohexylcarbonyloxybutyl; nhóm C₆-C₁₀ arylcarbonyloxy C₁-C₄ alkyl như benzoyloxymetyl; nhóm C₁-C₆ alkoxycarbonyloxy C₁-C₄ alkyl như metoxycarbonyloxymetyl, 1-(metoxycarbonyloxy)etyl, 1-(metoxycarbonyloxy)propyl, 1-(metoxycarbonyloxy)butyl, 1-(metoxycarbonyloxy)petyl, 1-(metoxycarbonyloxy)hexyl, etoxycarbonyloxymetyl, 1-(etoxycarbonyloxy)etyl, 1-(etoxycarbonyloxy)propyl, 1-(etoxycarbonyloxy)butyl, 1-(etoxycarbonyloxy)petyl, 1-(etoxycarbonyloxy)hexyl, propoxycarbonyloxymetyl, 1-(propoxycarbonyloxy)etyl, 1-(propoxycarbonyloxy)propyl, 1-(propoxycarbonyloxy)butyl, isopropoxycarbonyloxymetyl, 1-(isopropoxycarbonyloxy)etyl, 1-(isopropoxycarbonyloxy)butyl, butoxycarbonyloxymetyl, 1-(butoxycarbonyloxy)etyl, 1-(butoxycarbonyloxy)propyl, 1-(butoxycarbonyloxy)butyl, isobutoxycarbonyloxymetyl, 1-(isobutoxycarbonyloxy)etyl, 1-(isobutoxycarbonyloxy)propyl, 1-(isobutoxycarbonyloxy)butyl, t-butoxycarbonyloxymetyl, 1-(t-butoxycarbonyloxy)etyl, pentyloxycarbonyloxymetyl, 1-(pentyloxycarbonyloxy)etyl, 1-(pentyloxycarbonyloxy)propyl, hexyloxycarbonyloxymetyl, 1-(hexyloxycarbonyloxy)etyl hoặc 1-(hexyloxycarbonyloxy)propyl; nhóm C₅-

C₆ xycloalkyloxycarbonyloxy C₁-C₄ alkyl như xyclopentyloxycarbonyloxymetyl, 1-(xyclopentyloxycarbonyloxy)etyl, 1-(xyclopentyloxycarbonyloxy)propyl, 1-(xyclopentyloxycarbonyloxy)butyl, xyclohexyloxycarbonyloxymetyl, 1-(xyclohexyloxycarbonyloxy)etyl, 1-(xyclohexyloxycarbonyloxy)propyl hoặc 1-(xyclohexyloxycarbonyloxy)butyl; nhóm [5-(C₁-C₄ alkyl)-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl]metyl như (5-metyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl)metyl, (5-etyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl)metyl, (5-propyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl)metyl, (5-isopropyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl)metyl hoặc (5-butyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl)metyl; [5-(phenyl, có thể tùy ý được thế bằng nhóm C₁-C₄ alkyl, C₁-C₄ alkoxy hoặc nguyên tử halogen)-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl]metyl như (5-phenyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl)metyl, [5-(4-metylphenyl)-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl]metyl, [5-(4-metoxypheyl)-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl]metyl, [5-(4-flophenyl)-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl]metyl hoặc [5-(4-clophenyl)-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl]metyl; hoặc nhóm phtalidyl, có thể tùy ý được thế bằng nhóm C₁-C₄ alkyl hoặc C₁-C₄ alkoxy, như phtalidyl, đimetylphthalidyl hoặc đimetoxyphtalidyl, và tốt hơn nếu nhóm pivaloyloxymetyl, nhóm phtalidyl hoặc nhóm (5-metyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl)metyl, và tốt hơn nữa nếu nhóm (5-metyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl)metyl.

Hợp chất bất kỳ đã đề cập trong bản mô tả này được dự định được sử dụng trong bản mô tả để chỉ hợp chất cụ thể cũng như các biến thể và các dạng nhất định. Cụ thể, các hợp chất đã đề cập trong bản mô tả này có thể có các tâm không đối xứng và do đó, tồn tại ở các dạng đồng phân đối ảnh khác nhau. Tất cả các chất đồng phân dị quang học và các chất đồng phân lập thể của các hợp chất đã đề cập trong bản mô tả này, và hỗn hợp của chúng, được xem là nằm trong phạm vi của sáng chế. Do đó, hợp chất đã nêu bất kỳ đã được đề cập trong bản mô tả này được dự định được sử dụng trong bản mô tả để chỉ hợp chất bất kỳ của chất triệt quang, một hoặc nhiều dạng đồng phân đối ảnh, một hoặc nhiều dạng đồng phân không đối quang, một hoặc nhiều dạng đồng phân atropin, và hỗn hợp của chúng. Đặc biệt là, thể tiếp hợp dược chất có công thức [D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab và các hợp chất có công thức D-X-(AA)_w-L₁ hoặc D-X-(AA)_w-H có thể bao gồm các chất đồng phân đối ảnh tùy thuộc vào dạng đồng phân không đối xứng hoặc không đối quang của chúng. Dạng đồng phân lập thể của liên kết đôi cũng có thể có mặt, do đó trong một số trường hợp phân tử có thể có mặt ở dạng đồng phân (E) hoặc đồng phân (Z). Nếu phân tử chứa một vài liên kết đôi, thì mỗi liên kết đôi sẽ có dạng đồng phân lập thể của chính nó, có thể là giống hoặc khác so với dạng đồng phân lập thể của các liên kết đôi khác của

phân tử. Các chất đồng phân riêng rẽ và hỗn hợp của chất đồng phân là nằm trong phạm vi của sáng chế.

Ngoài ra, các hợp chất đã đề cập trong bản mô tả này có thể có mặt dưới dạng chất đồng phân dị hình (tức là, các chất đồng phân *cis* và *trans*), dưới dạng chất đồng phân hỗn biến, hoặc dưới dạng đồng phân atropin. Đặc biệt, thuật ngữ chất đồng phân hỗn biến được sử dụng trong bản mô tả để chỉ một trong số hai hoặc nhiều chất đồng phân cấu trúc của hợp chất tồn tại ở trạng thái cân bằng và chuyển hóa một cách dễ dàng từ một dạng đồng phân này sang dạng đồng phân khác. Các cặp hỗn biến thông thường là amin-imin, amit-imit, keto-enol, lactam-lactim, v. v.. Ngoài ra, hợp chất bất kỳ đã đề cập trong bản mô tả này được dự định được sử dụng trong bản mô tả để chỉ các hydrat, solvat, và dạng đa hình, và hỗn hợp của chúng khi các dạng này tồn tại trong môi trường. Ngoài ra, các hợp chất đã đề cập trong bản mô tả này có thể tồn tại ở dạng đã được đánh dấu đồng vị. Tất cả các chất đồng phân dị hình, chất đồng phân hỗn biến, chất đồng phân atropin, hydrat, solvat, dạng đa hình, và dạng đã được đánh dấu đồng vị của các hợp chất đã đề cập trong bản mô tả này, và hỗn hợp của chúng, được coi là nằm trong phạm vi của sáng chế.

Trong các hợp chất theo sáng chế, Ab là gốc chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên. Theo phương án khác, Ab có thể là tác nhân thích hợp bất kỳ có khả năng gắn kết với tế bào đích, tốt hơn nếu tế bào động vật và tốt hơn nữa nếu tế bào của người. Ví dụ về các tác nhân này bao gồm lymphokin, hormon, yếu tố sinh trưởng và phân tử vận chuyển chất dinh dưỡng (ví dụ, transferin).

Trong đó Ab là gốc chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên, tốt hơn nếu gốc này là peptit gắn kết với kháng nguyên hoặc polypeptit. Theo một phương án ưu tiên, gốc này là kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.

Thuật ngữ “kháng thể trong thể tiếp hợp được chất theo sáng chế” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ globulin miễn dịch bất kỳ, tốt hơn nếu globulin miễn dịch có chiều dài đầy đủ. Tốt hơn nếu thuật ngữ này bao hàm cả kháng thể đơn dòng, kháng thể đơn dòng, kháng thể đa đặc hiệu, như kháng thể đặc hiệu kép, và các đoạn kháng thể của nó, với điều kiện chúng có hoạt tính sinh học mong muốn. Các kháng thể có thể có nguồn gốc từ các loài bất kỳ, nhưng tốt hơn nếu từ loài gặm nhấm, ví dụ, nguồn gốc từ chuột hoặc chuột nhắt, người hoặc thỏ. Theo cách khác, các kháng thể, tốt hơn nếu các kháng thể đơn dòng, có thể nhân tạo, khảm hoặc các đoạn kháng thể của chúng. Thuật ngữ

“kháng thể thể khảm” cũng có thể bao gồm các kháng thể “được làm giống như động vật linh trưởng” bao gồm các trình tự gắn kết với kháng nguyên có miễn biến đổi có nguồn gốc từ động vật linh trưởng không phải người (ví dụ, khỉ mũi dài (Old World Monkey), khỉ không đôi, v.v..) và các trình tự vùng ổn định. Globulin miễn dịch cũng có thể có loại bất kỳ (ví dụ IgG, IgE, IgM, IgD, và IgA), nhóm (ví dụ, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 và IgA2) hoặc phân nhóm phân tử globulin miễn dịch.

Thuật ngữ “kháng thể đơn dòng” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ quần thể hầu như đồng nhất gồm các phân tử kháng thể (tức là các kháng thể riêng rẽ bao gồm quần thể này là giống nhau, ngoại trừ các biến thể có thể xuất hiện trong tự nhiên có thể có mặt với lượng nhỏ), được sản sinh bởi một dòng tế bào dòng B, thường tế bào lai. Quan trọng là, mỗi kháng thể đơn dòng này có cùng tính đặc hiệu kháng nguyên - tức là nó trực tiếp kháng lại một yếu tố xác định trên kháng nguyên.

Sự sản sinh các kháng thể đơn dòng có thể được thực hiện bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này. Tuy nhiên, ví dụ, các kháng thể đơn dòng có thể được tạo ra bằng phương pháp tế bào lai (Kohler et al (1975) *Nature* 256:495), kỹ thuật tế bào lai B của người (Kozbor et al., 1983, *Immunology Today* 4: 72), hoặc kỹ thuật tế bào lai EBV (Cole et al., 1985, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96). Theo cách khác, kháng thể đơn dòng có thể được sản sinh bằng cách sử dụng phương pháp ADN tái tổ hợp (xem, US 4816567) hoặc được phân lập từ thư viện kháng thể thực khuẩn bằng cách sử dụng các kỹ thuật được mô tả trong ấn phẩm: Clackson et al (1991) *Nature*, 352:624-628; Marks et al (1991) *J. Mol. Biol.*, 222:581-597.

Kháng thể đơn dòng là các kháng thể trực tiếp kháng lại các yếu tố xác định khác nhau (epitop). Quần thể không đồng nhất gồm kháng thể có thể có nguồn gốc từ huyết thanh của động vật đã tạo miễn dịch bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết đã biết trong lĩnh vực này.

Thuật ngữ “kháng thể đặc hiệu kép” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ kháng thể nhân tạo bao gồm hai kháng thể đơn dòng khác nhau. Chúng có thể được thiết kế để gắn kết với hai epitop liên kề trên một kháng nguyên, từ làm tăng cả ái lực lẫn tính đặc hiệu, hoặc gắn kết hai kháng nguyên khác nhau đối với nhiều ứng dụng, nhưng đặc biệt là để bổ sung các tế bào T gây độc tế bào T và các tế bào tiêu diệt tự nhiên (natural killer - NK) hoặc hướng đích khác các độc tố, nuclit phóng xạ hoặc dược chất gây độc tế bào để

điều trị bệnh ung thư (Holliger & Hudson, *Nature Biotechnology*, 2005, 9, 23). Kháng thể đặc hiệu kép có thể có chuỗi nặng của globulin miễn dịch lai với tính đặc hiệu gắn kết thứ nhất trên một nhánh, và cặp chuỗi nặng-chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch lai (tạo ra tính đặc hiệu gắn kết thứ hai) ở nhánh khác. Cấu trúc không đối xứng này tạo điều kiện thuận lợi cho việc tách hợp chất đặc hiệu kép mong muốn ra khỏi hỗn hợp mạch globulin miễn dịch không mong muốn, khi có mặt chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch chỉ ở một nửa phân tử đặc hiệu kép giúp cho quá trình tách diễn ra một cách dễ dàng (WO 94/04690; Suresh et al., *Methods in Enzymology*, 1986, 121:210; Rodrigues et al., 1993, *J. of Immunology* 151:6954-6961; Carter et al., 1992, *Bio/Technology* 10:163-167; Carter et al., 1995, *J. of Hematotherapy* 4:463-470; Merchant et al., 1998, *Nature Biotechnology* 16:677-681).

Các phương pháp tạo ra kháng thể lai hoặc đặc hiệu kép là đã biết trong lĩnh vực này. Trong một phương pháp, kháng thể đặc hiệu kép có thể được sản sinh bằng cách dung hợp hai tế bào lai vào một thể “quadroma” bằng cách liên kết ngang hóa học hoặc dung hợp gen của hai môđun Fab hoặc scFv khác nhau (Holliger & Hudson, *Nature Biotechnology*, 2005, 9, 23).

Thuật ngữ “kháng thể thể khảm” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ kháng thể trong đó các phần khác nhau có nguồn gốc từ các loài động vật khác nhau. Ví dụ, kháng thể thể khảm có thể có nguồn gốc từ vùng biến đổi của chuột nhắt và miền ổn định của người. Trái lại, “kháng thể nhân tạo” chủ yếu là từ người, mặc dù nó chứa các phần không phải của người. Đặc biệt, các kháng thể nhân tạo là globulin miễn dịch của người (kháng thể nhận) trong đó các gốc từ vùng siêu biến của kháng thể nhận này được thay thế bằng các gốc từ vùng siêu biến của các loài không phải người (kháng thể cho) như chuột nhắt, chuột, thỏ hoặc động vật linh trưởng không phải người có tính đặc hiệu, ái lực và khả năng mong muốn. Trong một số trường hợp, các gốc vùng khung (frame region - FR) của globulin miễn dịch của người được thay thế bằng các gốc không phải người tương ứng. Ngoài ra, các kháng thể nhân tạo có thể chứa các gốc không tìm thấy được ở kháng thể nhận hoặc kháng thể cho. Các biến đổi này được tiến hành để tinh chế tiếp các đặc tính của kháng thể. Nói chung, kháng thể nhân tạo hầu như bao gồm tất cả trong số ít nhất một, và thông thường hai, miền biến đổi, trong đó tất cả hoặc hầu như tất cả các vòng siêu biến tương ứng với các miền của globulin miễn dịch không phải của người và tất cả hoặc hầu như tất cả các FR là miền của trình tự globulin miễn dịch của người.

Kháng thể nhân tạo cũng tùy ý bao gồm ít nhất một phần của vùng ổn định (Fc) của globulin miễn dịch, thường là của globulin miễn dịch của người.

Các kháng thể tái tổ hợp như các kháng thể thể khảm và nhân tạo đơn dòng có thể được sản sinh bằng kỹ thuật ADN tái tổ hợp đã biết trong lĩnh vực này. Các kháng thể hoàn toàn của người có thể được sản sinh bằng cách sử dụng chuột nhắt biến đổi gen không có khả năng biểu hiện các gen chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của globulin nội sinh, nhưng cũng có thể biểu hiện các gen chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của người. Chuột nhắt biến đổi gen được tạo miễn dịch theo cách thông thường với kháng nguyên đã chọn. Các kháng thể đơn dòng trực tiếp kháng lại kháng nguyên có thể thu được bằng cách sử dụng kỹ thuật lai tế bào thông thường. Các gen chuyển của globulin miễn dịch của người đã được nuôi dưỡng bởi chuột nhắt biến đổi gen được sắp xếp lại trong quá trình biệt hóa tế bào B, và sau đó chuyển loại và tạo đột biến soma. Do đó, bằng cách sử dụng kỹ thuật này, có thể sản sinh được các kháng thể IgG, IgA, IgM và IgE có tác dụng điều trị. Tổng quan về các kỹ thuật sản sinh kháng thể này xem ấn phẩm: Lonberg and Huszar (1995, *Int. Rev. Immunol.* 13:65-93). Để thảo luận chi tiết hơn về kỹ thuật sản sinh các kháng thể của người và kháng thể đơn dòng của người và các trình tự để sản sinh các kháng thể này, xem, ví dụ, Patent Mỹ Số 5625126; 5633425; 5569825; 5661016; 5545806; được kết hợp vào sáng chế bằng cách viện dẫn. Các kháng thể khác của người có thể có bán trên thị trường từ, ví dụ, Abgenix, Inc. (Freemont, CA) và Genpharm (San Jose, CA).

Thuật ngữ “mảnh gắn kết kháng nguyên trong thể tiếp hợp được chất theo sáng chế” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ phần kháng thể có chiều dài đầy đủ trong đó các mảnh gắn kết kháng nguyên của các kháng thể này vẫn giữ được chức năng gắn kết kháng nguyên của kháng thể có chiều dài đầy đủ tương ứng. Mảnh gắn kết kháng nguyên này có thể chứa một phần của vùng biến đổi của kháng thể, phần này bao gồm ít nhất một, hai, tốt hơn nếu ba CDR được chọn từ CDR1, CDR2 và CDR3. Mảnh gắn kết kháng nguyên này cũng có thể bao gồm phần của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của globulin miễn dịch. Ví dụ về các đoạn kháng thể bao gồm Fab, Fab', F(ab')₂, scFv, di-scFv, và BiTE (Bi-specific T-cell engagers - kháng thể gắn kết tế bào T đặc hiệu kép), đoạn Fv bao gồm kháng thể nano, kháng thể kép, thể dung hợp kháng thể kép-Fc, kháng thể chứa ba mảnh globulin miễn dịch (tribody) và kháng thể chứa bốn mảnh globulin miễn dịch (tetrabody); kháng thể có kích cỡ nhỏ (kháng thể có kích cỡ nhỏ); kháng thể thẳng; đoạn được sản

sinh bởi thư viện biểu hiện Fab, kháng thể kháng idiotyp (kháng Id), CDR (vùng xác định bổ trợ), và đoạn gắn kết với epitop của kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể nêu trên gắn kết đặc hiệu miễn dịch với kháng nguyên đích như kháng nguyên của tế bào ung thư, kháng nguyên của virus hoặc kháng nguyên của vi khuẩn, các phân tử kháng thể gồm một chuỗi hoặc một miền bao gồm các kháng thể chỉ gồm chuỗi nặng, ví dụ, các miền VHH của lạc đà và V-NAR của cá nhám; và kháng thể đa đặc hiệu được tạo ra từ các đoạn kháng thể. Để so sánh, kháng thể có chiều dài đầy đủ, được gọi là “kháng thể” là kháng thể bao gồm các miền VL và VH, cũng như các miền ổn định của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ hoàn chỉnh.

Kháng thể này cũng có thể có một hoặc nhiều chức năng cảm ứng, được sử dụng trong bản mô tả để chỉ các hoạt tính sinh học ảnh hưởng tới vùng Fc (vùng Fc trình tự tự nhiên hoặc vùng Fc biến đổi trình tự được tạo ra bởi kỹ thuật di truyền theo các phương pháp trong lĩnh vực kỹ thuật này để biến đổi quá trình gắn kết thụ thể) của kháng thể. Ví dụ về chức năng cảm ứng kháng thể bao gồm khả năng gắn kết CIq; độc tố tế bào phụ thuộc bổ trợ; khả năng gắn kết thụ thể Fc; độc tính tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity - ADCC); thực bào; khả năng điều hòa ngược các thụ thể bề mặt tế bào (ví dụ, thụ thể tế bào B; BCR), v. v..

Kháng thể này cũng có thể là đoạn hoạt tính chức năng, dẫn xuất hoặc dạng tương đồng của kháng thể gắn kết đặc hiệu miễn dịch tới kháng nguyên đích như kháng nguyên của tế bào ung thư, kháng nguyên của virus, hoặc kháng nguyên của vi khuẩn hoặc các kháng thể khác gắn kết với các tế bào của khối u. Liên quan đến vấn đề này, hoạt tính chức năng có nghĩa là đoạn, dẫn xuất hoặc dạng tương đồng có khả năng cảm ứng kháng thể kháng idiotyp nhận diện cùng một kháng nguyên mà kháng thể này được nhận diện bởi đoạn, dẫn xuất hoặc dạng tương đồng. Đặc biệt, theo một phương án minh họa, tính kháng nguyên của idiotyp của phân tử globulin miễn dịch có thể được tăng lên bằng cách làm khuyết các trình tự của khung và CDR có đầu tận cùng C với trình tự CDR mà nhận diện đặc hiệu kháng nguyên này. Để xác định trình tự CDR gắn kết với kháng nguyên, các peptit tổng hợp chứa trình tự CDR có thể được sử dụng trong các thử nghiệm gắn kết với kháng nguyên này bằng phương pháp thử nghiệm gắn kết bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này (ví dụ, thử nghiệm lỗi BIA), xem, ví dụ, ấn phẩm: Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md; Kabat E et al., 1980, J. of Immunology 125(3):961-969).

Thuật ngữ “kháng thể” cũng có thể bao gồm protein dung hợp của kháng thể, hoặc đoạn hoạt tính chức năng của nó, ví dụ, trong đó kháng thể này được ngưng tụ bằng nhóm liên kết cộng hoá trị (ví dụ, liên kết peptit), ở đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C với trình tự axit amin của protein khác (hoặc phần của nó, như ít nhất 10, 20 hoặc 50 phần axit amin của protein) là không phải kháng thể này. Kháng thể hoặc đoạn của nó có thể được liên kết cộng hóa trị với protein khác ở đầu tận cùng N của miền ổn định.

Ngoài ra, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên theo sáng chế có thể bao gồm các dạng tương đồng và dẫn xuất của các kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó được cải biến, như bằng cách liên kết cộng hóa trị của loại phân tử bất kỳ với điều kiện liên kết cộng hóa trị này cho phép kháng thể giữ được tính đặc hiệu miễn dịch gắn kết với kháng nguyên của nó. Ví dụ về các quá trình biến đổi bao gồm quá trình glycosyl hoá, axetyl hóa, pegyl hóa, phosphoryl hoá, amit hóa, tạo dẫn xuất bằng các nhóm bảo vệ/phong bế đã biết, phân tách protein phân giải, liên kết với đơn vị kháng thể tế bào hoặc protein khác, v. v.. Nhiều quá trình biến đổi hóa học bất kỳ có thể được thực hiện bằng các kỹ thuật đã biết, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phân tách hóa học đặc hiệu, axetyl hóa, formyl hóa, tổng hợp chuyển hóa với sự có mặt của tunicamycin, v. v.. Ngoài ra, thể dạng tương đồng hoặc dẫn xuất có thể chứa một hoặc nhiều axit amin không có nguồn gốc từ tự nhiên.

Các kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên theo sáng chế cũng có thể có nhiều dạng biến đổi (ví dụ, thay thế, khuyết hoặc bổ sung) ở miền Fc của kháng thể này. Đặc biệt, các dạng biến đổi có thể xảy ra ở vùng bản lề Fc và khiến cho khả năng gắn kết tăng lên đối với thụ thể FcRn (WO 97/34631).

Theo một phương án, kháng thể trong thể tiếp hợp được chất theo sáng chế có thể là kháng thể bất kỳ hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, tốt hơn nếu kháng thể đơn dòng là hữu ích để điều trị bệnh, tốt hơn nếu bệnh ung thư. Bệnh ung thư này có thể là bệnh ung thư vú, bệnh ung thư trực tràng, bệnh ung thư nội mạc tử cung, u melanin gây bệnh ung thư thận, bệnh ung thư bạch cầu, bệnh ung thư phổi, đa u tủy, u bạch huyết (ví dụ, bệnh dạng Hodgkin và u bạch huyết không phải dạng Hodgkin), các khối u rắn như bệnh sacôm và bệnh ung thư biểu mô, u melanin, u trung biểu mô, sacôm xương, bệnh ung thư buồng trứng và bệnh ung thư thận. Theo một phương án ưu tiên, bệnh ung thư này là bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư trực tràng, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư biểu mô tụy, bệnh ung thư thận, bệnh ung thư bạch cầu, đa u tủy, u bạch huyết và bệnh ung

thư buồng trứng. Theo một phương án ưu tiên hơn nữa, bệnh ung thư này là bệnh ung thư trực tràng, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư bạch cầu, u bạch huyết và bệnh ung thư buồng trứng

Các kháng thể có thể là hữu ích để điều trị bệnh ung thư bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các kháng thể kháng lại các kháng nguyên sau: CA125 (buồng trứng), CA15-3 (bệnh ung thư biểu mô), CA19-9 (bệnh ung thư biểu mô), L6 (bệnh ung thư biểu mô), Lewis Y (bệnh ung thư biểu mô), Lewis X (bệnh ung thư biểu mô), alpha fetoprotein (bệnh ung thư biểu mô), CA 242 (trực tràng), phosphatase kiềm của nhau thai (bệnh ung thư biểu mô), kháng nguyên đặc hiệu ở tuyến tiền liệt (tuyến tiền liệt), axit phosphatase ở tuyến tiền liệt (tuyến tiền liệt), yếu tố sinh trưởng biểu bì (bệnh ung thư biểu mô), ví dụ, protein EGF thụ thể 2 (bệnh ung thư vú), MAGE-I (bệnh ung thư biểu mô), MAGE-2 (bệnh ung thư biểu mô), MAGE-3 (bệnh ung thư biểu mô), MAGE-4 (bệnh ung thư biểu mô), thụ thể kháng transferrin (bệnh ung thư biểu mô), p97 (u melanin), MUC1-KLH (bệnh ung thư vú), CEA (trực tràng), gp100 (u melanin), MART1 (u melanin), PSA (tuyến tiền liệt), thụ thể IL-2 (bệnh bạch cầu tế bào T và u bạch huyết), CD20 (u bạch huyết không phải dạng Hodgkin), CD52 (bệnh bạch cầu), CD33 (bệnh bạch cầu), CD22 (u bạch huyết), gonadotropin thuộc màng đệm của người (bệnh ung thư biểu mô), CD38 (đa u tủy), CD40 (u bạch huyết), mucin (bệnh ung thư biểu mô), P21 (bệnh ung thư biểu mô), MPG (u melanin), và sản phẩm gen gây bệnh ung thư Neu (bệnh ung thư biểu mô). Một số kháng thể đặc hiệu, hữu ích bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, BR96 mAb (Trail, P. A., et al Science (1993) 261, 212-215), BR64 (Trail, PA, et al Cancer Research (1997) 57, 100-105, mAbs kháng CD40 antigen, như S2C6 mAb (Francisco, J. A., et al Cancer Res. (2000) 60:3225-3231), các kháng thể đơn dòng kháng kháng nguyên CD70, như 1F6 mAb, và các kháng thể đơn dòng kháng kháng nguyên CD30, như AC10 (Bowen, M. A., et al (1993) J. Immunol., 151:5896- 5906; Wahl et al., 2002 Cancer Res. 62(13):3736-42). Nhiều kháng thể nội tương tác khác gắn kết với kháng nguyên liên quan đến khối u có thể được sử dụng và xem xét (Franke, A. E., et al Cancer Biother Radiopharm. (2000) 15:459-76; Murray, J. L., (2000) Semin Oncol, 27:64-70; Breitling, F., and Dubel, S., Recombinant Antibodies, John Wiley, and Sons, New York, 1998).

Các kháng nguyên khác liên kết với khối u bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, BMPR1B, E16, STEAP1, STEAP2, 0772P. MPF, Napi3b, Sema5b, PSCA hlg, ETBR,

MSG783, TrpM4, CRIPTO, CD21, CD79b, FcRH2, HER2, NCA, MDP, IL20R α , Brevican, EphB2R, ASLG659, PSCA, GEDA, BAFF-R, CD79A, CXCR5, HLA-DOB, P2X5, CD72, LY64, FCRH1, IRTA2 và TENB2.

Theo phương án khác, kháng thể trong thể tiếp hợp được chất theo sáng chế có thể là kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, tốt hơn nếu kháng thể đơn dòng, gắn kết đặc hiệu miễn dịch tới kháng nguyên của virus, kháng nguyên của vi khuẩn hoặc kháng nguyên của tế bào sản sinh các kháng thể tự miễn liên quan đến bệnh tự miễn.

Kháng nguyên của virus có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, peptit, polypeptit hoặc protein của virus bất kỳ như HIV gp120, HIV nef, RSV F glycoprotein, neuraminidaza của virus cúm, hemagglutinin của virus cúm, HTLV tax, glycoprotein của virus hecpet thông thường (ví dụ, Gb, Gc, Gd, và Ge) và kháng nguyên bề mặt của bệnh viêm gan B) có khả năng tạo ra đáp ứng miễn dịch.

Kháng nguyên của vi khuẩn có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, peptit, polypeptit, protein, sacarit, polysacarit, hoặc phân tử lipit của vi khuẩn bất kỳ (ví dụ, vi khuẩn, nấm, protozoa gây bệnh, hoặc polypeptit của nấm men bao gồm, ví dụ, LPS và polysacarit nang) có khả năng tạo ra đáp ứng miễn dịch.

Theo phương án khác, kháng thể này có thể là kháng thể bất kỳ đã biết để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh nhiễm virus hoặc vi khuẩn - tức là bệnh nhiễm khuẩn. Ví dụ về các kháng thể như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, PRO542 (Progenies) là kháng thể dung hợp CD4 có tác dụng điều trị nhiễm HIV; OsTAVIR (Protein Design Labs, Inc., CA), là kháng thể của người có tác dụng điều trị bệnh viêm gan B do virus; PROTOVIR. (Protein Design Labs, Inc., CA) mà là kháng thể IgG1 nhân tạo có tác dụng điều trị cytomegalovirus (CMV); và các kháng thể kháng LPS.

Các kháng thể khác là hữu ích để điều trị các bệnh nhiễm khuẩn bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các kháng thể kháng lại kháng nguyên từ các chủng gây bệnh của vi khuẩn (*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Hemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenas*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter (Vibrio) fetus*, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Edwardsiella tarda*, *Yersinia enterocolitica*,

Yersinia pestis, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhimurium*, *Treponema pallidum*, *Treponema pertenue*, *Treponema carateneum*, *Borrelia vincentii*, *Borrelia burgdorferi*, *Leptospira icterohernorrhagiae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pneumocystis carinii*, *Francisella tularensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella melitensis*, *Mycoplasma spp.*, *Rickettsia prowazeki*, *Rickettsia tsutsugumushi*, *Chlamydia spp.*); nấm gây bệnh (*Coccidioides immitis*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Blastomyces dermatitidis*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*); protozoa (*Entamoeba histolytica*, *Toxoplasma gondii*, *Trichomonas tenax*, *Trichomonas hominis*, *Trichomonas vaginalis*, *Trypanosoma gambiense*, *Trypanosoma rhodesiense*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Leishmania tropica*, *Leishmania braziliensis*, *Pneumocystis pneumonia*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*); hoặc giun sán (Helminth) (*Enterobius vermicularis*, *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichinella spiralis*, *Strongyloides stercoralis*, *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium*, và giun móc).

Các kháng thể khác là hữu ích điều trị bệnh do virus gây ra bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các kháng thể kháng lại kháng nguyên của virus gây bệnh, bao gồm ví dụ nhưng không chỉ giới hạn ở: Poxviridae, Herpesviridae, Herpes Simplex virus 1, Herpes Simplex virus 2, Adenoviridae, Papovaviridae, Enteroviridae, Picornaviridae, Parvoviridae, Reoviridae, Retroviridae, virus cúm, virus gây bệnh khó thở ở trẻ em (parainfluenza virus), virus gây bệnh quai bị, virus gây bệnh sởi, hô hấp hỗn bào, rubella, Arboviridae, Rhabdoviridae, Arenaviridae, virus gây bệnh viêm gan A, virus gây bệnh viêm gan B, virus gây bệnh viêm gan C, virus gây bệnh viêm gan E, virus gây bệnh viêm gan không phải A/không phải B, Rhinoviridae, Coronaviridae, Rotoviridae, và virus gây suy giảm miễn dịch ở người.

Theo phương án khác, kháng thể của thể tiếp hợp được chất theo sáng chế cũng có thể là kháng thể bất kỳ đã biết để điều trị phòng ngừa các rối loạn tự miễn dịch, như, nhưng không chỉ giới hạn ở, rối loạn liên quan đến lympho bào Th2 (ví dụ bệnh viêm da dị ứng, bệnh hen dị ứng, viêm giác mạc dị ứng, viêm mũi dị ứng, hội chứng Omenn, bệnh xơ cứng hệ thống, và bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ); rối loạn liên quan đến lympho bào Th1 (ví dụ, bệnh viêm đa khớp dạng thấp, bệnh xơ cứng rải rác, bệnh vẩy nến, hội chứng Sjogren, bệnh viêm tuyến giáp Hashimoto, bệnh Grave, bệnh xơ gan mật nguyên

phát, bệnh u hạt Wegener, và bệnh lao); rối loạn liên quan đến lymphô bào B được hoạt hóa (ví dụ, bệnh luput ban đỏ hệ thống, hội chứng Goodpasture, bệnh viêm đa khớp dạng thấp, và bệnh đái tháo đường typ I); và bệnh viêm gan mạn tính, bệnh Addison, bệnh viêm phế nang dị ứng, phản ứng dị ứng, bệnh viêm mũi dị ứng, hội chứng Alport, hội chứng phản vệ, Bệnh viêm cột sống dính khớp, hội chứng kháng phospholipit, bệnh khớp, bệnh giun đũa, bệnh do nấm Aspergillus, bệnh dị ứng, bệnh viêm da dị ứng, bệnh viêm mũi dị ứng, bệnh Behcet, bệnh phổi Bird-Fancier, bệnh hen phế quản, hội chứng Caplan, bệnh cơ tim, bệnh Celiac, bệnh Chagas, bệnh viêm tiểu cầu thận mạn tính, hội chứng Cogan, bệnh ngưng kết tổ lạnh, bệnh nhiễm rubella bẩm sinh, hội chứng CREST, bệnh Crohn, bệnh máu chứa nhiều cryoglobulin, hội chứng Cushing, bệnh viêm bì cơ, bệnh luput hình đĩa, hội chứng Dresser, hội chứng Eaton-Lambert, bệnh nhiễm Echovirut, bệnh viêm não và dây cột sống, bệnh lý về mắt do nội tiết, bệnh nhiễm virut Epstein-Barr, bệnh phổi Equine Heaves, bệnh ban đỏ, hội chứng Evan, hội chứng Felty, bệnh đau cơ, bệnh viêm thể mi Fuch, bệnh viêm dạ dày teo, kích ứng dạ dày-ruột non, bệnh viêm động mạch tế bào lớn, bệnh viêm thận tiểu cầu, hội chứng Goodpasture, bệnh do cây ghép vật chủ, bệnh Graves, bệnh Guillain-Barre, bệnh viêm tuyến giáp Hashimoto, bệnh thiếu máu tan máu, ban xuất huyết Henoch-Schonlein, chứng teo thượng thận tự phát, bệnh xơ hóa phổi tự phát, bệnh thận IgA, bệnh viêm ruột, bệnh đái tháo đường phụ thuộc insulin, bệnh khớp ở vị thành niên, bệnh đái tháo đường ở vị thành niên (Typ I), hội chứng Lambert-Eaton, viêm móng ngựa, bệnh liken phẳng, bệnh viêm gan do luput, chứng giảm lympho bào do luput, bệnh Meniere, bệnh mô liên kết hỗn hợp, bệnh xơ cứng rải rác, bệnh nhược cơ năng, bệnh thiếu máu ác tính, hội chứng đa tuyến, bệnh sa sút trí tuệ trước tuổi già, bệnh thiếu hụt globulin nguyên phát, bệnh xơ gan mật nguyên phát, bệnh vẩy nến, bệnh viêm khớp vẩy nến, hiện tượng Raynauds, hiện tượng sảy thai tái diễn theo định kỳ, hội chứng Reiter, chứng sốt do bệnh viêm đa khớp dạng thấp, bệnh viêm đa khớp dạng thấp, hội chứng Sampter, bệnh sán máng, hội chứng Schmidt, bệnh cứng da, hội chứng Shulman, hội chứng Sjorgen, hội chứng Stiff-Man, bệnh viêm mắt giao cảm, bệnh luput ban đỏ hệ thống, bệnh viêm động mạch Takayasu, bệnh viêm động mạch thái dương, bệnh viêm tuyến giáp, chứng giảm tiểu cầu, bệnh tăng năng tuyến giáp, chứng hoại thượng bì do nhiễm độc, chứng kháng insulin typ B, bệnh đái tháo đường typ I, bệnh loét do viêm ruột kết mạn, bệnh viêm màng mạch nhỏ, bệnh bạch biến, bệnh macroglobulin huyết và bệnh u hạt Wegener.

Các kháng thể miễn dịch đặc hiệu đối với kháng nguyên của tế bào đóng vai trò trong việc sản sinh các kháng thể tự miễn có thể thu được bằng phương pháp bất kỳ đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này như, ví dụ, kỹ thuật tổng hợp hóa học hoặc biểu hiện tái tổ hợp. Ví dụ về các kháng thể tự miễn bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, kháng thể kháng nhân; kháng ds ADN; kháng ss ADN, Kháng thể IgM, IgG kháng cardiolipin; kháng thể IgM kháng phospholipit, IgG; kháng thể kháng SM; kháng thể kháng ty thể; kháng thể ở tuyến giáp; kháng thể ở vi lập thể; kháng thể thyroglobulin; kháng SCL-70; kháng Jo; kháng U1RNP; kháng La/SSB; kháng SSA; kháng SSB; kháng thể kháng tế bào vách; Kháng histon; kháng RNP; C-ANCA; P-ANCA; kháng tâm động; kháng Fibrillarin, và kháng kháng thể GBM.

Theo phương án khác, kháng thể của thể tiếp hợp được chất theo sáng chế có thể là kháng thể gắn kết với cả thụ thể lẫn phức hợp thụ thể được biểu hiện trên lympho bào đã được hoạt hóa, như kháng thể có liên quan đến bệnh tự miễn. Thụ thể hoặc phức hợp thụ thể có thể bao gồm thành viên thuộc siêu họ gen globulin miễn dịch, thành viên thuộc siêu họ thụ thể TNF, integrin, intoleukin, thụ thể xytokin, thụ thể chemokin, protein tương hợp mô chính, lectin, hoặc protein kiểm soát hỗ trợ. Ví dụ không giới hạn về các thành viên thuộc siêu họ globulin miễn dịch thích hợp là CD2, CD3, CD4, CD5, CD8, CD13, CD19, CD22, CD28, CD79, CD90, CD152/CTLA-4, PD-I, và ICOS. Ví dụ không giới hạn về các thành viên thuộc siêu họ thụ thể TNF thích hợp là CD27, CD40, CD95/Fas, CD134/OX40, CD137/4-1BB, TNF-R1, TNFR-2, RANK, TACI, BCMA, osteoprotegerin, Apo2/TRAFEL-R1, TRAIL-R2, TRAIL-R3, TRABL-R4, và APO-3. Ví dụ không giới hạn về các integrin thích hợp là CD1 Ia, CD1Ib, CD1Ic, CD18, CD29, CD41, CD49a, CD49b, CD49c, CD49d, CD49e, CD49f, CD103, và CD104. Ví dụ không giới hạn về các lectin thích hợp là C-type, S- type, và I-type lectin.

Kháng thể gắn kết đích phân tử hoặc kháng nguyên liên quan, ví dụ, kháng nguyên ErbB2, là kháng thể có khả năng gắn kết kháng nguyên với ái lực đủ sao cho kháng thể này là hữu ích trong việc hướng đích tế bào biểu hiện kháng nguyên. Trong đó kháng thể này là kháng thể gắn kết ErbB2, tốt hơn nếu nó gắn kết ErbB2 trái với các thụ thể ErbB khác, và có thể là kháng thể không phản ứng chéo một cách đáng kể với các protein khác như EGFR, ErbB 3 hoặc ErbB4. Trong các phương án này, việc mở rộng khả năng gắn kết của kháng thể với các protein không phải ErbB2 (ví dụ, bề mặt tế bào gắn kết với thụ thể nội sinh) nhỏ hơn 10% khi được xác định bằng phân tích sắp xếp tế bào đã hoạt hóa

phát huỳnh quang (fluorescence activated cell sorting - FACS) hoặc kết tủa miễn dịch phóng xạ (radioimmunoprecipitation RIA). Đôi khi, kháng thể kháng ErbB2 không phản ứng chéo một cách đáng kể với protein neu của chuột, ví dụ, như được mô tả trong Schecter et al., Nature 312:513 (1984) và Drebin et al., Nature 312:545-548 (1984).

Theo phương án khác, kháng thể của thể tiếp hợp được chất hoặc đích theo sáng chế có thể được chọn từ kháng thể hoặc đích trong bảng dưới đây. Các kháng thể như vậy có tính miễn dịch đặc hiệu đối với kháng nguyên đích và có thể thu được trên thị trường hoặc được sản sinh bởi phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này như, ví dụ, phương pháp biểu hiện tái tổ hợp.

Bảng 1. Các kháng thể đơn dòng có tác dụng điều trị

Tên	Tên thương mại	Đích
3F8		GD2
8H9		B7-H3
Abagovomab		CA-125 (giả định)
Abciximab	ReoPro	CD41 (integrin alpha-IIb)
Actoxumab		<i>Clostridium difficile</i>
Adalimumab	Humira	TNF- α
Adecatumumab		EpCAM
Afelimomab		TNF- α
Afutuzumab		CD20
Alacizumab pegol		VEGFR2
ALD518		IL-6
Alemtuzumab	Campath, MabCampath	CD52
Alirocumab		NARP-1
Altumomab		CEA
Amatuximab		mesothelin
Anatumomab		TAG-72
Anifrolumab		thụ thể intoferon α/β
Anrukinzumab		IL-13
Apolizumab		HLA-DR β -chain
Arcitumomab	CEA-Scan	CEA
Aselizumab		L-selectin (CD62L)
Atinumab		RTN4
Atlizumab (= tocilizumab)	Actemra, RoActemra	Thụ thể IL-6
Atorolimumab		Yếu tố Rhesus
Bapineuzumab		dạng tinh bột beta
Basiliximab	Simulect	CD25 (chuỗi α của thụ thể IL-2)
Bavituximab		phosphatidylserin
Belimumab	Benlysta, Lymphoat-B	BAFF
Benralizumab		CD125
Bertilimumab		CCL11 (eotaxin-1)
Besilesomab	Scintimun	kháng nguyên liên quan đến CEA
Bevacizumab	Avastin	VEGF-A
Bezlotoxumab		<i>Clostridium difficile</i>
Biciromab	FibriScint	fibrin II, chuỗi beta

Bimagrumab		ACVR2B
Bivatuzumab		CD44 v6
Blinatumomab		CD19
Blosozumab		SOST
Brentuximab		CD30 (TNFRSF8)
Briakinumab		IL-12, IL-23
Brodalumab		IL-17
Canakinumab	Ilaris	IL-1beta
Cantuzumab		MUC-1
Caplacizumab		VWF
Capromab		tế bào ung thư biểu mô ở tuyến tiền liệt
Carlumab		MCP-1
Catumaxomab	Removab	EpCAM, CD3
CC49		TAG-72
Cedelizumab		CD4
Certolizumab pegol	Cimzia	TNF- α
Cetuximab	Erbitux	EGFR
Ch.14,18		Disialogangliosit (GD2)
Citatzumab		EpCAM
Cixutumumab		Thụ thể IGF-1
Clazakizumab		<i>Oryctolagus cuniculus</i>
Clenoliximab		CD4
Clivatuzumab		MUC1
Conatumumab		TRAIL-R2
Concizumab		TFPI
CR6261		cúm A hemagglutinin
Crenezumab		1-40- β -amyloid
Dacetuzumab		CD40
Daclizumab	Zenapax	CD25 (chuỗi α của thụ thể IL-2)
Dalotuzumab		thụ thể yếu tố sinh trưởng I tương tự insulin
Dachuotumumab		CD38 (ADP riboza hydrolaza vòng)
Demcizumab		DLL4
Denosumab	Prolia	RANKL
Detumomab		Tế bào u bạch huyết B
Dorlimomab		chưa biết
Drozitumab		DR5
Duligotumab		HER3
Dupilumab		IL4
Dusigitumab		ILGF2
Ecomeximab		GD3 gangliosit
Eculizumab	Soliris	C5
Edobacomab		nội độc tố
Edrecolomab	Panorex	EpCAM
Efalizumab	Raptiva	LFA-1 (CD11a)
Efungumab	Mycograb	Hsp90
Eldelumab		Protein được cảm ứng bởi intoferon gamma
Elotuzumab		SLAMF7
Elsilimomab		IL-6
Enavatuzumab		Thụ thể TWEAK
Enlimomab pegol		ICAM-1 (CD54)

Enokizumab		IL9
Enoticumab		DLL4
Ensituximab		5AC
Epitumomab		episialin
Epchuôtuzumab	LymphoCide	CD22
Erlizumab		ITGB2 (CD18)
Ertumaxomab	Rexomun	HER2/neu, CD3
Etaracizumab	Abegrin	integrin $\alpha_v\beta_3$
Etrolizumab		integrin $\alpha_7\beta_7$
Evolocumab		PCSK9
Exbivirumab		kháng nguyên bề mặt ở bệnh viêm gan B
Faralimomab		thụ thể intoferon
Farletuzumab		thụ thể folat 1
Fasinumab		HNGF
FBTA05	Lymphomun	CD20
Felvizumab		virut hỗn bào ở đường hô hấp
Fezakinumab		IL-22
Ficlatuzumab		HGF
Figitumumab		Thụ thể IGF-1
Flanvotumab		glycoprotein 75
Fontolizumab	HuZAF	IFN- γ
Foralumab		CD3 epsilon
Foravirumab		virut glycoprotein gây bệnh dại
Fresolimumab		TGF- β
Fulranumab		NGF
Futuximab		EGFR
Galiximab		CD80
Ganitumab		IGF-I
Gantenerumab		dạng tinh bột beta
Gavilimomab		CD147 (basigin)
Gemtuzumab		CD33
Gevokizumab		IL-1 β
Girentuximab	Rencarex	cacbonic anhyđraza 9 (CA-IX)
Glembatumumab		GPNMB
Golimumab	Simponi	TNF- α
Gomiliximab		CD23 (thụ thể IgE)
GS6624		lysyl oxidaza tương tự 2
Guselkumab		IL13
Ibalizumab		CD4
Ibritumomab		CD20
Icrucumab		VEGFR-1
Igovomab	Indimacis-125	CA-125
Imciromab	Myoscint	myosin ở tim
Imgatuzumab		EGFR
Inclacumab		selectin P
Indatuximab		SDC1
Infliximab	Remicade	TNF- α
Inolimomab		CD25 (chuỗi α của thụ thể IL-2)
Inotuzumab		CD22
Intetumumab		CD51
Ipilimumab	Yervoy	CD152
Iratumumab		CD30 (TNFRSF8)
Itolizumab		CD6

Ixekizumab		IL-17A
Keliximab		CD4
Labetuzumab	CEA-Cide	CEA
Lambrolizumab		PDCD1
Lampalizumab		CFD
Lebrikizumab		IL-13
Lemalesomab		NCA-90 (kháng nguyên bạch cầu hạt)
Lerdelimumab		TGF beta 2
Lexatumumab		TRAIL-R2
Libivirumab		kháng nguyên bề mặt ở bệnh viêm gan B
Ligelizumab		IGHE
Lintuzumab	Smart M 195	CD33
Lirilumab		KIR2D
Lodelcizumab		PCSK9
Lorvotuzumab		CD56
Lucatumumab		CD40
Lumiliximab		CD23 (thụ thể IgE)
Mapatumumab		TRAIL-R1
Margetuximab		ch4D5
Maslimomab		Thụ thể tế bào T
Matuzumab		EGFR
Mavrilimumab		thụ thể GMCSF chuỗi α
Mepolizumab	Bosatria	IL-5
Metelimumab		TGF beta 1
Milatuzumab		CD74
Minretumomab		TAG-72
Mitumomab		GD3 gangliosit
Mogamulizumab		CCR4
Morolimumab		Yếu tố Rhesus
Motavizumab	Numax	virut hỗn bào ở đường hô hấp
Moxetumomab		CD22
Muromonab-CD3	Orthoclone OKT3	CD3
Nacolomab		Kháng nguyên C242
Namilumab		CSF2
Naptumomab		5T4
Narnatumab		RON
Natalizumab	Tysabri	integrin α_4
Nebacumab		nội độc tố
Necitumumab		EGFR
Nerelimomab		TNF- α
Nesvacumab		angiopoietin 2
Nimotuzumab	Theracim, Theraloc	EGFR
Nivolumab		IgG4
Nofetumomab		?
Ocaratuzumab		CD20
Ocrelizumab		CD20
Odulimomab		LFA-1 (CD11a)
Ofatumumab	Arzerra	CD20
Olarattumab		PDGF-R α
Olokizumab		IL6
Omalizumab	Xolair	IgE Fc region
Onartuzumab		thụ thể kinaza của yếu tố tán xạ người

Oportuzumab		EpCAM
Oregovomab	OvaRex	CA-125
Orticumab		oxLDL
Otelixizumab		CD3
Oxelumab		OX-40
Ozanezumab		NOGO-A
Ozoralizumab		<i>Lama glama</i>
Pagibaximab		axit lipoteichoic
Palivizumab	Synagis, Abbosynagis	Protein F của virut hỗn bào ở đường hô hấp
Panitumumab	Vectibix	EGFR
Panobacumab		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Parsatuzumab		EGFL7
Pascolizumab		IL-4
Pateclizumab		LTA
Patritumab		HER3
Pentumomab	Theragyn	MUC1
Perakizumab		IL17A
Pertuzumab	Omnitarg	HER2/neu
Pexelizumab		C5
Pidilizumab		PD-1
Pinatuzumab		CD22
Pintumomab		kháng nguyên adenobệnh ung thư biểu mô
Placulumab		TNF người
Polatuzumab		CD79B
Ponezumab		beta-amyloid người
Priliximab		CD4
Pritoxaximab		độc tố <i>E. coli</i> shiga typ-1
Pritumumab		vimentin
PRO 140		CCR5
Quilizumab		IGHE
Racotumomab		Axit <i>N</i> -glycolylneuraminic
Radretumab		Miền ngoại bào fibronectin B
Rafivirumab		virut glycoprotein gây bệnh dại
Ramucirumab		VEGFR2
Ranibizumab	Lucentis	VEGF-A
Raxibacumab		độc tố anthrax, kháng nguyên bảo vệ
Regavirumab		cytomegalovirut glycoprotein B
Reslizumab		IL-5
Rilotumumab		HGF
Rituximab	MabThera, Rituxan	CD20
Robatumumab		Thụ thể IGF-1
Roledumab		RHD
Romosozumab		scleroscin
Rontalizumab		IFN- α
Rovelizumab	LeukArrest	CD11, CD18
Ruplizumab	Antova	CD154 (CD40L)
Samalizumab		CD200
Sarilumab		IL6
Satumomab		TAG-72
Secukinumab		IL-17A
Seribantumab		ERBB3

Setoxaximab		<i>E. coli</i> shiga độc tố typ-1
Sevirumab		cytomegalovirut
Sibrotuzumab		FAP
Sifalimumab		IFN- α
Siltuximab		IL-6
Simtuzumab		LOXL2
Siplizumab		CD2
Sirukumab		IL-6
Solanezumab		dạng tinh bột beta
Solitomab		EpCAM
Sonepcizumab		sphingosine-1-phosphat
Sontuzumab		episialin
Stamulumab		myostatin
Sulesomab	LeukoScan	NCA-90 (kháng nguyên bạch cầu hạt)
Suvizumab		HIV-1
Tabalumab		BAFF
Tacatuzumab		alpha-fetoprotein
Tadocizumab		integrin $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$
Talizumab		IgE
Tanezumab		NGF
Taplitumomab		CD19
Tefibazumab	Aurexis	yếu tố kết tụ A
Telimomab		chưa biết
Tenatumomab		tenascin C
Teneliximab		CD40
Teplizumab		CD3
Teprotumumab		CD221
TGN1412		CD28
Ticilimumab (= tremelimumab)		CTLA-4
Tigatuzumab		TRAIL-R2
Til-drakizumab		IL23
TNX-650		IL-13
Toralizumab		CD154 (CD40L)
Tositumomab	Bexxar	CD20
Tovetumab		CD140a
Tralokinumab		IL-13
Trastuzumab	Herceptin	HER2/neu
TRBS07	Ektomab	GD2
Tregalizumab		CD4
Tucotuzumab		EpCAM
Tuvirumab		virut gây bệnh viêm gan B
Ublituximab		MS4A1
Urelumab		4-1BB
Urtioxazumab		<i>Escherichia coli</i>
Ustekinumab	Stelara	IL-12, IL-23
Vantictumab		Frizzled thụ thể
Vapaliximab		AOC3 (VAP-1)
Vatelizumab		ITGA2
Vedolizumab		integrin $\alpha_4\beta_7$
Veltuzumab		CD20
Vepalimomab		AOC3 (VAP-1)
Vesencumab		NRP1
Visilizumab	Nuvion	CD3

Volociximab		integrin $\alpha_5\beta_1$
Vorsetuzumab		CD70
Votumumab	HumaSPECT	kháng nguyên CTAA16.88 của khối u
Zalutumumab	HuMax-EGFr	EGFR
Zanolimumab	HuMax-CD4	CD4
Zatuximab		HER1
Ziralimumab		CD147 (basigin)
Zolimomab		CD5

Ngoài các kháng thể nêu trên, kháng thể của thể tiếp hợp được chất kháng theo sáng chế có thể là Vitaxin, là kháng thể nhân tạo để điều trị bệnh sacôm; Smart ID10 là kháng thể kháng HLA-DR nhân tạo để điều trị u bạch huyết không phải dạng Hodgkin; Oncolym là kháng thể kháng HLA-DrlO của loài gặm nhấm được đánh dấu phóng xạ để điều trị u bạch huyết không phải dạng Hodgkin; và Allomune là kháng thể đơn dòng kháng CD2 nhân tạo để điều trị bệnh dạng Hodgkin hoặc u bạch huyết không phải dạng Hodgkin.

Kháng thể của thể tiếp hợp được chất theo sáng chế cũng có thể là đoạn kháng thể bất kỳ đã biết để điều trị bệnh bất kỳ, tốt hơn nếu bệnh ung thư. Tiếp theo, các đoạn kháng thể này có tính miễn dịch đặc hiệu đối với kháng nguyên đích và có thể thu được trên thị trường hoặc được sản sinh bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này như, ví dụ, phương pháp biểu hiện tái tổ hợp. Ví dụ về các kháng thể có sẵn như vậy bao gồm kháng thể bất kỳ được nêu trong bảng sau.

Bảng 2. Các đoạn kháng thể đơn dòng có tác dụng điều trị

Loại/dạng đoạn kháng thể	Tên thương mại	Đích
Fab/khảm	ReoPro (abciximab)	GpIIb/gpIIa
Fab/cừu	CroFab	Nọc rắn
Fab/cừu	DigiFab	Đigoxin
Fab/cừu	Digibind	Đigoxin
Fab/chuột nhắt	CEA-scan (arcitumomab)	CEA
Fab/nhân tạo	Lucentis (ranibizumab; Rhu-Fab)	VEGF
Fab/nhân tạo	Thromboview	D-đime
Fab-PEG	CDP791	VEGF
Fab-PEG	CDP870	TNF- α
Fab/nhân tạo đặc hiệu kép	MDX-H210	Her2/Neu & CD64 (γ FcR1)
Fv chuỗi đơn (scFv)/nhân tạo	Pexelizumab	C5 bổ trợ
(ScFv) ₄ được dung hợp với streptavidin của chuột nhắt	CC49	TAG-72 kháng nguyên

		Panbệnh ung thư biểu mô
ScFv được dung hợp với β -lactamaza người	SGN-17	kháng nguyên P97
ScFv được dung hợp với PEG người	F5 scFv-PEG Liposom miễn dịch	Her2
Kháng thể chứa hai mảnh globulin miễn dịch $(V_H-V_L)_2$ người	C6,5K-A	Her2/Neu
Kháng thể chứa hai mảnh globulin miễn dịch $(V_H-V_L)_2$ người	L19 L19- γ IFN	Miễn EDB của fibronectin
Kháng thể chứa hai mảnh globulin miễn dịch $(V_L-V_H)_2$ người	T84.66	CEA
Kháng thể có kích cỡ nhỏ $(scF_v-C_{H3})_2$ khảm của loài gặm nhấm-người (kháng thể có kích cỡ nhỏ)	T84.66	CEA
Kháng thể có kích cỡ nhỏ Khảm của loài gặm nhấm-người (kháng thể có kích cỡ nhỏ)	10H8	Her2
ScF _v dime Fc $(ScF_v)_2$ -Fc Khảm của loài gặm nhấm-người (kháng thể có kích cỡ nhỏ)	T84.66	CEA
Đặc hiệu kép scFv $(V_L-V_H-V_H-V_L)$ chuột nhắt	r28M	CD28 và MAP
scFv đặc hiệu kép $(V_L-V_H-V_H-V_L)$ chưa rõ nguồn gốc	BiTE MT103	CD19 và CD3
scFv đặc hiệu kép $(V_L-V_H-V_H-V_L)$ chưa rõ nguồn gốc	BiTE	Ep-CAM và CD3
Kháng thể chứa hai mảnh globulin miễn dịch tandem đặc hiệu kép $(V_H-V_L-V_H-V_L)$ (chuột nhắt)	Tandab	CD19 & CD3
Thể dung hợp V _H H- β -lactamaza của lạc đà	Thể nano	CEA
Dab/người	Kháng TNF α dAb	TNF α
V _H H/lạc đà	Thể nano	TNF α
V _H H/lạc đà	Thể nano	Yếu tố Von Willebrand

(Holliger & Hudson, Nature Biotechnology, 2005, 9, 23).

Theo các phương án ưu tiên, kháng thể trong thể tiếp hợp được chất theo sáng chế có thể gắn kết với thụ thể đã được mã hóa bởi gen ErbB. Kháng thể này có thể gắn kết đặc hiệu với thụ thể ErbB được chọn từ EGFR, HER2, HER3 và HER4. Tốt hơn nếu kháng thể trong thể tiếp hợp được chất có thể Gắn kết đặc hiệu với miền ngoại bào của thụ thể HER2 và ức chế sự phát triển của các tế bào của khối u biểu hiện quá mức thụ thể HER2. Kháng thể của thể tiếp hợp được chất có thể là kháng thể đơn dòng, ví dụ kháng thể đơn dòng của loài gặm nhấm, kháng thể thể khảm, hoặc kháng thể nhân tạo. Tốt hơn nếu kháng thể nhân tạo này có thể là huMAb4D5-1, huMAb4D5-2, huMAb4D5-3, huMAb4D5-4, huMAb4D5-5, huMAb4D5-6, huMAb4D5-7 hoặc huMAb4D5-8 (Trastuzumab), đặc biệt tốt hơn nếu Trastuzumab. Kháng thể này cũng có thể đoạn kháng thể, ví dụ, đoạn Fab.

Các kháng thể được ưu tiên khác bao gồm:

(i) Kháng thể kháng CD4. Kháng thể của thể tiếp hợp được chất có thể là kháng thể đơn dòng, ví dụ, kháng thể đơn dòng của loài gặm nhấm, kháng thể thể khảm, hoặc kháng thể nhân tạo;

(ii) Kháng thể kháng CD5. Kháng thể của thể tiếp hợp được chất có thể là kháng thể đơn dòng, ví dụ, kháng thể đơn dòng của loài gặm nhấm, kháng thể thể khảm, hoặc kháng thể nhân tạo;

(iii) Kháng thể kháng CD13. Kháng thể của thể tiếp hợp được chất có thể là kháng thể đơn dòng, ví dụ, kháng thể đơn dòng của loài gặm nhấm, kháng thể thể khảm, hoặc kháng thể nhân tạo; và

(iv) Kháng thể kháng CD20. Kháng thể của thể tiếp hợp được chất có thể là kháng thể đơn dòng, ví dụ, kháng thể đơn dòng của loài gặm nhấm, kháng thể thể khảm, hoặc kháng thể nhân tạo. Tốt hơn nếu kháng thể nhân tạo này là Rituximab hoặc kháng thể đoạn của nó, ví dụ, đoạn Fab.

Quy trình điều chế thể tiếp hợp được chất-kháng thể

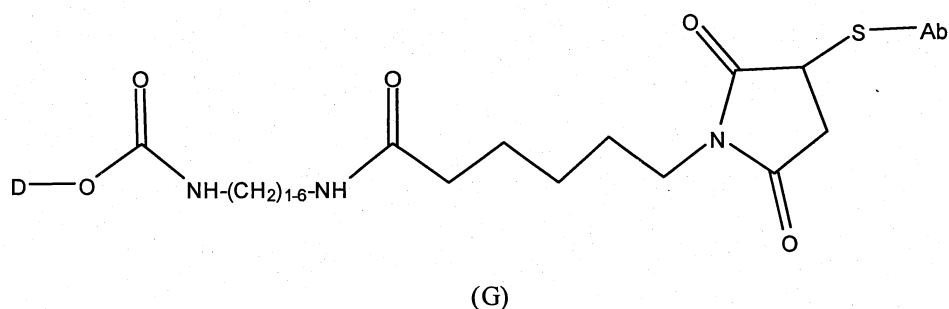
Thể tiếp hợp được chất-kháng thể theo sáng chế có thể được điều chế theo kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này. Các quy trình tạo tiếp hợp các gốc chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên của các kháng thể như các kháng thể với nhiều được chất khác nhau bằng cách sử dụng các quy trình khác nhau đã được mô tả và nêu trên trong, ví dụ,

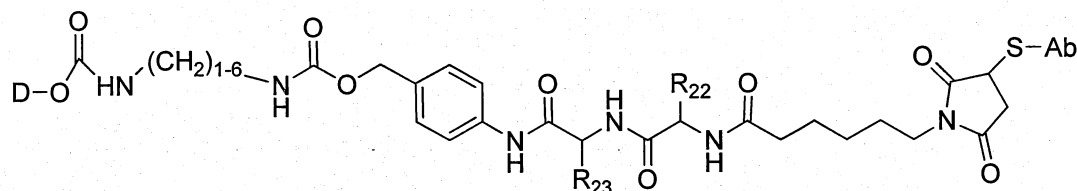
WO2004/010957, WO2006/060533 và WO2007/024536, nội dung của chúng được đưa vào trong bản mô tả này bằng cách viện dẫn. Các quy trình này bao gồm việc sử dụng nhóm liên kết có nguồn gốc từ dược chất, độc tố hoặc nuclit phóng xạ theo cách sao cho nó có thể được gắn vào gốc sau đó như kháng thể. Việc gắn vào gốc này như kháng thể thường được thực hiện bằng một trong ba cách: qua nhóm thiol tự do ở cystein sau khi khử một phần nhóm disulfua ở kháng thể này; qua nhóm amino tự do ở lysin ở kháng thể này; và qua nhóm hydroxyl tự do ở serin và/hoặc threonin ở kháng thể này. Phương pháp gắn kết thay đổi tùy thuộc vào vị trí gắn trên gốc như kháng thể. Quá trình tinh chế thể tiếp hợp kháng thể-dược chất bằng phương pháp sắc ký loại cỡ (SEC) cũng được mô tả [xem, ví dụ, ấn phẩm: Liu et al., Proc. Natl. Acad. Set (USA), 93: 8618-8623 (1996), và Chari et al., Cancer Research, 52: 127-131 (1992)].

Như lưu ý trên đây, dược chất hữu ích của thể tiếp hợp dược chất theo sáng chế là các dẫn xuất dihydropyran-2-on và tetrahydropyran-2-on đã được bộc lộ hoặc là nằm trong phạm vi của số WO2007/144423 và WO2009/080761, nội dung của chúng được đưa vào trong bản mô tả này bằng cách viện dẫn. Các hợp chất này được tổng hợp theo các quy trình được mô tả và lấy làm ví dụ trong này.

Như lưu ý trên đây, sáng chế đề cập đến quy trình điều chế thể tiếp hợp dược chất theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế bao gồm bước tạo tiếp hợp của gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và dược chất D có công thức (I), công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), Ab và D là như được xác định theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế.

Ví dụ về quy trình điều chế thể tiếp hợp dược chất theo sáng chế bao gồm bước điều chế thể tiếp hợp dược chất-kháng thể có công thức (G) hoặc công thức (H) theo sáng chế là như sau:

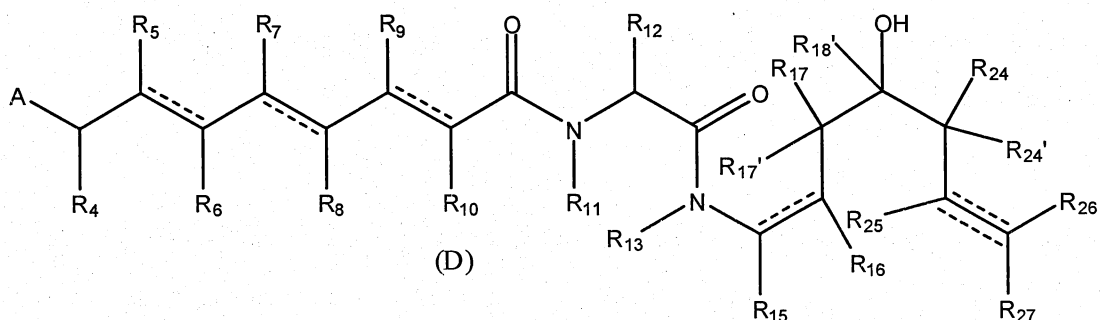




(H)

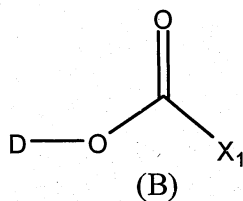
quy trình này bao gồm các bước sau:

(i) cho được chất (D) có công thức (Ia)-H:



(D)

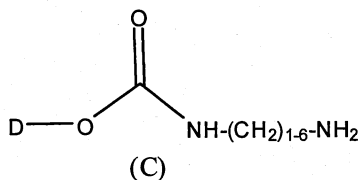
trong đó các phần tử thể trong định nghĩa của (Ia) là như được xác định nêu trên, phản ứng với hợp chất có công thức $X_2-C(O)-X_1$ trong đó X_1 và X_2 là nhóm rời chuyển để thu được hợp chất có công thức (B):



(B)

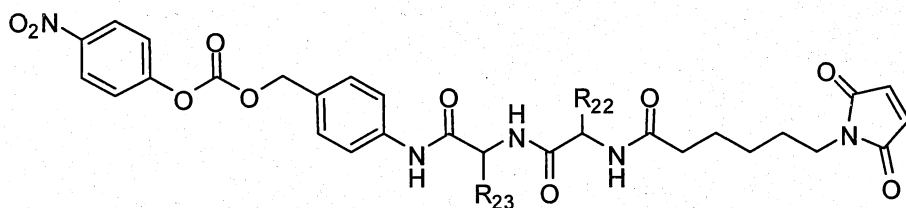
và điểm gắn kết của gốc $-(C=O)X_1$ là nhóm hydroxyl tự do được gắn vào cùng một nguyên tử cacbon là R_{18}' .

(ii) cho hợp chất có công thức (B) thu được ở bước (i) phản ứng với điamin có công thức $H_2N-(CH_2)_{1-6}NH_2$ để thu được hợp chất có công thức (C):



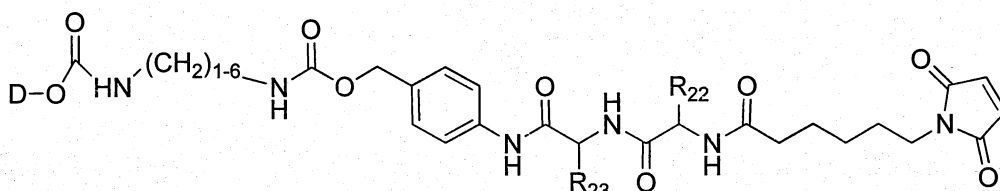
(C)

(iii) cho hợp chất có công thức (C) thu được ở bước (ii) phản ứng với hợp chất có công thức (D'):



(D')

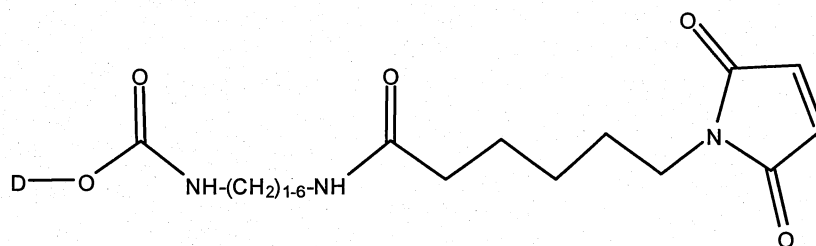
để thu được hợp chất có công thức (F):



(F)

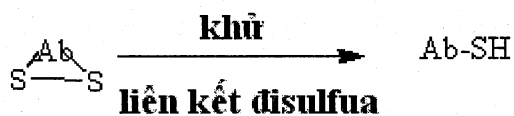
hoặc

cho hợp chất có công thức (C) thu được ở bước (ii) phản ứng với *N*-hydroxysuccinimide của axit 6-maleimidohexanoic để thu được hợp chất có công thức (E):



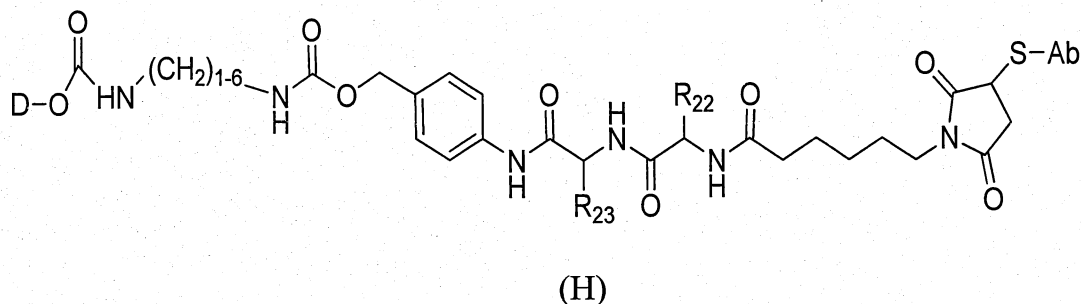
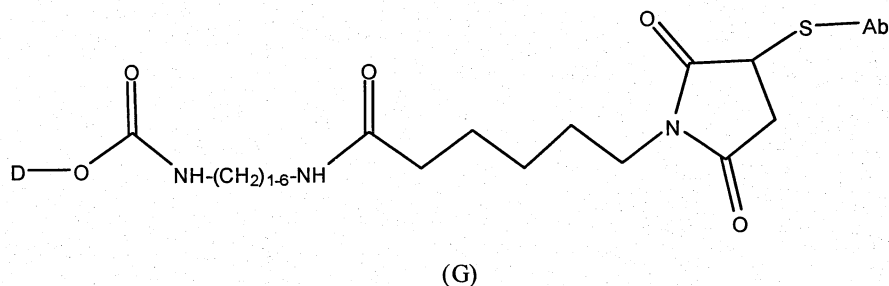
(E)

(iv) Khử một phần một hoặc nhiều liên kết disulfua ở kháng thể này cần tạo tiếp hợp để tạo ra kháng thể Ab-SH đã khử có nhóm thiol tự do:



; và

(v) phản ứng của kháng thể Ab-SH đã khử một phần có nhóm thiol tự do với hợp chất có công thức (E) hoặc (F) thu được ở bước (iv) để tạo ra lần lượt thể tiếp hợp được chất-kháng thể có công thức (G) hoặc công thức (H) mong muốn:



Tốt hơn nếu hợp chất có công thức $X_2-C(O)-X_1$ được cho phản ứng với dược chất (A) ở bước (i) là 1,1'-carbonyldiimidazol.

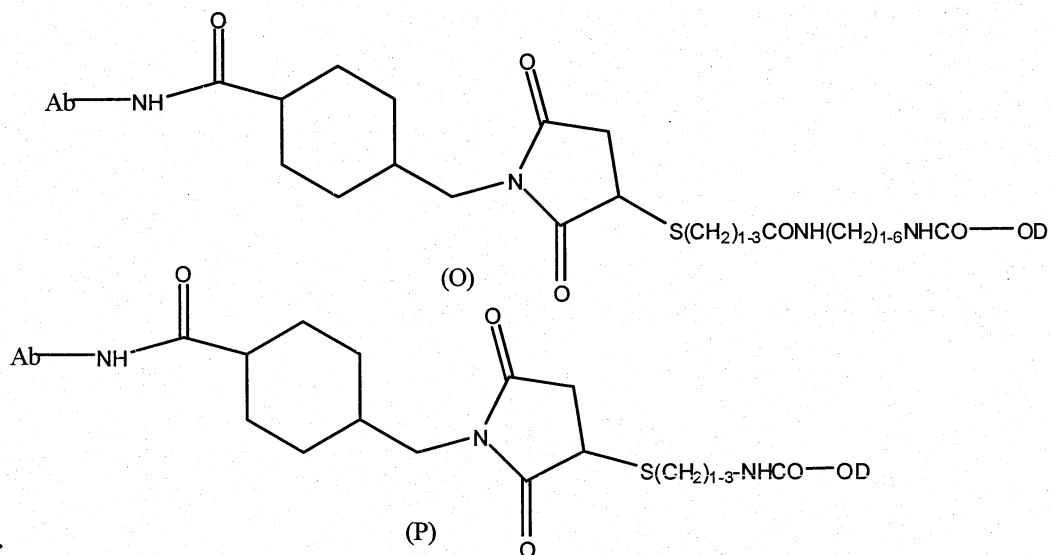
Tốt hơn nếu điamin ở bước (ii) có công thức $NH_2-(CH_2)_{2-4}-NH_2$, và tốt hơn nữa nếu nó là propylen-1,3-điamin.

Theo một phương án ưu tiên của quy trình này, hợp chất trung gian (C) được cho phản ứng với hợp chất có công thức (D') trong đó R_{23} là $-(CH_2)_3-NH-CO-NH_2$ và R_{22} là isopropyl.

Theo một phương án ưu tiên khác của quy trình này, kháng thể này được chọn từ Trastuzumab, Rituximab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, hoặc nó được chọn từ Trastuzumab, Rituximab và kháng thể kháng CD4, hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, và tốt nhất nếu Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó; hoặc nó được chọn từ kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13, hoặc phần có hoạt tính

miễn dịch của chúng, và tốt nhất nếu kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó. Ngoài ra, quá trình khử một phần kháng thể đơn dòng này được thực hiện bằng cách sử dụng tris[2-carboxyetyl]phosphin hydroclorua (TCEP).

Ví dụ khác về quy trình điều chế thể tiếp hợp được chất-kháng thể theo sáng chế, bao gồm bước điều chế thể tiếp hợp được chất-kháng thể có công thức (O) hoặc công thức (P) là như sau:

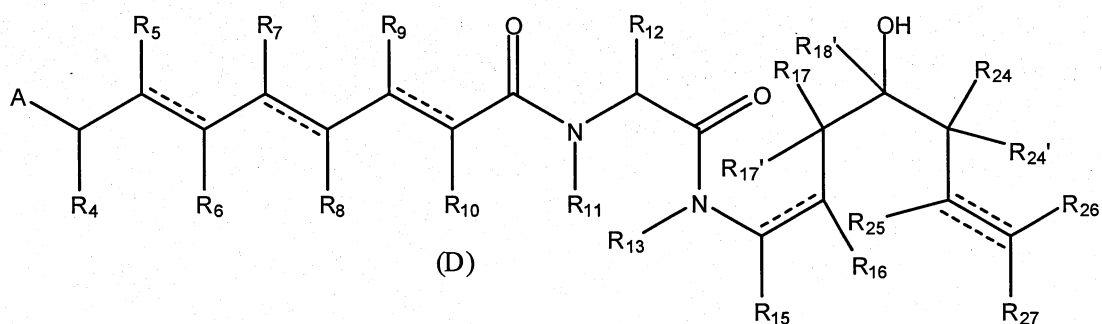


:

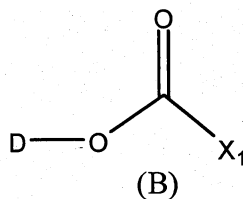
quy trình này bao gồm:

(i) một trong hai bước sau:

cho được chất (D) có công thức (Ia)-H:

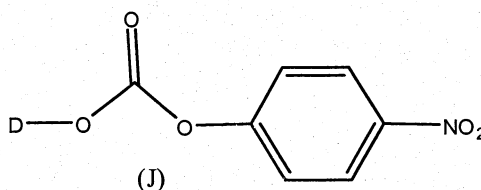


trong đó các phần tử thể trong định nghĩa của (Ia)-H là như được xác định nêu trên, phản ứng với hợp chất có công thức $X_2-C(O)-X_1$ trong đó X_1 và X_2 là các nhóm rời chuyển để thu được hợp chất có công thức (B):



và điểm gắn kết của gốc $X_1(\text{CO})$ là nhóm hydroxyl tự do được gắn vào cùng một nguyên tử cacbon là R_{18}' , hoặc

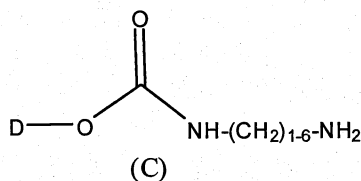
(b) cho được chất (A) có công thức (Ia)-H này như được xác định nêu trên phản ứng với 4-nitro-phenylcloformat để thu được hợp chất có công thức (J):



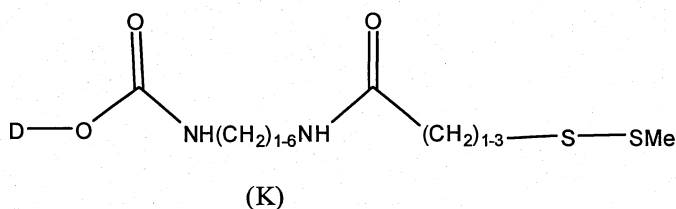
và điểm gắn kết của nhóm (4-nitrophenyl)-O-CO- là tương tự như nhóm đối với gốc $X_1(\text{CO})$ nêu ở phần (a) nêu trên;

(ii) một trong hai bước sau:

(c) cho hợp chất có công thức (B) thu được ở bước (i) phản ứng với điamin có công thức $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{NH}_2$ để thu được hợp chất có công thức (C):

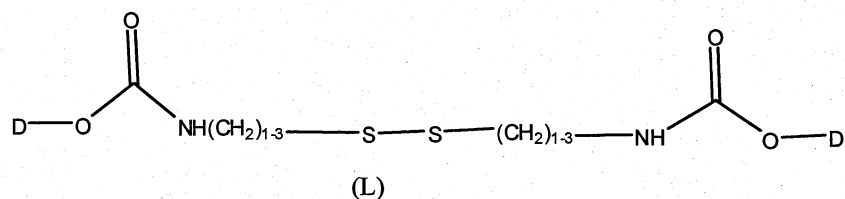


và sau đó cho hợp chất có công thức (C) thu được cho phản ứng với hợp chất có công thức $\text{Me-S-S}-(\text{CH}_2)_{1-3}\text{-CO}_2\text{H}$ để thu được hợp chất có công thức (K)

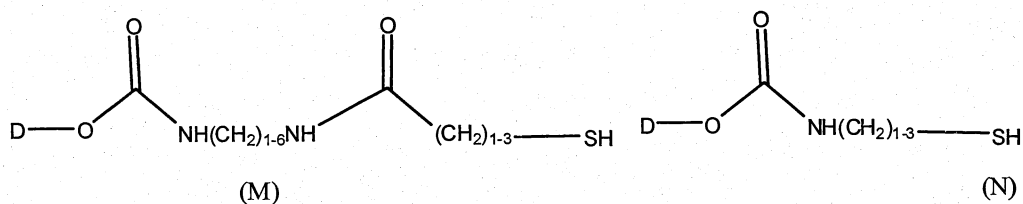


hoặc

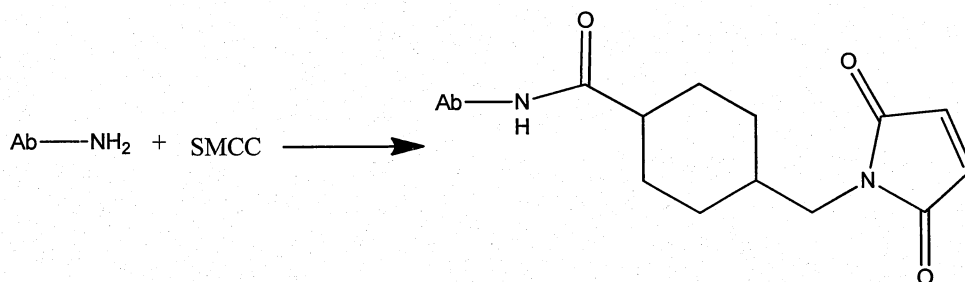
(d) cho hợp chất (J) thu được ở bước (i) phản ứng với hợp chất aminoalkylthio có công thức $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_{1-3}\text{SH}$ để thu được hợp chất có công thức (L):



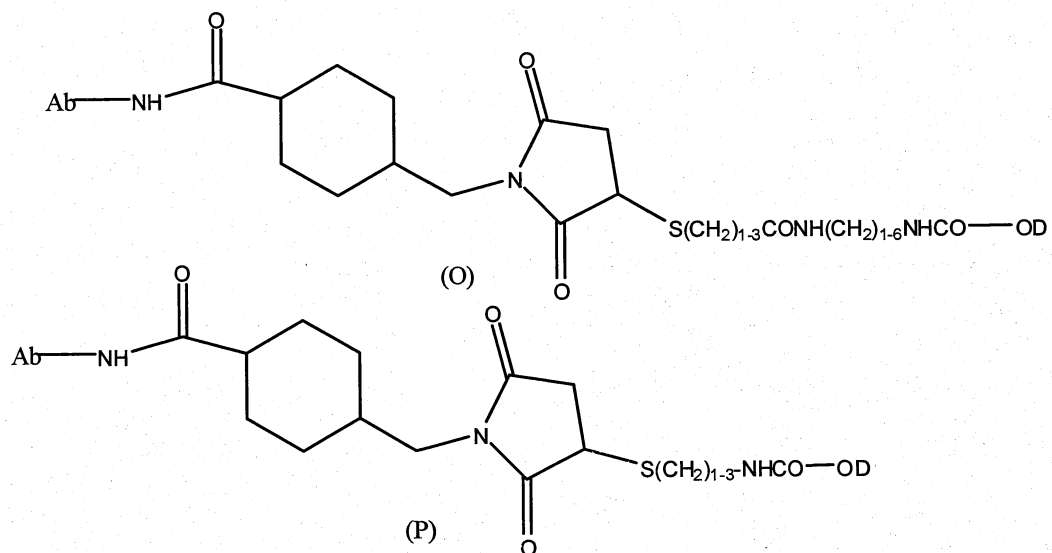
(iii) cho hợp chất có công thức (K) hoặc công thức (L) thu được ở bước (ii) phản ứng với dithiotreitol trong các điều kiện khử disulfua để lần lượt tạo ra các hợp chất có công thức (M) và (N):



(iv) cho kháng thể cần tạo tiếp hợp phản ứng với succininimidyl-4-(*N*-maleimidometyl)xyclohexan-1-carboxylat để tạo dẫn xuất kháng thể ở một hoặc nhiều nhóm lysin với nhóm succininimidyl-4-(*N*-maleimidometyl)xyclohexan-1-carbonyl:



(v) cho kháng thể đã tạo dẫn xuất thu được ở bước (iv) phản ứng với hợp chất có công thức (M) hoặc (N) thu được ở bước (iii) để tạo ra thể tiếp hợp được chất-kháng thể mong muốn có công thức (O) hoặc công thức (P):



Như đối với quy trình nêu trên, tốt hơn nếu hợp chất có công thức $X_2-C(O)-X_1$ là 1,1'-carbonyldiimidazol. Tương tự, tốt hơn nếu hợp chất điamin có công thức (B) $NH_2-(CH_2)_{2-4}-NH_2$, và tốt hơn nữa nếu propylen-1,3-điamin.

Theo một phương án ưu tiên của sáng chế, hợp chất này được cho phản ứng với hợp chất có công thức (C) để thu được hợp chất có công thức (K) là axit 3-(metyldisulfanyl)propanoic.

Theo một phương án ưu tiên khác, hợp chất aminoalkylthio được cho phản ứng với hợp chất có công thức (J) để thu được hợp chất có công thức (L) là 3-aminopropan-1-thiol.

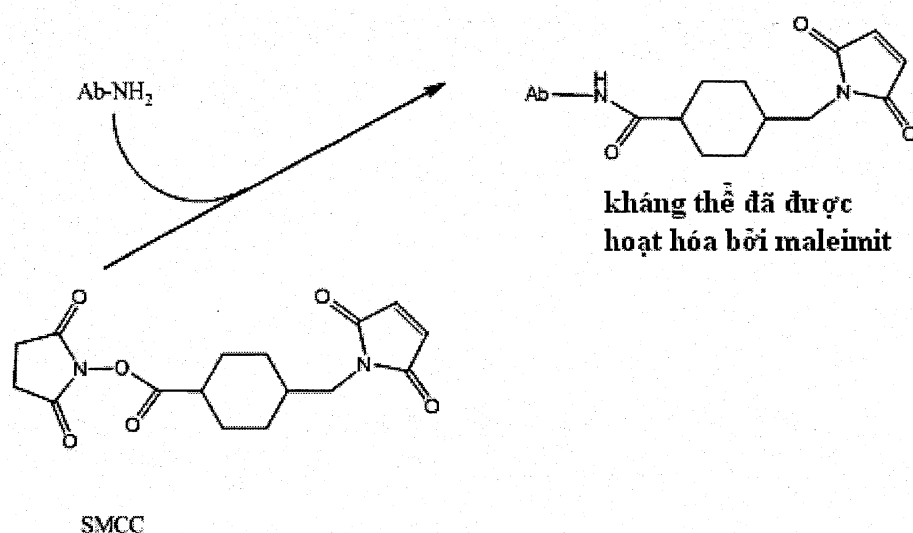
Trong đó việc gắn vào gốc được chất liên kết được tiến hành qua nhóm thiol tự do ở xystein sau khi khử một phần nhóm disulfua ở gốc này chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên như kháng thể đơn dòng, quá trình khử một phần thường được tiến hành trước tiên bằng cách pha loãng tới nồng độ thích hợp và tạo đệm dung dịch này trước khi khử một phần liên kết disulfua bằng cách bổ sung chất khử thích hợp như tris[2-carboxyetyl]phosphin hydroclorua (TCEP) hoặc dithiotreitol (DTT). Bằng cách lựa chọn tỷ lệ thích hợp của gốc cần khử như kháng thể đơn dòng và chất khử, các điều kiện phản ứng và thời gian khử, có thể thu được tỷ lệ giữa thiol tự do và gốc mong muốn, ví dụ, bốn nhóm thiol tự do/kháng thể đơn dòng.

Gốc đã khử một phần như kháng thể đơn dòng đã khử một phần có nhóm thiol tự do, được điều chế như đã nêu trên, tiếp đó được cho phản ứng với hợp chất liên kết với được chất theo sáng chế có công thức $D-X-(AA)_w-L_1$ (trong đó nhóm L trong hợp chất

này là nhóm maleimide không phản ứng với nhóm thiol). Thử tiếp hợp được chất-kháng thể thu được được tinh chế bằng các cách thích hợp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này, ví dụ bằng cách phương pháp sắc ký loại cỡ (SEC) [xem, ví dụ, Liu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 93: 8618-8623 (1996), và Chari et al., Cancer Research, 52: 127-131 (1992)].

Theo một phương án ưu tiên của sáng chế, kháng thể đơn dòng đã khử một phần là Trastuzumab hoặc kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng, tốt hơn nếu Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó; hoặc tốt hơn nếu kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó.

Theo phương án khác của sáng chế, lysin ở gốc này chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên như kháng thể đơn dòng trước tiên có thể được cho phản ứng với succinimidyl-4-(N-maleimidomethyl)xyclohexan-1-carboxylat. Nhóm amin tự do trên kháng thể có thể phản ứng với N-hydroxysuccinimide este để tạo ra kháng thể đã được hoạt hóa bởi maleimide:



Sau đó, kháng thể đã được hoạt hóa bởi maleimide có thể được cho phản ứng với hợp chất có công thức $D-X-(AA)_w-H$ có gốc thiol hoạt động.

Hai ví dụ cụ thể về các quy trình điều chế thử tiếp hợp được chất-kháng thể có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab$ theo sáng chế bằng cách tạo tiếp hợp bằng nhóm thiol tự do ở cysteine sau khi khử một phần nhóm disulfua ở kháng thể này và bằng nhóm amino tự do ở lysin ở kháng thể này sau khi hoạt hóa bằng nhóm maleimide được thể hiện trong các Fig.1 và 2.

Dược phẩm chứa thể tiếp hợp được chất-kháng thể theo sáng chế và sử dụng dược phẩm này

Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa thể tiếp hợp được chất theo sáng chế và chất mang được dụng. Ví dụ về dạng dùng của thể tiếp hợp được chất có công thức tổng quát $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]_n-Ab$ theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở đường miệng, khu trú, ngoài đường tiêu hóa, dưới lưỡi, trực tràng, âm đạo, mắt và qua mũi. Đường đưa thuốc ngoài đường tiêu hóa bao gồm tiêm dưới da, tiêm tĩnh mạch, trong cơ, trong xương ức hoặc kỹ thuật truyền. Tốt hơn nếu chế phẩm được dụng ngoài đường tiêu hóa. Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế để cho phép thể tiếp hợp được chất theo sáng chế có độ sinh khả dụng trong quá trình sử dụng dược phẩm cho động vật, tốt hơn nếu người. Chế phẩm có thể được dụng ở dạng một hoặc nhiều đơn vị liều, trong đó ví dụ, viên nén có thể là đơn vị liều riêng lẻ, và đồ chứa chứa thể tiếp hợp được chất-kháng thể theo sáng chế ở dạng khí dung có thể giữ nhiều đơn vị liều.

Chất mang được dụng hoặc tá dược lỏng có thể có mặt, sao cho chế phẩm, ví dụ, ở dạng viên nén hoặc dạng bột. Chất mang có thể là dạng lỏng, với chế phẩm, ví dụ, là sirô dùng theo đường miệng hoặc dạng lỏng dùng để tiêm. Ngoài ra, chất mang có thể là khí, để tạo ra chế phẩm khí dung hữu ích, ví dụ, dùng để xông hít. Thuật ngữ “chất mang” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ chất pha loãng, chất hỗ trợ hoặc tá dược, với thể tiếp hợp được chất-kháng thể theo sáng chế được cấp. Các chất mang được dụng này có thể là dạng lỏng, như nước và dầu, bao gồm dầu mỏ, có nguồn gốc động vật, thực vật hoặc tổng hợp, như dầu lạc, dầu đậu nành, dầu khoáng, dầu hạt vừng và các dầu tương tự. Chất mang có thể là nước muối, gồm acacia, gelatin, tinh bột dạng bột nhão, bột talc, keratin, silic dioxyt keo, ure, và các loại tương tự. Ngoài ra, chất phụ trợ, chất làm ổn định, chất làm đặc, chất làm trơn và chất tạo màu có thể được sử dụng. Theo một phương án, khi được dụng cho động vật, thể tiếp hợp được chất kháng thể theo sáng chế hoặc chế phẩm và chất mang được dụng là vô trùng. Nước là chất mang được ưu tiên khi thể tiếp hợp được chất kháng thể theo sáng chế được sử dụng qua đường tiêm tĩnh mạch. Dung dịch nước muối và dung dịch nước dextroza và glyxerol cũng có thể được sử dụng làm các chất mang lỏng, đặc biệt là các dung dịch dùng để tiêm. Các chất mang được dụng thích hợp cũng bao gồm các tá dược như tinh bột, glucoza, lactoza, sucroza, gelatin, mạch nha, bột gạo, bột mì, đá phấn, silicagel, natri stearat, glyxerol monostearat, bột talc, natri clorua, sữa tách kem khô, glyxerol, propylen, glycol, nước, etanol và the like. Chế phẩm theo

sáng chế, nếu muốn, có thể còn chứa các lượng nhỏ chất làm ẩm hoặc chất tạo nhũ tương, hoặc chất đệm pH.

Khi sử dụng qua đường miệng, tốt hơn nếu chế phẩm ở dạng rắn hoặc lỏng, trong đó dạng bán rắn, bán lỏng, hỗn dịch và gel được bao hàm ở các dạng trong bản mô tả này ở dạng rắn hoặc lỏng.

Đối với chế phẩm rắn để dùng qua đường miệng, chế phẩm có thể được bào chế thành bột, hạt, viên nén đã ép, tạo hạt, viên nang, gôm nhai, bánh quế hoặc dạng tương tự. Chế phẩm rắn như vậy thường chứa một hoặc nhiều chất pha loãng trơ. Ngoài ra, một hoặc nhiều thành phần sau có thể có mặt: chất kết dính như carboxymethylxenluloza, etyl xenluloza, xenluloza dạng vi tinh thể, hoặc gelatin; các tá dược như tinh bột, lactoza hoặc dextrin, chất gây rã như axit alginic, natri alginat, tinh bột ngô và các loại tương tự; chất làm trơn như magie stearat; tá dược chảy như silic dioxit keo; chất làm ngọt như sucroza hoặc sacarin; chất tạo hương như bạc hà, metyl salixilat hoặc chất tạo hương cam; và chất tạo màu.

Khi chế phẩm ở dạng viên nang (ví dụ, viên nang gelatin), thì ngoài các loại chất liệu nêu trên, nó có thể chứa chất mang lỏng như polyetylen glycol, xyclodextrin hoặc dầu béo.

Chế phẩm có thể ở dạng lỏng, ví dụ, cồn ngọt, sirô, dung dịch, nhũ tương hoặc hỗn dịch. Chế phẩm lỏng có thể là hữu ích để dùng qua đường miệng hoặc để phân phối bằng cách tiêm. Khi sử dụng qua đường miệng, chế phẩm có thể bao gồm một hoặc nhiều chất làm ngọt, chất bảo quản, chất nhuộm/chất tạo màu và chất tăng cường mùi hương. Trong chế phẩm để dùng bằng cách tiêm, một hoặc nhiều chất hoạt động bề mặt, chất bảo quản, chất thấm ướt, chất phân tán, chất tạo hỗn dịch, chất đệm, chất làm ổn định và chất đẳng trương cũng có thể được bao gồm.

Đường đưa thuốc được ưu tiên là đường đưa thuốc ngoài đường tiêu hóa bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, trong da, trong cơ, trong màng bụng (IP), tĩnh mạch, dưới da, qua mũi, trên màng cứng, qua mũi, trong não, trong não thất, trong vỏ, trong âm đạo hoặc da. Cách dùng được ưu tiên thay đổi tùy vào thầy thuốc, và cũng phụ thuộc một phần vào vị trí của tình trạng bệnh lý (như vị trí của bệnh ung thư). Theo một phương án ưu tiên khác, thể tiếp hợp được chất-kháng thể theo sáng chế được sử dụng qua đường tiêm tĩnh mạch.

Chế phẩm lỏng theo sáng chế, mà chúng là các dung dịch, hỗn dịch hoặc dạng tương tự khác, có thể cũng bao gồm một hoặc nhiều thành phần sau: chất pha loãng vô trùng như nước dùng để tiêm, dung dịch nước muối, tốt hơn nếu nước muối sinh lý, dung dịch Ringer, dung dịch natri clorua đẳng trương, dầu ổn định như mono hoặc diglyxerit tổng hợp, polyetylen glycol, glyxerin, hoặc các dung môi khác; các chất kháng khuẩn như rượu benzylic hoặc metyl paraben; và chất điều chỉnh tính trương như natri clorua hoặc dextroza. Chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa có thể được kèm theo trong ống thuốc tiêm, bơm tiêm dùng ngay hoặc lọ đa liều bằng thủy tinh, chất dẻo hoặc chất liệu khác. Nước muối sinh lý là chất bổ trợ được ưu tiên.

Lượng thể tiếp hợp được chất theo sáng chế là đủ để điều trị rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý cụ thể sẽ phụ thuộc vào bản chất của rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý, và có thể được xác định bằng kỹ thuật lâm sàng tiêu chuẩn. Ngoài ra, các thử nghiệm *in vitro* hoặc *in vivo* có thể tùy ý được sử dụng để hỗ trợ cho việc xác định khoảng liều tối ưu. Liều chính xác cần dùng trong chế phẩm cũng sẽ phụ thuộc vào đường đưa thuốc, và mức độ trầm trọng của bệnh hoặc rối loạn, và cần được quyết định theo quyết định của thầy thuốc và tình trạng của mỗi đối tượng bị bệnh.

Chế phẩm chứa lượng hữu hiệu của thể tiếp hợp được chất theo sáng chế sao cho thu được liều thích hợp. Liều chính xác của các hợp chất phụ thuộc vào chế phẩm cụ thể, đường đưa thuốc, và vị trí cụ thể của nó, vật chủ và bệnh cần điều trị, ví dụ bệnh ung thư và, trong trường hợp này, loại khối u. Các yếu tố khác như tuổi tác, thể trọng, giới tính, chế độ ăn uống, thời gian dùng, tốc độ bài tiết, tình trạng bệnh lý của vật chủ, dạng kết hợp được chất, tính nhạy cảm phản ứng và mức độ nghiêm trọng của bệnh liên quan. Việc dùng có thể được thực hiện một cách liên tục hoặc định kỳ trong liều dung nạp tối đa.

Thông thường, lượng này ít nhất là khoảng 0,01% thể tiếp hợp được chất theo sáng chế theo khối lượng chế phẩm. Khi sử dụng qua đường miệng, lượng này có thể thay đổi nằm trong khoảng từ 0,1% đến 80% khối lượng chế phẩm. Tốt hơn nếu chế phẩm dùng theo đường miệng có thể chứa thể tiếp hợp được chất theo sáng chế ở hàm lượng nằm trong khoảng từ 4% đến 50% khối lượng.

Tốt hơn nếu chế phẩm theo sáng chế được điều chế sao cho đơn vị liều dùng ngoài đường tiêu hóa chứa chứa thể tiếp hợp được chất theo sáng chế ở hàm lượng nằm trong khoảng từ 0,01 % đến 2% khối lượng.

Để sử dụng qua đường tiêu tĩnh mạch, chế phẩm có thể thường bao gồm từ 0,1 mg/kg đến 250 mg/kg thể trọng của động vật, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 0,1 mg/kg đến khoảng 20 mg/kg thể trọng của động vật, và tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 1 mg/kg đến 10 mg/kg thể trọng của động vật.

Thể tiếp hợp được chất theo sáng chế hoặc chế phẩm có thể được dùng theo đường thông thường bất kỳ, ví dụ, bằng cách truyền hoặc tiêm liều cao, bằng cách hấp thu qua lớp biểu mô hoặc niêm mạc da.

Theo các phương án cụ thể, mong muốn có thể dùng một hoặc nhiều thể tiếp hợp được chất theo sáng chế hoặc chế phẩm khu trú ở khu vực cần điều trị. Theo một phương án, việc dùng có thể là tiêm trực tiếp tại vị trí (hoặc vị trí trước đó) của bệnh ung thư, khối u hoặc mô mới bị bệnh ung thư hoặc bị bệnh ung thư trước đó. Theo phương án khác, việc dùng có thể là tiêm trực tiếp tại vị trí (hoặc vị trí trước đó) xuất hiện bệnh tự miễn.

Việc dùng cho phổi cũng có thể được sử dụng, ví dụ, bằng cách sử dụng máy xông hoặc máy phun mù, và chế phẩm chứa chất tạo khí dung, hoặc bằng cách truyền dịch trong flocacbon hoặc chất hoạt động bề mặt tổng hợp dùng cho phổi. Theo một số phương án nhất định, thể thể tiếp hợp được chất kháng theo sáng chế hoặc chế phẩm có thể được bào chế ở dạng viên đạn, chứa chất kết dính và chất mang quy ước như triglycerit.

Chế phẩm theo sáng chế có thể được dùng ở dạng dung dịch, hỗn dịch, nhũ tương, viên nén, tạo hạt, tạo hạt, viên nang, viên nang chứa các chất lỏng, bột, chế phẩm giải phóng kéo dài, thuốc đạn, nhũ tương, dạng khí dung, dạng phun xịt, hỗn dịch, hoặc dạng khác bất kỳ thích hợp để sử dụng. Ví dụ khác về các chất mang được dùng thích hợp được mô tả trong "Remington's Pharmaceutical Sciences" bởi E. W. Martin.

Dược phẩm có thể được bào chế bằng cách sử dụng phương pháp đã biết trong lĩnh vực dược phẩm. Ví dụ, chế phẩm được dự định để dùng bằng cách tiêm có thể được bào chế bằng cách kết hợp thể tiếp hợp được chất theo sáng chế với nước để tạo ra dung

dịch. Chất hoạt động bề mặt có thể được bổ sung để tạo điều kiện thuận lợi cho việc tạo ra dung dịch hoặc hỗn dịch đồng nhất.

Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng thể tiếp hợp được chất và chế phẩm theo sáng chế đặc biệt là hữu hiệu để điều trị bệnh ung thư.

Do đó, như đã nêu trên, khía cạnh thứ sáu của sáng chế mô tả phương pháp điều trị cho đối tượng bị bệnh có nhu cầu cần điều trị, đặc biệt là người, mắc bệnh ung thư bao gồm bước dùng cho cá thể mắc bệnh lượng hữu hiệu điều trị của thể tiếp hợp được chất hoặc chế phẩm theo sáng chế. Khía cạnh thứ tư của sáng chế đề cập đến thể tiếp hợp được chất theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế dùng để điều trị bệnh ung thư, và tốt hơn nữa nếu bệnh ung thư được chọn từ bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư trực tràng, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư biểu mô tụy, bệnh ung thư thận, bệnh ung thư bạch cầu, đa u tủy và u bạch huyết.

Thể tiếp hợp được chất và chế phẩm theo sáng chế là hữu ích để ức chế sự khuếch đại của tế bào của khối u hoặc tế bào ung thư, hoặc để điều trị bệnh ung thư ở động vật. Do đó, thể tiếp hợp được chất và chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng trong nhiều trường hợp để điều trị bệnh ung thư ở động vật. Thể tiếp hợp theo sáng chế bao gồm gốc liên kết với được chất chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên có thể được sử dụng để phân phối được chất hoặc đơn vị được chất tới tế bào của khối u hoặc tế bào ung thư. Không gán bởi giả thuyết bất kỳ, theo một phương án, gốc này chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên của thể tiếp hợp được chất theo sáng chế gắn kết với hoặc liên hợp với kháng nguyên của tế bào ung thư hoặc tế bào của khối u, và thể tiếp hợp được chất theo sáng chế có thể được hấp thu bên trong tế bào của khối u hoặc tế bào ung thư thông qua quá trình nhập bào qua thụ thể. Kháng nguyên có thể được gắn vào tế bào của khối u hoặc tế bào ung thư hoặc có thể là protein nền ngoại tế liên quan đến tế bào của khối u hoặc tế bào ung thư. Ngay khi vào bên trong tế bào, một hoặc nhiều trình tự đặc hiệu trong đơn vị liên kết được phân cắt thủy phân bằng một hoặc nhiều proteaza hoặc hydrolaza liên quan đến tế bào của khối u hoặc tế bào ung thư, dẫn đến giải phóng được chất hoặc hợp chất liên kết với được chất. Sau đó, được chất hoặc hợp chất liên kết với được chất đã được giải phóng được di chuyển tự do trong tế bào và tạo ra hoạt tính gây độc tế bào. Theo phương án khác, được chất hoặc đơn vị được chất được phân giải ra khỏi thể tiếp hợp được chất theo sáng chế nằm ngoài tế bào của khối u hoặc tế bào ung thư, và sau đó, được chất hoặc hợp chất liên kết với được chất thấm vào tế bào.

Theo một phương án, gốc này chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên gắn kết với tế bào của khối u hoặc tế bào ung thư. Theo phương án khác, gốc này chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên gắn kết với tế bào của khối u hoặc kháng nguyên của tế bào ung thư nằm trên bề mặt tế bào của khối u hoặc tế bào ung thư. Vẫn theo phương án khác, gốc này chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên gắn kết với tế bào của khối u hoặc kháng nguyên của tế bào ung thư là protein nền ngoại bào liên quan đến tế bào của khối u hoặc tế bào ung thư.

Tính đặc hiệu của gốc này chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên đối với tế bào của khối u hoặc tế bào ung thư cụ thể có thể là quan trọng để xác định các khối u hoặc bệnh ung thư cần được điều trị một cách hiệu quả nhất. Ví dụ, thể tiếp hợp được chất theo sáng chế có đơn vị Trastuzumab có thể là hữu ích để điều trị bệnh ung thư biểu mô dương tính với kháng nguyên bao gồm bệnh ung thư bạch cầu, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư ruột kết, u bạch huyết (ví dụ, bệnh dạng Hodgkin, u bạch huyết không phải dạng Hodgkin), các khối u rắn như, bệnh sacôm và bệnh ung thư biểu mô, đa u tủy, bệnh ung thư thận và u melanin. Tốt hơn nếu bệnh ung thư có thể là bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư trực tràng, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư biểu mô tụy, bệnh ung thư thận, bệnh ung thư bạch cầu, đa u tủy, u bạch huyết hoặc bệnh ung thư buồng trứng. Ví dụ, thể tiếp hợp được chất theo sáng chế có đơn vị Rituximab có thể là hữu ích để điều trị các khối u biểu hiện CD-20 như bệnh ung thư máu bao gồm bệnh bạch cầu và u bạch huyết. Ví dụ, thể tiếp hợp được chất theo sáng chế có đơn vị kháng thể kháng CD4 có thể là hữu ích để điều trị các khối u biểu hiện CD-4 như bệnh ung thư máu bao gồm u bạch huyết. Ví dụ, thể tiếp hợp được chất theo sáng chế có đơn vị kháng thể kháng CD5 có thể là hữu ích để điều trị các khối u biểu hiện CD-5 như bệnh ung thư máu bao gồm bệnh bạch cầu và u bạch huyết. Ví dụ, thể tiếp hợp được chất theo sáng chế có đơn vị kháng thể kháng CD13 có thể là hữu ích để điều trị các khối u biểu hiện CD-13 như bệnh ung thư máu bao gồm bệnh bạch cầu và u bạch huyết.

Các loại bệnh ung thư cụ thể khác có thể được điều trị bằng thể tiếp hợp được chất theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh ung thư máu-tủy xương bao gồm tất cả các dạng của bệnh bạch cầu; u bạch huyết, như bệnh dạng Hodgkin, u bạch huyết không phải dạng Hodgkin và đa u tủy.

Cụ thể, thể tiếp hợp được chất và chế phẩm theo sáng chế có hoạt tính vượt trội để điều trị bệnh ung thư như bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư trực tràng, bệnh ung thư vú,

bệnh ung thư biểu mô tụy, bệnh ung thư thận, bệnh ung thư bạch cầu, đa u tủy, u bạch huyết và bệnh ung thư buồng trứng.

Thể tiếp hợp được chất và chế phẩm theo sáng chế tạo quá trình tiếp hợp đích tới khối u hoặc bệnh ung thư cụ thể, nhờ đó làm giảm độc tính thường gặp của các thể tiếp hợp này. Các đơn vị liên kết làm ổn định thể thể tiếp hợp được chất kháng trong máu, còn có thể phân cắt bởi proteaza và hydrolaza đặc hiệu khối u trong tế bào, giải phóng được chất.

Thể tiếp hợp được chất và chế phẩm theo sáng chế có thể được dùng cho động vật cũng đã tiến hành phẫu thuật làm phép trị liệu cho bệnh ung thư. Theo một phương án của sáng chế, phương pháp điều trị khác là trị liệu bức xạ.

Trong phương án cụ thể của sáng chế, thể tiếp hợp được chất hoặc chế phẩm theo sáng chế được dùng đồng thời với tác nhân hóa trị liệu hoặc với trị liệu bức xạ. Theo phương án cụ thể khác, tác nhân hóa trị liệu hoặc trị liệu bức xạ được dùng trước hoặc sau khi dùng thể tiếp hợp được chất hoặc chế phẩm theo sáng chế, tốt hơn nếu ít nhất một giờ, năm giờ, 12 giờ, ngày, tuần, tháng, tốt hơn nữa nếu một vài tháng (ví dụ, tối đa ba tháng), trước hoặc sau khi dùng thể tiếp hợp được chất-kháng thể hoặc chế phẩm theo sáng chế.

Tác nhân hóa trị liệu có thể được dùng trong một loạt các giai đoạn, một hoặc dạng kết hợp bất kỳ của các tác nhân hóa trị liệu đã biết trong lĩnh vực này có thể được dùng.

Đối với bức xạ, quá trình trị liệu bức xạ có thể được sử dụng tùy thuộc vào loại bệnh ung thư cần được điều trị. Ví dụ, nhưng theo cách không giới hạn, bức xạ tia X có thể được cấp; cụ thể, điện thế mega năng lượng cao (bức xạ ở mức năng lượng lớn hơn 1 MeV) có thể được sử dụng cho khối u nằm sâu, và chùm điện tử và bức xạ tia X điện thế ortho có thể được sử dụng cho bệnh ung thư da. Các chất đồng vị phóng xạ phát tia X, như các chất đồng vị phóng xạ radii, coban và các nguyên tố khác, cũng có thể được dùng.

Theo khía cạnh thứ tám, sáng chế đề cập đến kit chứa lượng hữu hiệu điều trị của thể tiếp hợp được chất theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế và chất mang được dùng.

Theo một phương án, kit theo khía cạnh này được dùng để điều trị bệnh ung thư, và tốt hơn nữa nếu bệnh ung thư được chọn từ bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư trực

tràng, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư biểu mô tụy, bệnh ung thư thận, bệnh ung thư bạch cầu, đa u tủy, u bạch huyết và bệnh ung thư buồng trứng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế được mô tả chi tiết hơn thông qua các ví dụ không giới hạn dưới đây. Trong các ví dụ này, các chữ viết tắt sau được sử dụng:

CDI: 1,1'-carbonyldiimidazol

DIPEA: diisopropyletylamin

Hex: hexan

EtOAc: etyl axetat

DCM: diclometan

NMP: *N*-metyl-2-pyrolidon

DMF: đimetylformamit

EDC: *N*-(3-đimetylaminopropyl)-*N*'-etylcarbodiimit hydroclorua

EDTA: axit etylendiamintetraaxetic

MeOH: metanol

DTT: dithiotreitol

Py: pyridin

THF: tetrahydrofuran

TCEP: Tris[2-carboxyetyl]phosphin hydroclorua

MC: 6-maleimidocaproyl

Fmoc: 9-florenylmetoxycarbonyl

Cit: xitrulin

Val: valin

DMSO: đimetylsulfoxit

Trt: triphenylmetyl

HOBt: 1-hydroxybenzotriazol

DIPCDI: *N,N'*-diisopropylcarbodiimide

TFA: axit trifloaxetic

PABOH: rượu 4-aminobenzylic

bis-PNP: bis(4-nitrophenyl) cacbonat

NAC: *N*-Acetylxystein

SEC: phương pháp sắc ký loại cỡ

HPLC: sắc ký lỏng hiệu năng cao

ADC: thể tiếp hợp được chất-kháng thể

ATCC: ngân hàng giống và vi sinh vật Hoa Kỳ (American Type Culture Collection)

DMEM: môi trường Eagle được cải biến Dulbecco

RPMI: môi trường nuôi cấy Roswell Park Memorial Institute

ITS: Chất bổ sung môi trường insulin-transferin-natri selenit

FCS: Huyết thanh bào thai bò

SRB: sulforhodamin B

PBS: dung dịch nước muối đệm phosphat

DR: đáp ứng liều

UV: tia cực tím

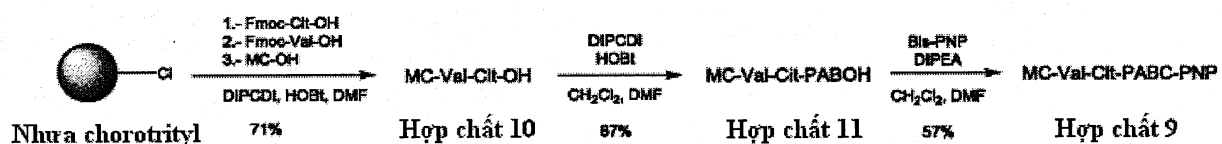
SMCC: Succinimidyl-4-(*N*-maleimidomethyl)xyclohexan-1-carboxylat

LAR: Tỷ lệ giữa nhóm liên kết và kháng thể

Ví dụ điều chế

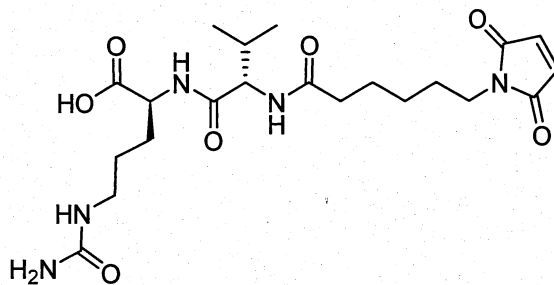
Điều chế hợp chất 9: MC-Val-Cit-PABC-PNP

Sơ đồ phản ứng



(a) Điều chế hợp chất 10: MC-Val-Cit-OH

Hợp chất 10



Cl-TrtCl-nhựa (20g, 1,49mmol/g) (Iris Biotech, Ref.: BR-1065, nhựa 2-clotrityl clorua (cỡ rây 200-400, 1% DVB, 1,0-1,6mmol/g), CAS 42074-68-0) được đặt vào đĩa lọc. DCM (100mL) được bổ sung vào nhựa này và hỗn hợp này được khuấy trong 1 giờ. Dung môi được loại bỏ bằng cách lọc trong chân không. Dung dịch chứa Fmoc-Cit-OH (11,83g, 29,78mmol) và DIPEA (17,15mL, 98,45mmol) trong DCM (80mL) được bổ sung và hỗn hợp này được khuấy trong 10 phút. Sau khi DIPEA (34,82mmol, 199,98mmol) được bổ sung và hỗn hợp này được khuấy trong 1 giờ. Phản ứng được kết thúc bằng cách bổ sung MeOH (30mL) sau khi khuấy trong 15 phút. Do đó, Fmoc-Cit-O-TrtCl-nhựa đã tạo ra được đưa vào quy trình rửa/xử lý sau: DCM (5 x 50mL x 0,5 phút), DMF (5 x 50mL x 0,5 phút), piperidin:DMF (1:4, 1 x 1 phút, 2 x 10 phút), DMF (5 x 50mL x 0,5 phút), DCM (5 x 50mL x 0,5 phút). Nước rửa piperidin cuối cùng tạo ra NH₂-Cit-O-TrtCl-nhựa. Nồng độ chất mang tính toán được: 1,15mmol/g.

NH₂-Cit-O-TrtCl-nhựa thu được nêu trên được rửa bằng DMF (5 x 50mL x 0,5 phút) và dung dịch chứa Fmoc-Val-OH (31,22g, 91,98mmol), HOBt (11,23g, 91,98mmol) trong DMF (100mL) được bổ sung vào tNH₂-Cit-O-TrtCl-nhựa, được khuấy và DIPCDI (14,24mL, 91,98mmol) được bổ sung và hỗn hợp này được khuấy trong 1,5 giờ. Phản ứng được kết thúc bằng cách rửa bằng DMF (5 x 50mL x 0,5 phút). Do đó, Fmoc-Val-Cit-O-TrtCl-nhựa đã tạo ra được xử lý bằng piperidin:DMF (1:4, 1 x 1 phút, 2 x 10 phút) và rửa bằng DMF (5 x 50mL x 0,5 phút). Nước rửa piperidin cuối cùng thu được NH₂-Val-Cit-O-TrtCl-nhựa.

Dung dịch chứa axit 6-maleimidocaproic (MC-OH) (9,7g, 45,92mmol), HOBt (6,21g, 45,92mmol) trong DMF (100mL) được bổ sung vào NH₂-Val-Cit-O-TrtCl-nhựa thu được nêu trên, khuấy và DIPCDI (7,12mL, 45,92mmol) được bổ sung và hỗn hợp này

được khuấy trong 1,5 giờ. Phản ứng được kết thúc bằng cách rửa bằng DMF (5 x 50mL x 0,5 phút) và DCM (5 x 50mL x 0,5 phút).

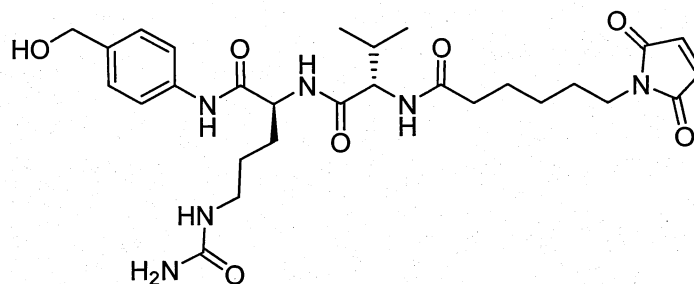
Peptit được phân giải từ nhựa bằng cách xử lý bằng TFA:DCM (1:99, 5 x 100mL). Nhựa được rửa bằng DCM (7 x 50mL x 0,5 phút). Phần dịch lọc đã thu gom được làm bay hơi đến khô trong điều kiện áp suất thấp và phần rắn thu được được nghiền bằng Et₂O và lọc để thu được hợp chất 10 (7,60g, 71%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,47 (s, 1H), 8,13 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 7,74 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,99 (s, 2H), 5,93 (s, 1H), 5,35 (s, 2H), 4,20 (dd, *J* = 9,0, 6,8 Hz, 1H), 4,15-4,07 (m, 1H), 3,36 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 3,00-2,88 (m, 2H), 2,21-2,12 (m, 1H), 2,11-2,03 (m, 1H), 1,98-1,86 (m, 1H), 1,74-1,62 (m, 1H), 1,61-1,50 (m, 1H), 1,50-1,31 (m, 6H), 1,21-1,11 (m, 2H), 0,84 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,80 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H).

ESI-MS *m/z*: Tính toán được đối với C₂₁H₃₃N₅O₇: 467,2. Thu được bằng thực nghiệm: 468,3 (M+H)⁺.

(b) Điều chế hợp chất 11: MC-Val-Cit-PABOH

Hợp chất 11



Bổ sung dung dịch chứa HOBt (0,92g, 6,84mmol) trong DMF (5mL) vào dung dịch chứa hợp chất 10 (1,6g, 3,42mmol) và rượu 4-aminobenzyl (PABOH) (0,84g, 6,84mmol) trong DCM (60mL). DIPCDI (1,05mL, 6,84mmol) được bổ sung vào, hỗn hợp phản ứng được khuấy trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ 23°C, Et₂O (150mL) được bổ sung vào, và phần rắn thu được được lọc trong đĩa lọc trong chân không để thu được hợp chất 11 (1,31g, 67%).

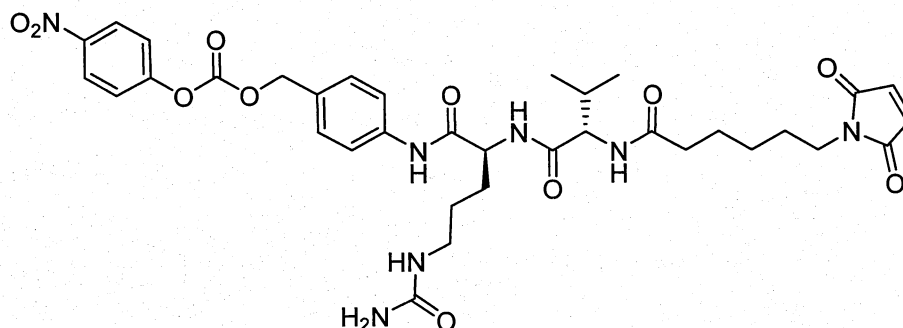
¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,88 (s, 1H), 8,03 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,77 (dd, *J* = 12,2, 8,5 Hz, 1H), 7,53 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,21 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 6,99 (s, 3H), 6,01-5,92 (m, 1H), 5,39 (s, 2H), 5,07 (s, 1H), 4,41 (s, 2H), 4,39-4,31 (m, 1H), 4,23-4,12 (m, 1H), 3,36 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 3,06-2,97 (m, 1H), 2,96-2,90 (m, 1H), 2,22-2,03 (m,

2H), 2,01-1,88 (m, 1H), 1,76-1,62 (m, 1H), 1,63-1,28 (m, 6H), 1,25-1,11 (m, 2H), 0,84 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 0,81 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H).

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $C_{28}H_{40}N_6O_7$: 572,3. Thu được bằng thực nghiệm: 573,3 ($M+H$)⁺.

(c) Điều chế hợp chất 9: MC-Val-Cit-PAB-PNP

Hợp chất 9



Bổ sung DIPEA (0,45mL, 2,61mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 11 (500mg, 0,87mmol) và bis(4-nitrophenyl) cacbonat (bis-PNP) (2,64g, 8,72mmol) trong DCM:DMF (8:2, 25mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong thời gian 20 giờ ở nhiệt độ 23°C và rót vào cột silicagel (DCM:CH₃OH, from 50:1 đến 10:1) để thu được hợp chất đích 9 tinh khiết (364mg, 57%).

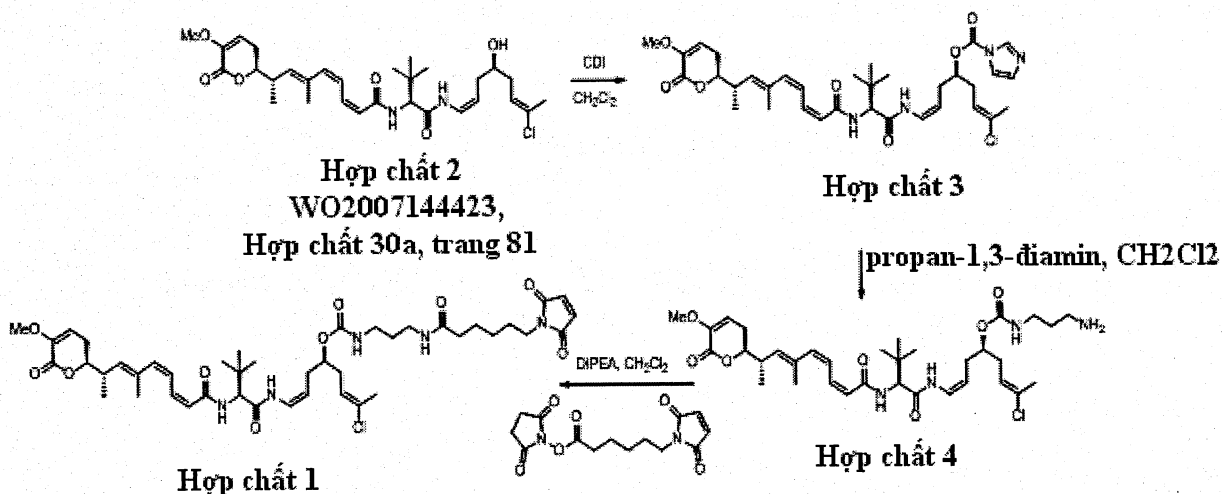
$R_f = 0,40$ (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃/CD₃OD): δ 9,45 (s, 1H), 8,23 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,59 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,35 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,34 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 6,65 (s, 2H), 5,20 (s, 2H), 4,56 (dt, $J = 10,5, 5,4$ Hz, 1H), 4,15 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 3,46 (dd, $J = 8,0, 6,4$ Hz, 2H), 3,16-2,89 (m, 2H), 2,21 (dd, $J = 8,3, 6,6$ Hz, 2H), 2,06-1,97 (m, 1H), 1,90-1,83 (m, 1H), 1,73-1,46 (m, 7H), 1,34-1,20 (m, 2H), 0,91 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H), 0,90 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃/CD₃OD) δ 174,4, 172,4, 171,1, 170,6, 160,5, 155,5, 152,5, 145,3, 138,7, 134,1, 129,9, 129,5, 125,2, 121,8, 120,0, 70,6, 59,0, 53,2, 37,5, 35,8, 30,6, 29,6, 29,3, 28,1, 26,2, 26,2, 25,1, 19,1, 18,1.

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $C_{35}H_{43}N_7O_{11}$: 737,3. Thu được bằng thực nghiệm: 738,3 ($M+H$)⁺.

Ví dụ 1: Điều chế hợp chất 1



(a) Điều chế hợp chất 3

Bổ sung 1,1'-carbonyldiimidazol (876mg, 5,4mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 2 (Hợp chất 30a, được điều chế như được mô tả trong WO 2007144423, được kết hợp vào sáng chế bằng cách viện dẫn) (1,014g, 1,8mmol) trong DCM (45mL). Sau khi khuấy ở nhiệt độ 23°C qua đêm, hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO₂, hỗn hợp Hex:EtOAc, nằm trong khoảng từ 99:1 đến 85:15) để thu được hợp chất 3 tinh khiết (1,176g, 86%).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8,39 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 8,12 (bs, 1H), 7,40 (bs, 1H), 7,30 (t, *J* = 11,5 Hz, 1H), 7,08 (bs, 1H), 6,91 (t, *J* = 12,0 Hz, 1H), 6,86 (t, *J* = 10,0 Hz, 1H), 6,22 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,18 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 5,67 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 5,63-5,61 (m, 2H), 5,28 (d, *J* = 11,5 Hz, 1H), 4,94-4,91 (m, 1H), 4,81-4,76 (m, 1H), 4,42 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 4,23-4,19 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 2,87-2,82 (m, 1H), 2,58-2,46 (m, 3H), 2,42-2,35 (m, 3H), 2,08 (s, 3H), 1,83 (s, 3H), 1,16 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 1,06 (s, 9H).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 168,5, 166,4, 161,5, 148,7, 145,2, 140,4, 137,6, 137,0, 134,4, 133,9, 133,0, 130,9, 124,2, 123,9, 121,0, 120,5, 117,03, 110,0, 108,1, 104,1, 81,7, 77,8, 60,4, 55,4, 37,2, 34,5, 26,6, 26,3, 21,0, 17,1, 16,6.

ESI-MS *m/z*: Tính toán được đôi với C₃₄H₄₅ClN₄O₇: 656,30. Thu được bằng thực nghiệm: 657,3 (M+H)⁺.

(b) Điều chế hợp chất 4

Bổ sung propan 1,3-điamin (0,19mL, 2,22mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 3 (1,160g, 1,78mmol) trong DCM (45mL), đã được điều chế như được mô tả trong bước (a) nêu trên. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C qua đêm, và sau đó được cô

trong chân không. Phần cần thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiNH_2 , $\text{DCM}:\text{CH}_3\text{OH}$, nằm trong khoảng từ 100:0 đến 97:3) để thu được hợp chất 4 tinh khiết (800mg, 68%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 8,90 (d, $J = 11,7$ Hz, 1H), 7,34-7,26 (m, 1H), 6,99-6,74 (m, 2H), 6,50 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 6,15 (d, $J = 12,9$ Hz, 1H), 5,83 (t, $J = 11,5$ Hz, 1H), 5,70 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H), 5,68-5,57 (m, 2H), 5,27 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 4,80 (q, $J = 8,3$ Hz, 1H), 4,52-4,44 (m, 2H), 4,24-4,17 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,39-3,17 (m, 2H), 2,93-2,82 (m, 1H), 2,78 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H), 2,50-2,34 (m, 2H), 2,34-2,24 (m, 2H), 2,19-1,99 (m, 2H), 2,06 (s, 3H), 1,84 (s, 3H), 1,72-1,50 (m, 2H), 1,16 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 1,04 (s, 9H).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 168,4, 166,1, 161,5, 156,7, 145,2, 139,9, 137,1, 134,0, 133,9, 131,8, 124,3, 124,2, 122,5, 120,9, 108,1, 105,5, 81,8, 74,3, 60,6, 55,4, 39,81, 39,30 37,2, 34,7, 33,1, 31,5, 29,6, 26,7, 26,2, 21,0, 17,1, 16,6.

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $\text{C}_{34}\text{H}_{51}\text{ClN}_4\text{O}_7$: 662,30. Thu được bằng thực nghiệm: 663,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

(c) Điều chế hợp chất 1

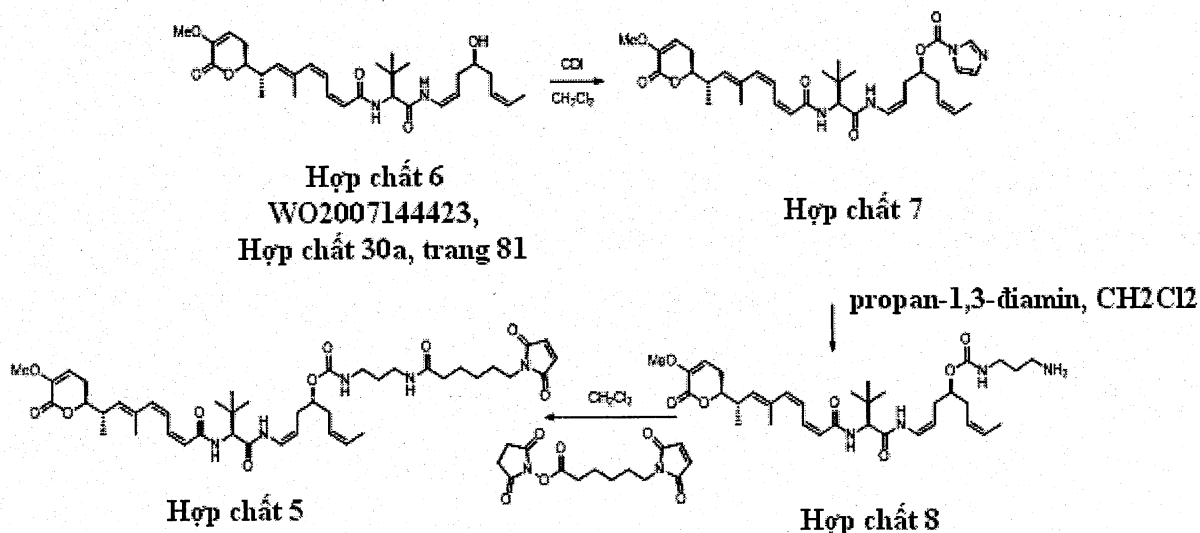
Bổ sung DIPEA (15 μL , 0,086mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 4 (52mg, 0,078mmol), đã được điều chế như được mô tả trong bước (b) nêu trên, và N-hydroxysuccinimide của axit 6-maleimidohexanoic (27,1mg, 0,088mmol) trong DCM (2mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C qua đêm và cô trong chân không. Phần cần thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO_2 , hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 1 tinh khiết (29,7mg, 44%).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 8,86 (d, $J = 10,8$ Hz, 1H), 7,30 (t, $J = 11,6$ Hz, 1H), 6,90 (td, $J = 11,5, 1,2$ Hz, 1H), 6,78 (t, $J = 9,7$ Hz, 1H), 6,68 (bs, 2H), 6,63 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 6,51 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H), 6,16 (d, $J = 11,8$ Hz, 1H), 5,76 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H), 5,72 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 5,65 (dd, $J = 6,4, 2,9$ Hz, 1H), 5,62-5,57 (m, 1H), 5,29 (d, $J = 11,1$ Hz, 1H), 4,81 (q, $J = 8,3$ Hz, 1H), 4,52-4,48 (m, 2H), 4,24 (ddd, $J = 11,4, 7,3, 4,3$ Hz, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,50 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H), 3,33-3,10 (m, 4H), 2,93-2,81 (m, 1H), 2,45-2,31 (m, 5H), 2,17 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 2,10-1,98 (m, 1H), 2,07 (s, 3H), 1,84 (s, 3H), 1,72-1,54 (m, 8H), 1,16 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 1,05 (s, 9H).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 173,8, 170,8, 168,3, 166,5, 161,6, 157,1, 145,1, 140,4, 137,5, 134,2, 134,1, 134,0, 131,9, 124,2, 124,0, 122,5, 120,6, 108,3, 106,0, 81,8, 74,5, 60,6, 55,4, 37,7, 37,6, 37,2, 36,3, 36,1, 34,7, 33,4, 31,0, 29,8, 28,3, 26,7, 26,3, 26,2, 25,6, 21,0, 17,2, 16,6.

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $\text{C}_{44}\text{H}_{62}\text{ClN}_5\text{O}_{10}$: 855,42. Thu được bằng thực nghiệm: 856,5 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 2: Điều chế hợp chất 5



(a) Điều chế hợp chất 7

Bổ sung 1,1'-carbonyldiimidazol (691mg, 4,26mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 6 (Hợp chất 30b, được điều chế như được mô tả trong WO 2007144423, được kết hợp vào sáng chế bằng cách viện dẫn) (750mg, 1,42mmol) trong DCM (35,5mL). Sau khi khuấy ở nhiệt độ 23°C qua đêm, hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO_2 , hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 7 tinh khiết (717mg, 81%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 8,24 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 8,09 (s, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,36-7,23 (m, 1H), 7,05 (s, 1H), 6,95-6,83 (m, 2H), 6,34 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 6,14 (d, $J = 11,8$ Hz, 1H), 5,74-5,57 (m, 3H), 5,43-5,34 (m, 1H), 5,28 (d, $J = 10,2$ Hz, 1H), 4,98-4,88 (m, 1H), 4,78 (q, $J = 7,8$ Hz, 1H), 4,47 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 4,25-4,16 (m, 1H), 3,64 (s, 3H), 2,92-2,76 (m, 1H), 2,59-2,37 (m, 6H), 1,83 (s, 3H), 1,64 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H), 1,14 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H), 1,03 (s, 9H).

(b) Điều chế hợp chất 8

Bổ sung propan 1,3-điamin (0,27mL, 3,24mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 7 (1,68g, 2,7mmol), đã được điều chế như được mô tả trong bước (a) nêu trên, trong DCM (80mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C qua đêm và cô trong chân không. Phần rắn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO₂, DCM:CH₃OH, nằm trong khoảng từ 100:0 đến 97:3) để thu được hợp chất 8 (854mg, 50%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8,90 (d, *J* = 11,7 Hz, 1H), 7,39-7,18 (m, 1H), 6,92-6,84 (m, 2H), 6,50 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,15 (d, *J* = 12,9 Hz, 1H), 5,75-5,67 (m, 2H), 5,66-5,54 (m, 2H), 5,46-5,33 (m, 1H), 5,26 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 4,83 (q, *J* = 8,3 Hz, 1H), 4,50-4,48 (m, 2H), 4,30-4,04 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,39-3,17 (m, 2H), 2,93-2,82 (m, 1H), 2,78 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H), 2,50-2,34 (m, 3H), 2,34-2,24 (m, 2H), 2,19-1,99 (m, 1H), 1,83 (s, 3H), 1,72-1,50 (m, 2H), 1,62 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 1,16 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 1,04 (s, 9H).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 168,3, 166,2, 161,6, 157,1, 145,1, 139,9, 137,1, 134,0, 133,9, 126,9, 124,9, 124,2, 123,9, 120,9, 108,2, 106,3, 81,8, 75,0, 60,6, 55,4, 39,6, 37,2, 34,7, 32,8, 31,5, 31,1, 29,6, 26,7, 26,2, 17,1, 16,6, 12,9.

ESI-MS *m/z*: Tính toán được đối với C₃₄H₅₂N₄O₇: 628,4. Thu được bằng thực nghiệm: 629,5 (M+H)⁺.

(c) Điều chế hợp chất 5

Bổ sung N-hydroxysuccinimit este của axit 6-maleimidohehexanoic (88,3mg, 0,28mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 8 (150mg, 0,24mmol), được điều chế như được mô tả trong bước (b) nêu trên, trong DCM (8mL) ở nhiệt độ 23°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 18 giờ, và cô trong chân không. Phần rắn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO₂, hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 5 tinh khiết (75mg, 38%).

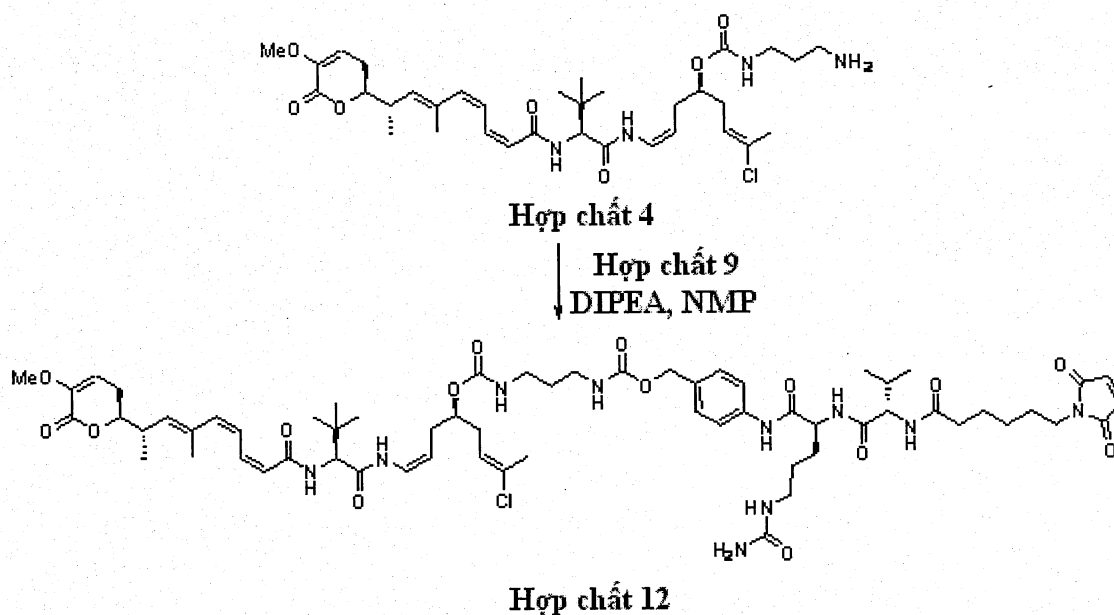
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8,87 (d, *J* = 10,7 Hz, 1H), 7,32-7,22 (m, 1H), 6,89 (t, *J* = 11,6 Hz, 1H), 6,78 (t, *J* = 9,7 Hz, 1H), 6,68 (s, 2H), 6,61 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 6,54 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H), 6,15 (d, *J* = 11,6 Hz, 1H), 5,77-5,51 (m, 2H), 5,64 (dd, *J* = 6,4, 3,0 Hz, 1H), 5,60-5,55 (m, 1H), 5,38 (ddd, *J* = 13,0, 8,8, 6,6 Hz, 1H), 5,28 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 4,83 (q, *J* = 8,3 Hz, 1H), 4,59-4,44 (m, 2H), 4,23 (ddd, *J* = 11,5, 7,2, 4,4 Hz, 1H), 3,65 (s, 3H), 3,49 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 3,29-3,12 (m, 4H), 2,87-2,81 (m, 1H), 2,48-2,32

(m, 5H), 2,18-2,09 (m, 3H), 1,88-1,82 (m, 1H), 1,83 (s, 3H), 1,67-1,55 (m, 7H), 1,62 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H), 1,15 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H), 1,04 (s, 9H).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 173,6, 170,8, 168,2, 166,4, 161,6, 157,4, 145,2, 140,2, 137,4, 134,2, 134,1, 134,0, 127,0, 124,9, 123,9, 120,7, 108,3, 106,5, 81,8, 75,3, 60,6, 55,4, 37,7, 37,6, 37,2, 36,3, 36,0, 34,7, 31,8, 31,6, 31,1, 29,9, 28,3, 26,7, 26,4, 26,2, 25,2, 22,6, 17,2, 16,6.

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $\text{C}_{44}\text{H}_{63}\text{N}_5\text{O}_{10}$: 821,5. Thu được bằng thực nghiệm: 822,4 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 3: Điều chế hợp chất 12



(a) Điều chế hợp chất 12

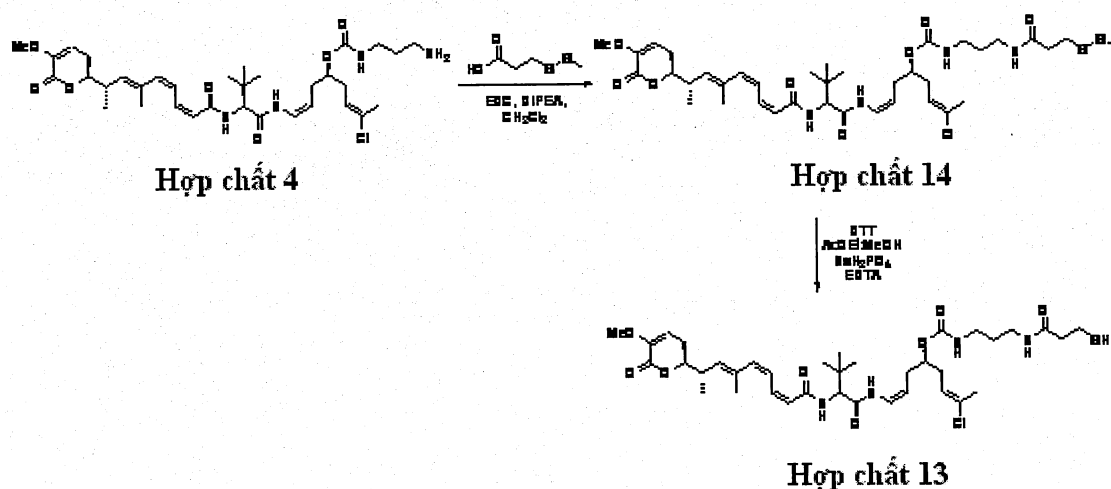
DIPEA (25 μL , 0,14mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa hợp chất 9 (94,5mg, 0,13mmol), đã được điều chế như được thể hiện trong ví dụ điều chế nêu trên, và Hợp chất 4 (85mg, 0,13mmol), đã được điều chế như được mô tả trong ví dụ 1(b) nêu trên, trong NMP (6,5mL) ở nhiệt độ 23°C. Sau 9 giờ, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng H_2O và chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên Na_2SO_4 khan, lọc, và cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO_2 , DCM: CH_3OH , nằm trong khoảng từ 100:0 đến 90:10). Cuối cùng, hợp chất 12 (35,7mg, 22%) được tinh chế bằng HPLC bán điều chế (Symmetry C18, 7 μm , 19 x 150mm, gradien H_2O + CH_3CN , tốc độ dòng bằng 15mL/phút, phát hiện UV).

^1H NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): δ 7,49 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 7,22 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 7,19 (t, $J = 11,8$ Hz, 1H), 6,96 (dd, $J = 23,5, 8,9$ Hz, 1H), 6,84 (t, $J = 11,5$ Hz, 1H), 6,70-6,64 (m, 1H), 6,64 (s, 2H), 6,10 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 5,93 (t, $J = 6,2$ Hz, 1H), 5,82 (t, $J = 6,2$ Hz, 1H), 5,69 (d, $J = 11,4$ Hz, 1H), 5,61 (dd, $J = 6,3, 3,1$ Hz, 1H), 5,54 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 5,22 (d, $J = 9,7$ Hz, 1H), 4,96 (s, 2H), 4,75 (q, $J = 8,1$ Hz, 1H), 4,55-4,49 (m, 2H), 4,43-4,36 (m, 1H), 4,23-4,10 (m, 2H), 3,59 (s, 3H), 3,44 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 3,18-3,04 (m, 8H), 2,82-2,72 (m, 1H), 2,49-2,34 (m, 3H), 2,27 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H), 2,18 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,16-2,06 (m, 1H), 2,01-1,95 (m, 1H), 2,00 (s, 3H), 1,87-1,79 (m, 1H), 1,78 (s, 3H), 1,73-1,40 (m, 11H), 1,35-1,20 (m, 2H), 1,09 (d, $J = 10,0$ Hz, 3H), 0,96 (s, 9H), 0,87 (dd, $J = 6,8, 4,3$ Hz, 6H).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 174,1, 172,2, 171,0, 170,3, 168,8, 166,8, 162,1, 160,2, 157,0, 156,9, 144,9, 140,2, 137,7, 137,5, 134,0, 132,4, 131,7, 128,7, 124,0, 123,4, 122,4, 120,4, 119,8, 111,5, 108,6, 107,0, 81,9, 73,8, 68,6, 66,2, 60,3, 58,8, 55,4, 53,0, 37,6, 37,5, 37,1, 35,9, 34,6, 33,2, 30,6, 29,9, 29,2, 28,0, 26,5, 26,2, 26,0, 25,0, 22,6, 20,8, 19,1, 18,2, 17,04, 16,4.

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $\text{C}_{63}\text{H}_{89}\text{ClN}_{10}\text{O}_{15}$: 1260,6. Thu được bằng thực nghiệm: 1261,6 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 4: Điều chế hợp chất 13



(a) Điều chế hợp chất 14

Bổ sung *N*-(3-đimethylaminopropyl)-*N'*-etylcarbodiimide hydroclorua (EDC) (47,8mg, 0,22mmol) và *N,N'*-điisopropyletylamin (3,8 μL , 0,22mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 4 (110mg, 0,17mmol), đã được điều chế như được mô tả trong ví dụ 1(b) nêu

trên, và axit 3-(metyldisulfanyl)propanoic (34mg, 0,22mmol) trong DCM (5mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 6 giờ, pha loãng bằng H₂O và chiết bằng DCM. Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên Na₂SO₄ khan, lọc và cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO₂, hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 14 tinh khiết (123mg, 93%).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8,88 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H), 7,29-7,24 (m, 1H), 6,90 (t, *J* = 11,5 Hz, 1H), 6,82 (t, *J* = 9,1 Hz, 1H), 6,63 (t, *J* = 6,1 Hz, 1H), 6,49 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 6,16 (dd, *J* = 11,5, 1,5 Hz, 1H), 5,70 (d, *J* = 11,5 Hz, 1H), 5,68-5,51 (m, 3H), 5,29 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 4,81 (q, *J* = 8,2 Hz, 1H), 4,52 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 4,52-4,43 (m, 1H), 4,24 (ddd, *J* = 11,5, 7,3, 4,3 Hz, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,37-3,21 (m, 3H), 3,21-3,12 (m, 1H), 2,97 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,90-2,81 (m, 1H), 2,60 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,49-2,35 (m, 3H), 2,39 (s, 3H), 2,33 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,14-2,07 (m, 1H), 2,07 (s, 3H), 1,84 (s, 3H), 1,73-1,64 (m, 2H), 1,16 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 1,05 (s, 9H).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 171,6, 168,2, 166,4, 161,6, 157,2, 145,2, 140,3, 137,4, 134,2, 134,0, 131,9, 124,4, 124,1, 122,4, 120,7, 108,3, 105,6, 81,8, 74,8, 60,6, 60,4, 55,5, 37,8, 37,2, 36,2, 35,6, 34,7, 33,1, 31,0, 29,8, 26,7, 26,2, 23,0, 21,0, 17,2, 16,6.

(b) Điều chế hợp chất 13

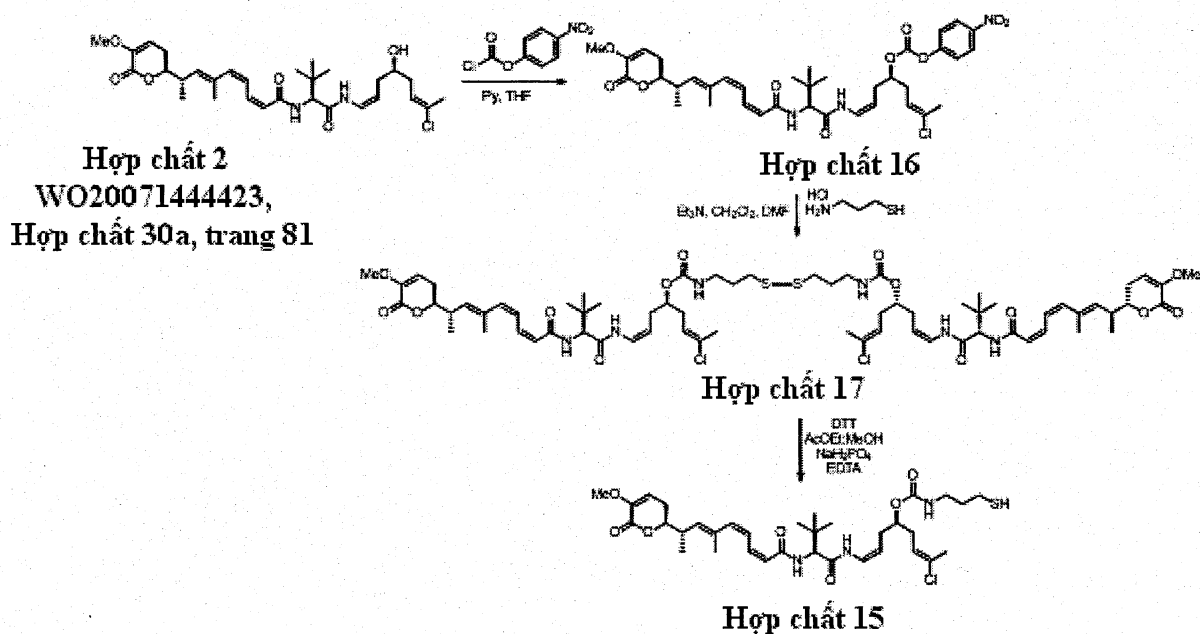
Dung dịch chứa hợp chất 14 (100mg, 0,125mmol), đã được điều chế như được mô tả trong bước (a) nêu trên, trong hỗn hợp chứa EtOAc (4,3mL) và CH₃OH (4,3mL) được xử lý bằng dung dịch chứa dithiotreitol (154,8mg, 1,0mmol) trong dung dịch đệm kali phosphat 0,05M (4,3mL) ở độ pH=7,5 chứa axit etylendiãmintetraaxetic (EDTA) 2mM. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 4 giờ. Phản ứng được xử lý bằng dung dịch chứa dung dịch đệm kali phosphat 0,2M (13mL) ở độ pH = 6,0 chứa EDTA 2mM, sau đó chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên Na₂SO₄ khan, lọc và cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO₂, hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 13 tinh khiết (35mg, 37%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8,91 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H), 7,27-7,24 (m, 1H), 6,91 (t, *J* = 11,5 Hz, 1H), 6,82 (t, *J* = 9,7 Hz, 1H), 6,67 (t, *J* = 6,1 Hz, 1H), 6,49 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 6,16 (d, *J* = 11,6 Hz, 1H), 5,71 (d, *J* = 11,6 Hz, 1H), 5,66-5,57 (m, 3H), 5,29 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 4,84 (q, *J* = 8,3 Hz, 1H), 4,51 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 4,50-4,45 (m, 1H), 4,24-4,20 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,36-3,12 (m, 4H), 2,90-2,71 (m, 3H), 2,64-2,24 (m, 7H),

2,14-2,04 (m, 1H), 2,06 (s, 3H), 1,83 (s, 3H), 1,73-1,68 (m, 2H), 1,15 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H), 1,05 (s, 9H).

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $C_{37}H_{55}ClN_4O_8S$: 750,3. Thu được bằng thực nghiệm: 773,2 ($M+Na$)⁺.

Ví dụ 5: Điều chế hợp chất 15



(a) Điều chế hợp chất 16

Bổ sung pyridin (85 μ L, 1,06mmol) và 4-nitrophenyl cloformat (214,7mg, 1,06mmol) ở 0°C vào dung dịch chứa hợp chất 2 (Hợp chất 30a, được điều chế như được mô tả trong WO 2007144423, được kết hợp vào sáng chế bằng cách viện dẫn) (300mg, 0,53mmol) trong DCM (5mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 1,5 giờ, pha loãng bằng axit xitric 10% và chiết bằng DCM. Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên Na_2SO_4 khan, lọc và cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO_2 , hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 16 tinh khiết (307mg, 80%).

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 8,29 (d, $J = 9,2$ Hz, 2H), 8,08 (d, $J = 10,9$ Hz, 1H), 7,44 (d, $J = 9,1$ Hz, 2H), 7,27-7,22 (m, 1H), 6,92-6,83 (m, 2H), 6,20 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 6,17 (dd, $J = 11,6, 1,4$ Hz, 1H), 5,67-5,58 (m, 3H), 5,29 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H), 4,84 (q, $J = 8,2$ Hz, 1H), 4,77-4,72 (m, 1H), 4,41 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 4,22 (ddd, $J = 11,5, 7,5, 4,4$ Hz,

^1H), 3,67 (s, 3H), 2,89-2,82 (m, 1H), 2,54-2,33 (m, 6H), 2,10 (d, $J = 1,2$ Hz, 3H), 1,85 (d, $J = 1,3$ Hz, 3H), 1,17 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H), 1,02 (s, 9H).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 168,4, 166,1, 161,5, 155,3, 152,5, 145,5, 145,2, 140,4, 137,6, 134,3, 134,0, 133,2, 125,3, 124,4, 124,1, 121,8, 121,2, 120,4, 108,1, 104,6, 81,8, 79,1, 60,4, 55,5, 37,3, 34,7, 32,7, 30,1, 26,6, 26,3, 21,1, 17,2, 16,6.

(b) Điều chế hợp chất 17

Bổ sung hỗn dịch chứa 3-aminopropan-1-thiol hydroclorua (44,8mg, 0,26mmol) trong DCM (2,5mL), triethylamin (58 μL , 0,34mmol) và DMF (0,1mL) ở nhiệt độ 23°C vào dung dịch chứa hợp chất 16 (156,3mg, 0,21mmol) trong DCM (2,5mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 3 giờ, pha loãng bằng H_2O và chiết bằng DCM. Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên khan Na_2SO_4 , lọc và cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO_2 , hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 17 tinh khiết (80mg, 95%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 8,68 (d, $J = 10,6$ Hz, 1H), 7,28 (t, $J = 11,6$ Hz, 1H), 6,89 (t, $J = 11,5$ Hz, 1H), 6,76 (t, $J = 9,6$ Hz, 1H), 6,65 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 6,13 (d, $J = 11,7$ Hz, 1H), 5,87-5,51 (m, 4H), 5,28 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H), 4,77 (q, $J = 8,2$ Hz, 1H), 4,61-4,39 (m, 2H), 4,29-4,00 (m, 1H), 3,65 (s, 3H), 3,31-3,18 (m, 2H), 2,98-2,77 (m, 1H), 2,68 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 2,55-2,22 (m, 6H), 2,04 (s, 3H), 2,00-1,80 (m, 2H), 1,83 (s, 3H), 1,15 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 1,05 (s, 9H).

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $\text{C}_{68}\text{H}_{98}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{O}_{14}\text{S}_2$: 1356,6. Thu được bằng thực nghiệm: 1357,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

(c) Điều chế hợp chất 15

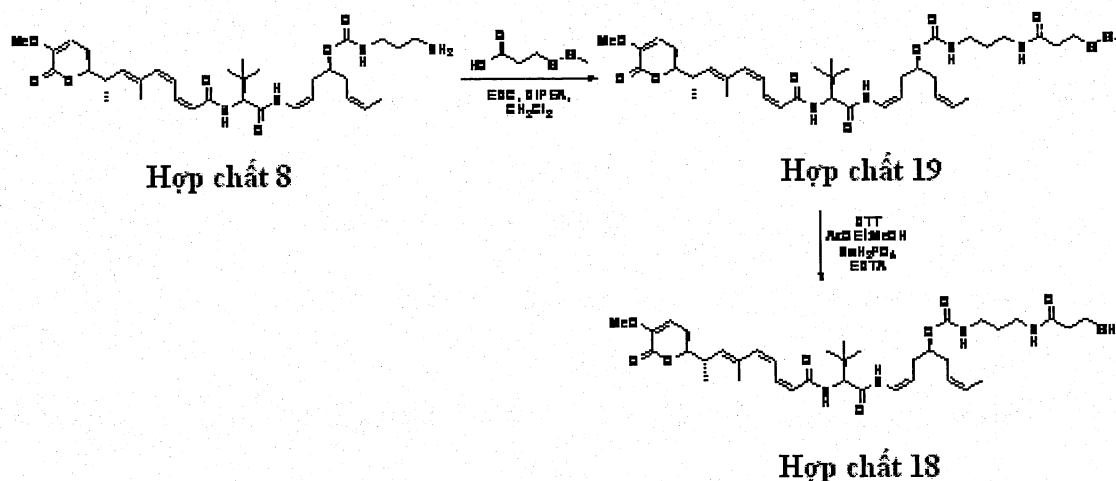
Dung dịch chứa hợp chất 17 (59,4mg, 0,044mmol) trong hỗn hợp chứa EtOAc (1,5mL) và CH_3OH (1,5mL) được xử lý bằng dung dịch dithiotreitol (0,35mL, 0,35mmol) trong dung dịch đệm kali phosphat 0,05M (1,5mL) ở độ pH = 7,5 chứa axit etylendiãmintetraaxetic (EDTA) 2mM. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 4 giờ. Phản ứng được xử lý bằng dung dịch chứa dung dịch đệm kali phosphat 0,2M ở độ pH = 6,0 chứa EDTA 2mM và chiết bằng EtOAc (x3). Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên Na_2SO_4 khan, lọc và cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO_2 , hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 15 đích tinh khiết (31mg, 59%).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 8,66 (d, $J = 10,7$ Hz, 1H), 7,29 (t, $J = 11,2$ Hz, 1H), 6,91 (t, $J = 11,5$ Hz, 1H), 6,83 (t, $J = 9,7$ Hz, 1H), 6,38 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 6,17 (d, $J = 11,8$ Hz, 1H), 5,70 (d, $J = 11,4$ Hz, 1H), 5,65-5,51 (m, 2H), 5,34 (t, $J = 6,3$ Hz, 1H), 5,29 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H), 4,82 (q, $J = 8,3$ Hz, 1H), 4,56-4,48 (m, 1H), 4,45 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 4,22 (ddd, $J = 11,4, 7,5, 4,3$ Hz, 1H), 3,67 (s, 3H), 3,31 (q, $J = 6,4$ Hz, 2H), 2,88-2,83 (m, 1H), 2,55 (q, $J = 7,7$ Hz, 2H), 2,47-2,30 (m, 5H), 2,12-2,07 (m, 1H), 2,08 (s, 3H), 1,88-1,76 (m, 5H), 1,17 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 1,06 (s, 9H).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 168,2, 166,2, 161,5, 156,7, 145,2, 140,2, 137,3, 134,2, 134,0, 132,0, 124,4, 124,2, 122,3, 120,8, 108,1, 105,5, 81,8, 74,5, 60,6, 55,4, 39,6, 37,3, 34,6, 33,9, 33,3, 30,8, 26,7, 26,3, 21,8, 21,1, 17,2, 16,7.

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{ClN}_3\text{O}_7\text{S}$: 679,3. Thu được bằng thực nghiệm: 702,4 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$.

Ví dụ 6: Điều chế hợp chất 18



(a) Điều chế hợp chất 19

Bổ sung *N*-(3-đimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimide hydrochlorua (EDC) (126mg, 0,58mmol) và *N,N'*-diisopropyletylamin (0,1mL, 0,58mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 8 (280mg, 0,45mmol), đã được điều chế như được mô tả trong ví dụ 2(b) nêu trên, và axit 3-(metyldisulfanyl)propanoic (88mg, 0,58mmol) trong DCM (7,5mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 3 giờ, pha loãng bằng H_2O và chiết bằng DCM. Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên Na_2SO_4 khan, lọc và cô trong chân không.

Phần cần thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO_2 , hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 19 tinh khiết (240mg, 71%).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 8,91 (d, $J = 10,8$ Hz, 1H), 7,34-7,20 (m, 1H), 6,89 (t, $J = 11,4$ Hz, 1H), 6,83-6,72 (m, 2H), 6,51 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 6,16 (d, $J = 11,3$ Hz, 1H), 5,70 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H), 5,64 (dd, $J = 6,1, 3,3$ Hz, 1H), 5,61-5,55 (m, 2H), 5,47-5,33 (m, 1H), 5,28 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 4,84 (q, $J = 8,3$ Hz, 1H), 4,51 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 4,52-4,47 (m, 1H), 4,27-4,19 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,37-3,21 (m, 3H), 3,21-3,12 (m, 1H), 2,96 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,90-2,81 (m, 1H), 2,60 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,43-2,35 (m, 5H), 2,39 (s, 3H), 2,16-2,04 (m, 1H), 1,84 (s, 3H), 1,70-1,61 (m, 5H), 1,16 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H), 1,05 (s, 9H).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 171,5, 168,1, 166,3, 157,4, 145,2, 140,3, 137,4, 134,2, 134,0, 127,0, 124,9, 124,0, 120,8, 108,3, 106,3, 81,8, 75,5, 60,6, 55,4, 53,4, 37,8, 37,2, 36,2, 35,9, 34,7, 33,1, 31,8, 31,2, 29,8, 26,7, 26,2, 23,0, 17,2, 16,6, 13,0.

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $\text{C}_{38}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}_2$: 763,4. Thu được bằng thực nghiệm: 762,4 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

(b) Điều chế hợp chất 18

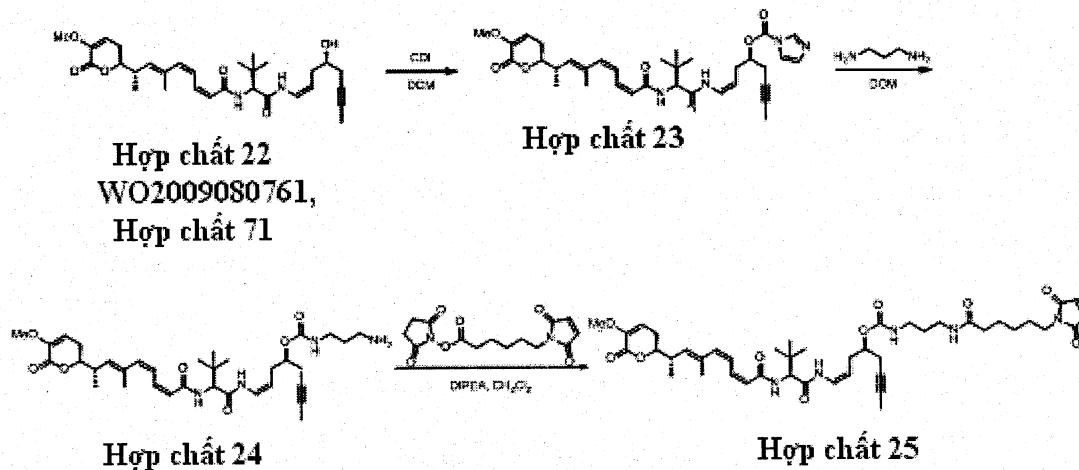
Dung dịch chứa hợp chất 19 (240mg, 0,31mmol), đã được điều chế như được mô tả trong bước (a) nêu trên, trong hỗn hợp chứa EtOAc (15mL) và CH_3OH (22mL) được xử lý bằng dung dịch dithiotreitol (0,79mL dung dịch 1,0M, 0,79mmol) trong dung dịch đệm kali phosphat 0,05M (17,4mL) ở độ pH = 7,5 chứa axit etylendiamintetraaxetic (EDTA) 2nM. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 4 giờ. Phản ứng được xử lý bằng dung dịch chứa dung dịch đệm kali phosphat 0,2M (21mL) ở độ pH = 6,0 chứa EDTA 2mM và chiết bằng etyl axetat. Lốp hữu cơ thu gom được làm khô trên Na_2SO_4 khan, lọc và cô trong chân không. Phần cần thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO_2 , hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 18 tinh khiết (105mg, 47%)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 8,93 (d, $J = 10,6$ Hz, 1H), 7,30-7,22 (m, 1H), 6,90 (t, $J = 11,6$ Hz, 1H), 6,86-6,72 (m, 2H), 6,48 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 6,16 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 5,70 (d, $J = 11,4$ Hz, 1H), 5,65-5,55 (m, 3H), 5,48-5,34 (m, 1H), 5,29 (d, $J = 9,9$ Hz, 1H), 4,84 (q, $J = 9,4, 8,7$ Hz, 1H), 4,52 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 4,57-4,44 (m, 1H), 4,32-4,17 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,39-3,20 (m, 3H), 3,22-3,09 (m, 1H), 2,90-2,75 (m, 3H), 2,50 (t, J

= 6,9, 2H), 2,45-2,28 (m, 5H), 2,16-2,08 (m, 1H), 1,83 (s, 3H), 1,72-1,65 (m 2H), 1,64 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H) 1,16 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H), 1,05 (s, 9H).

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $C_{37}H_{56}N_4O_8S$: 716,4. Thu được bằng thực nghiệm: 717,3 ($M+H$)⁺.

Ví dụ 7: Điều chế hợp chất 25



(a) Điều chế hợp chất 23

Bổ sung 1,1'-carbonyldiimidazol (308mg, 1,90mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 22 (333mg, 0,63mmol) (Hợp chất 71, đã được điều chế như được mô tả trong WO 2009080761, được kết hợp vào sáng chế bằng cách viện dẫn) trong CH_2Cl_2 (12,5mL). Sau khi khuấy ở nhiệt độ 23°C qua đêm, hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO_2 , hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 23 tinh khiết (344mg, 88%).

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 8,14 (s, 1H), 8,11 (d, $J = 10,8$ Hz, 1H), 7,43 (s, 1H), 7,28 (t, $J = 11,6$ Hz, 1H), 7,08 (dd, $J = 1,7, 0,9$ Hz, 1H), 6,96-6,81 (m, 2H), 6,26 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 6,17 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 5,66 (dt, $J = 11,4, 1,4$ Hz, 1H), 5,62 (dd, $J = 5,9, 3,5$ Hz, 1H), 5,28 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H), 5,04-4,89 (m, 1H), 4,80 (q, $J = 8,3$ Hz, 1H), 4,40 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 4,21 (ddd, $J = 10,3, 7,5, 5,3$ Hz, 1H), 3,65 (s, 3H), 2,91-2,78 (m, 1H), 2,68-2,49 (m, 3H), 2,45-2,31 (m, 2H), 1,89 (t, $J = 2,5$ Hz, 3H), 1,84 (s, 3H), 1,15 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H), 1,05 (s, 9H).

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $C_{34}H_{44}N_4O_7$: 620,32. Thu được bằng thực nghiệm: 621,3 ($M+H$)⁺.

(b) Điều chế hợp chất 24

Bổ sung propan 1,3-điamin (0,022mL, 0,26mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 23 (0,130g, 0,21mmol), đã được điều chế như được mô tả trong bước (a) nêu trên, trong CH_2Cl_2 (3,5mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 6 giờ và cô trong chân không. Phần rắn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO_2 , $\text{DCM}:\text{CH}_3\text{OH}$, nằm trong khoảng từ 100:0 đến 97:3) để thu được hợp chất 24 (120mg, 91%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 8,71 (d, $J = 10,7$ Hz, 1H), 7,28 (t, $J = 11,6$ Hz, 1H), 6,91-6,77 (m, 2H), 6,44 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 6,14 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 5,77-5,57 (m, 3H), 5,27 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H), 4,83 (q, $J = 8,3$ Hz, 1H), 4,57-4,53 (m, 1H), 4,46 (d, $J = 12,4$ Hz, 1H), 4,31-4,11 (m, 1H), 3,65 (s, 3H), 3,31-3,24 (m, 2H), 2,93-2,67 (m, 3H), 2,56-2,24 (m, 6H), 2,16 (s, 3H), 1,83 (s, 3H), 1,63 (dd, $J = 9,6, 3,5$ Hz, 2H), 1,15 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 1,04 (s, 9H).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 168,3, 166,1, 161,6, 156,5, 145,2, 140,0, 137,2, 134,1, 134,0, 124,3, 124,2, 120,9, 108,1, 106,0, 81,8, 78,4, 74,5, 73,2, 60,6, 55,4, 39,8, 39,2, 37,3, 34,8, 33,0, 30,9, 30,2, 26,7, 26,3, 17,2, 16,7, 3,6.

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_7$: 626,37. Thu được bằng thực nghiệm: 627,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

(c) Điều chế hợp chất 25

Bổ sung N-hydroxysuccinimide của axit 6-maleimidoheptanoic (21,6mg, 0,07mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 24 (40mg, 0,064mmol), đã được điều chế như được mô tả trong bước (b) nêu trên, trong CH_2Cl_2 (2mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C qua đêm và cô trong chân không. Phần rắn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO_2 , hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 25 tinh khiết (33,5mg, 64%).

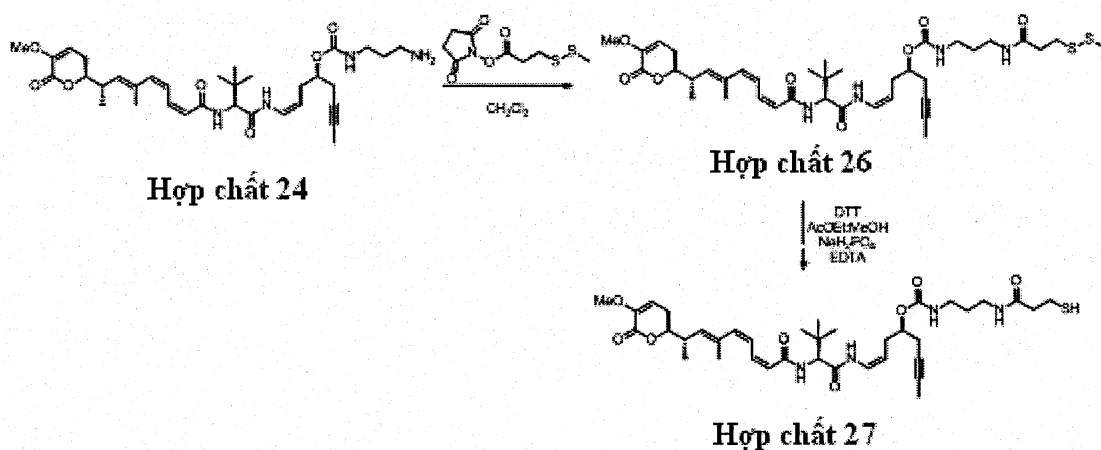
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,67 (d, $J = 10,7$ Hz, 1H), 7,29-7,23 (m, 1H), 6,90 (t, $J = 11,5$ Hz, 1H), 6,80 (t, $J = 9,6$ Hz, 1H), 6,68 (s, 2H), 6,46 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 6,42 (bs, 1H), 6,16 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 5,73-5,67 (m, 2H), 5,64 (dd, $J = 6,2, 3,1$ Hz, 1H), 5,30 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 4,86 (q, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,63-4,54 (m, 1H), 4,44 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 4,30-4,18 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,50 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 3,34-3,10 (m, 3H), 2,85 (dt, $J = 9,9, 6,9$ Hz, 1H), 2,54-2,37 (m, 4H), 2,36-2,28 (m, 1H), 2,16 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H),

1,84 (d, $J = 1,3$ Hz, 3H), 1,83-1,81 (m, 3H), 1,70-1,51 (m, 8H), 1,34-1,23 (m, 2H), 1,16 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 1,05 (s, 9H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 173,4, 170,8, 168,1, 166,4, 161,6, 157,0, 145,2, 140,3, 137,5, 134,3, 134,1, 133,9, 124,2, 120,7, 108,2, 106,2, 81,8, 78,4, 74,3, 73,5, 60,7, 55,4, 37,7, 37,6, 37,3, 36,4, 35,9, 34,6, 32,8, 30,3, 29,9, 28,3, 26,7, 26,4, 26,2, 25,4, 25,2, 24,4, 17,2, 16,6, 3,6.

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $\text{C}_{44}\text{H}_{61}\text{ClN}_5\text{O}_{10}$: 819,44. Thu được bằng thực nghiệm: 820,4 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 8: Điều chế hợp chất 27



(a) Điều chế hợp chất 26

Bổ sung *N*-hydroxysuccinimide este của axit 3-(metyldisulfanyl)propanoic (36,2mg, 0,12mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 24 (70mg, 0,11mmol), đã được điều chế như được mô tả trong ví dụ 7(b) nêu trên, trong CH_2Cl_2 (2mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 16 giờ và cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO_2 , hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 26 tinh khiết (46,3mg, 61%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,72 (d, $J = 10,8$ Hz, 1H), 7,29-7,19 (m, 1H), 6,90 (t, $J = 11,3$ Hz, 1H), 6,80 (t, $J = 9,7$ Hz, 1H), 6,69 (t, $J = 6,1$ Hz, 1H), 6,47 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 6,16 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 5,69 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H), 5,64 (dd, $J = 6,3, 3,1$ Hz, 1H), 5,30 (d, $J = 0,5$ Hz, 1H), 4,86 (q, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,60-4,54 (m, 1H), 4,46 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 4,23 (ddd, $J = 11,5, 7,4, 4,8$ Hz, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,33-3,22 (m, 3H), 3,19-3,14 (m, 1H), 2,96 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,66-2,54 (m, 1H), 2,59 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,48-2,42 (m,

5H), 2,40 (s, 3H), 2,38-2,28 (m, 1H) 1,83 (s, 3H), 1,82 (s, 3H), 1,73-1,64 (m, 2H), 1,16 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H), 1,05 (s, 9H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 171,5, 168,1, 166,4, 165,2, 157,0, 145,1, 140,4, 137,5, 134,3, 134,0, 124,20, 124,0, 120,7, 108,2, 106,2, 81,8, 78,4, 74,2, 73,6, 60,7, 55,4, 37,8, 37,3, 35,9, 34,6, 33,1, 30,3, 29,8, 26,7, 26,2, 24,4, 23,0, 17,2, 16,6, 3,6.

(b) Điều chế hợp chất 27

Dung dịch chứa hợp chất 26 (44,3mg, 0,064mmol), đã được điều chế như được mô tả trong bước (a) nêu trên, trong hỗn hợp chứa EtOAc (3,6mL) và CH_3OH (3,6mL) được xử lý bằng dung dịch chứa dithiotreitol (0,19mL dung dịch 1,0M, 0,19mmol) trong dung dịch đệm kali phosphat 0,05M (3,6mL) ở độ pH = 7,5 chứa axit etylendiamintetraaxetic (EDTA) 2nM. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 4 giờ. Phản ứng được xử lý bằng dung dịch chứa dung dịch đệm kali phosphat 0,2M (21mL) ở độ pH = 6,0 chứa EDTA 2mM và sau đó, được chiết bằng etyl axetat. Lốp hữu cơ thu gom được làm khô trên Na_2SO_4 khan, lọc và cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO_2 , hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 27 đích tinh khiết (33,6mg, 74%) dưới dạng chất rắn trắng.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 8,73 (d, $J = 10,7$ Hz, 1H), 7,27 (t, $J = 11,5$ Hz, 1H), 6,91 (td, $J = 11,5$, 1,1 Hz, 1H), 6,94-6,86 (m, 1H), 6,85-6,77(m, 1H), 6,43 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 6,17 (dd, $J = 12,0$, 1,6 Hz, 1H), 5,71 (d, $J = 11,4$ Hz, 1H), 5,65 (dd, $J = 6,5$, 2,9 Hz, 1H), 5,54 (t, $J = 6,3$ Hz, 1H), 5,30 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H), 4,84 (q, $J = 8,3$ Hz, 1H), 4,53 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 4,48-4,44 (m, 1H), 4,24 (ddd, $J = 11,5$, 7,3, 4,2 Hz, 1H), 3,67 (s, 3H), 3,336-3,22 (m, 3H), 3,21-3,10 (m, 1H), 2,89-2,84 (m, 1H), 2,80 (dt, $J = 8,2$, 6,8 Hz, 2H), 2,49 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,45-2,36 (m, 5H), 2,31-2,28 (m, 1H), 1,84 (s, 3H), 1,83 (s, 3H), 1,72-1,69 (m, 2H), 1,16 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H), 1,05 (s, 9H).

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $\text{C}_{37}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}$: 714,37. Thu được bằng thực nghiệm: 737,3 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$.

Ví dụ 9: Điều chế thể tiếp hợp kháng thể-dược chất ADC1 với Trastuzumab và hợp chất 1

(a) Khử một phần Trastuzumab để tạo ra Trastuzumab khử một phần (Hợp chất 20)

Dung dịch Trastuzumab (Trastuzumab được mua từ Roche dưới dạng bột đông khô màu trắng để điều chế dung dịch đậm đặc để truyền) (9,52mL, 200mg, $1,38\mu\text{mol}$)

được pha loãng thành nồng độ 5mg/mL bằng dung dịch đệm histidin/axetat 20nM (độ pH = 5,5, 30,5mL), tiếp đó điều chỉnh độ pH bằng dung dịch đệm phosphat/EDTA (độ pH = 8,4, 13mL). Quá trình khử một phần liên kết disulfua trong kháng thể này được thực hiện bằng cách bổ sung dung dịch tris[2-carboxyetyl]phosphin hydroclorua (TCEP) 5,17mM (689 μ L, 3,562 μ mol, 2,6 đương lượng). Phản ứng khử được khuấy trong 90 phút ở nhiệt độ 20°C. Ngay sau khử, thử nghiệm Ellman được thực hiện để xác định tỷ lệ giữa thiol tự do và kháng thể (Free Thiol to Antibody ratio - FTAR) bằng 4,1, gần bằng trị số 4,0, như đã định.

(b) Điều chế ADC1

Bổ sung (1,25mL) tiếp đó bổ sung dung dịch mới điều chế chứa hợp chất 1, đã được điều chế như được mô tả trong ví dụ 1, (10mM trong DMSO, 366 μ L, 3,66 μ mol, 5,7 đương lượng) vào dung dịch Trastuzumab khử một phần là hợp chất 20 (24,98mL, 93,0mg, 0,64 μ mol), đã được điều chế như được mô tả trong ví dụ 7(a) nêu trên, trong DMSO. Trong quá trình bổ sung hợp chất 1, dung dịch này trở nên rất đục, do đó DMSO (1mL) được bổ sung tiếp. Phản ứng tạo tiếp hợp được khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ 20°C và dung dịch không còn đục nữa trong quá trình phản ứng tạo tiếp hợp. Lượng dư được chất được làm nguội bằng cách bổ sung *N*-axetylxystein (NAC) (10 mM, 366 μ L, 3,66 μ mol), tiếp đó là khuấy dung dịch trong 20 phút. Phản ứng tiếp hợp đã làm nguội được tinh chế bằng cách ly tâm Vivaspın và dung dịch đệm được trao đổi với dung dịch đệm tạo PBS cuối cùng. Thể tiếp hợp cuối cùng ADC1 được cô đến nồng độ cuối cùng bằng 8,56 mg/mL như được xác định bằng UV và 7,4mL (63,3mg, 0,43 μ mol, 68,0%) dung dịch ADC thu được. Tiến hành chạy SEC HPLC để xác định độ tinh khiết của thể tiếp hợp (61,4%).

ADC1 được tinh chế tiếp bằng sắc ký lọc gel điều chế trên hệ thống tinh chế Äkta bằng cách sử dụng cột HiLoad 16/600 superdex 200 do sự có mặt của lượng lớn các kết tụ. Sau khi thu gom, nồng độ cuối cùng (1,6 mg/mL) được xác định bằng UV và độ tinh khiết (90,9%) của thể tiếp hợp được chất cuối cùng được xác định bằng SEC HPLC để tạo ra 8,65mL (13,7mg, 0,09 μ mol, 14,7%) dung dịch ADC (ADC1).

Ví dụ 10: Điều chế thể tiếp hợp kháng thể-dược chất ADC2 bằng Trastuzumab và hợp chất 5

(a) Khử một phần Trastuzumab để tạo ra Trastuzumab khử một phần (hợp chất 20)

Dung dịch Trastuzumab (14,29mL, 300mg, 2,06 μ mol) được pha loãng thành nồng độ 5 mg/mL bằng dung dịch đệm histidin/axetat 20nM (độ pH = 5,5, 45,74mL), tiếp đó điều chỉnh độ pH bằng dung dịch đệm phosphat/EDTA (độ pH = 8,4, 14,4mL). Quá trình khử một phần liên kết disulfua trong kháng thể được thực hiện bằng cách bổ sung dung dịch tris[2-carboxyethyl]phosphin hydroclorua (TCEP) 5mM (1,07mL, 5,36 μ mol, 2,6 đương lượng). Phản ứng khử được khuấy trong 90 phút ở nhiệt độ 20°C. Ngay sau khử, thử nghiệm Ellman được thực hiện để xác định tỷ lệ giữa thiol tự do và kháng thể (FTAR) bằng 4,1, gần bằng trị số 4,0, như đã định.

(b) Điều chế ADC2

DMSO được bổ sung (1,18mL) sau đó bổ sung dung dịch mới điều chế chứa hợp chất 5, đã được điều chế như được mô tả trong ví dụ 2, (10 mM trong DMSO, 368 μ L, 3,68 μ mol, 5,7 đương lượng) vào dung dịch Trastuzumab khử một phần - hợp chất 20 (23,6mL, 93,8mg, 0,645 μ mol), đã được điều chế như được mô tả trong ví dụ 8(a) nêu trên. Dược chất-liên kết được bổ sung một cách cẩn thận vào thành 10 phần. Sau khi bổ sung phần thứ sáu, dung dịch trở nên đục nhẹ và hiện tượng đục không hết trong phản ứng tạo tiếp hợp và làm nguội. Hỗn hợp phản ứng tạo tiếp hợp được khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ 20°C. Lượng dư dược chất được làm nguội bằng cách bổ sung *N*-axetylxystein (NAC) (10 mM, 368 μ L, 3,68 μ mol) bằng cách khuấy dung dịch trong 46 phút. Dung dịch được lọc qua bơm tiêm lọc 0,2 μ m. Phản ứng tiếp hợp đã làm nguội được cô đến 16,5 mg/mL bằng cách ly tâm Vivaspin và làm sạch qua cột NAP-25. Tiến hành chạy SEC HPLC để xác định độ tinh khiết của sản phẩm (36,1%).

ADC2 được tinh chế tiếp bằng sắc ký lọc gel điều chế trên hệ thống tinh chế Äkta bằng cách sử dụng cột HiLoad 16/600 superdex 200 do sự có mặt của lượng lớn các kết tụ. Sau khi thu gom, nồng độ cuối cùng (3,7 mg/mL) được xác định bằng UV và độ tinh khiết (78,3%) của thể tiếp hợp ADC đích cuối cùng được xác định bằng SEC HPLC để tạo ra 5,3mL (19,4mg, 19,4%) dung dịch ADC (ADC2).

Ví dụ 11: Điều chế thể tiếp hợp kháng thể-dược chất ADC3 bằng Trastuzumab và Hợp chất 12

(a) Điều chế ADC3

DMSO được bổ sung (1,18mL), sau đó bổ sung dung dịch mới điều chế chứa hợp chất 12, đã được điều chế như được mô tả trong ví dụ 3, (10 mM trong DMSO, 369 μ L,

3,69 μ mol, 5,7 đương lượng) vào dung dịch Trastuzumab khử một phần - Hợp chất 20 (23,6mL, 93,8mg, 0,645 μ mol), đã được điều chế như được mô tả trong ví dụ 10(a) nêu trên. Dược chất-liên kết được bổ sung một cách cẩn thận thành 10 phần, dung dịch này không bị đục sau khi bổ sung phần thứ ba. Quan sát thấy dung dịch đục nhiều trong khi bổ sung hai phần cuối cùng. Dung dịch không trong suốt cho đến bước lọc. Hỗn hợp phản ứng tạo tiếp hợp được khuấy trong 31 phút ở nhiệt độ 20°C. Lượng dư dược chất được làm nguội bằng cách bổ sung *N*-acetylxystein (NAC) (10 mM, 369 μ L, 3,69 μ mol) bằng cách khuấy hỗn hợp phản ứng trong 50 phút. Phản ứng tiếp hợp đã làm nguội dung dịch được lọc qua bơm tiêm lọc 0,2 μ m và cô đến 14,2 mg/mL bằng cách ly tâm Vivaspın. Sau đó, nó được tinh chế qua cột NAP-25. Tiến hành chạy SEC HPLC để xác định độ tinh khiết của sản phẩm (34,2%).

ADC3 được tinh chế tiếp bằng sắc ký lọc gel điều chế trên hệ thống tinh chế Äkta bằng cách sử dụng cột HiLoad 16/600 superdex 200 do sự có mặt của lượng lớn các kết tụ. Sau khi thu gom, nồng độ cuối cùng (2,3 mg/mL) được xác định bằng UV và độ tinh khiết (78,6%) của thể tiếp hợp được chất cuối cùng được xác định bằng SEC HPLC để tạo ra 7,3mL (16,6mg, 16,6%) dung dịch ADC (ADC3).

Ví dụ 12: Điều chế lần lượt các thể tiếp hợp kháng thể-dược chất ADC 4, 5 và 6 bằng Trastuzumab và các hợp chất 13, 15 và 18

(a) Tạo tiếp hợp SMCC với Trastuzumab (Hợp chất 21)

Dung dịch đậm Trastuzumab (262mg, 1,8 μ mol) được thay bằng dung dịch đậm phosphat (50 mM phosphat, EDTA 2mM, độ pH = 6,5) bằng cách sử dụng cột NAP-25. DMSO được bổ sung (5%) vào dung dịch Trastuzumab đã gộp lại trong các thiết bị phản ứng thủy tinh (16-17 g/L). Quá trình tạo tiếp hợp liên kết được bắt đầu bằng cách bổ sung SMCC (20,0 mM, 8,0 đương lượng) vào dung dịch Trastuzumab. Phản ứng được khuấy ở 18°C trong 3 giờ. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được tinh chế qua cột NAP-25 để thu được hợp chất 21. Thử nghiệm Ellman ngược được thực hiện để xác định LAR bằng 3,7.

(b) Tạo tiếp hợp của các hợp chất 13, 15 và 18 với Trastuzumab-MCC: điều chế ADC4, ADC5 và ADC6.

Đối với phản ứng tạo tiếp hợp, ở bước thứ nhất dung dịch chứa thể tiếp hợp kháng thể - hợp chất 21, pha loãng bằng dung dịch đậm phosphat (dung dịch phosphat 50mM, EDTA 2mM, độ pH = 6,5) tới nồng độ 10 g/L. Sau đó, DMSO (5%) được bổ sung vào

dung dịch hợp chất 21. Phản ứng tạo tiếp hợp với các hợp chất 13, 15 và 18 được thực hiện bằng cách bổ sung từ từ dược chất (10 mM, 6,3-6,6 đương lượng) vào dung dịch hợp chất 21 và khuấy trong bốn giờ ở 18°C. Sau khi hoàn thành phản ứng tạo tiếp hợp, hỗn hợp phản ứng được lọc qua màng 0,2µm và làm sạch lại qua cột NAP-25 bằng cách thay dung dịch đệm thành dung dịch đệm 1 x PBS. Tiến hành chạy SEC HPLC để xác định độ tinh khiết của thể tiếp hợp và nồng độ của thành phẩm được đo bằng UV.

ADC từ quy trình điều chế mẫu với hợp chất 15 được phân lập có độ tinh khiết cao (74,5%) và hiệu suất 56% (49 mg) và không cần phải làm sạch thêm. Nồng độ cuối (5,7 mg/mL) của dung dịch ADC5 (87mL) được xác định bằng UV.

Tuy nhiên, trong hai quy trình điều chế mẫu với hợp chất 13 và 18, có mặt các loại có phân tử thấp. Các loại này có thời gian lưu rất giống với píc của sản phẩm và không được tách trên cột SEC. Để loại bỏ các phần cặn của dược chất vẫn có mặt trong dung dịch, các dung dịch cho tiếp qua cột NAP-25. Sắc ký đồ sau khi làm sạch NAP-25 lần thứ nhất và thứ hai là giống nhau, do đó các loại không có nguồn gốc từ dược chất tự do vẫn có mặt trong dung dịch và phải có nguồn gốc lớn hơn. Sau đó, các mẫu này được tinh chế tiếp bằng sắc ký lọc gel trên cột loại cỡ.

Sau khi thu gom, nồng độ cuối cùng (2,8mg/mL và 3,9mg/mL) được xác định bằng UV và độ tinh khiết (62,3% và 50,9%) của thể tiếp hợp dược chất cuối cùng được xác định bằng SEC HPLC để lần lượt tạo ra 6,7mL (19,3mg, 22,0%) dung dịch ADC4 và 6,8mL (26,7mg, 30,5%) dung dịch ADC6.

Ví dụ 13: Điều chế các thể tiếp hợp kháng thể-dược chất ADC 7 và 8 với Trastuzumab và các hợp chất 25 và 27

(a) Phương pháp chung

Nồng độ kháng thể được xác định bằng phương pháp quang phổ bằng cách kiểm soát độ hấp phụ của nó ở bước sóng 280nm bằng cách sử dụng hệ số tắt mol là $2,18E5 M^{-1} cm^{-1}$ và phân tử lượng là 150 kDa. Dung dịch đệm được sử dụng trong các quy trình này là dung dịch đệm A (natri phosphat 50 mM ở độ pH = 6,5 bằng EDTA 2mM) hoặc dung dịch đệm B (natri phosphat 50 mM ở độ pH = 8,0) hoặc dung dịch đệm nước muối phosphat ("PBS"). Tỷ lệ giữa dược chất và kháng thể (Drug to antibody ratio -DAR) được suy ra từ tỷ lệ giữa nhóm liên kết và kháng thể (linker to antibody ratio -LAR) trong trường hợp quy trình tạo tiếp hợp qua Lys, hoặc từ Cys tự do/mol tỷ lệ kháng thể trong

trường hợp thể tiếp hợp hướng đích Cys, cho rằng phản ứng tạo tiếp hợp giữa được chất-liên kết với đầu nối maleimit hoặc với Cys tự do được định lượng. Cả hai cách xác định này được dựa trên phản ứng đo màu của 5,5'-dithiobis(axit 2-nitrobenzoic) (“DTNB”) với nhóm thiol tự do để tạo ra sản phẩm cộng thionitrobenzoat có màu. Để xác định LAR, sản phẩm cộng được tạo ra bằng cách trộn thể tích tương đương của dung dịch DTNB 200 μ M trong dung dịch đệm B với dung dịch *N*-axetyl-xystein 200 μ M trong cùng một dung dịch đệm. Sau đó, 75 μ L hỗn hợp này được trộn với 75 μ L mẫu thử nghiệm và sau khi ủ 1 giờ, độ hấp phụ ở 412 nm được xác định bằng thiết bị quang phổ và trị số thu được được so sánh với trị số thu được từ đường cong chuẩn bằng cách sử dụng các nồng độ đã biết của *N*-hydroxysuccinimit este của axit 4-(*N*-maleimidometyl)xyclohexan-carboxylic (“SMCC”) để thu được nồng độ maleimit trong mẫu. Sau đó, nồng độ này được chuyển sang nồng độ kháng thể để tính toán LAR. Tương tự, Cys tự do được xác định bằng cách trộn 50 μ L mẫu thử nghiệm với 150 μ L DTNB 133 μ M trong dung dịch đệm B, kiểm soát độ hấp phụ ở 412 nm và so sánh trị số thu được với trị số thu được từ đường cong chuẩn bằng cách sử dụng nồng độ Cys đã biết: sau đó, nồng độ suy ra của Cys tự do trong mẫu thử nghiệm được chuyển thành nồng độ kháng thể để tính toán tỷ lệ.

(b) Điều chế thể tiếp hợp kháng thể-được chất

Khi được chất hữu ích gây độc tế bào được tiếp hợp với các gốc Cys (như với hợp chất 25 để điều chế ADC7), thì trước đó kháng thể này được khử bằng Tris(2-carboxyetyl)phosphin hydroclorua (“TCEP”). Tóm lại, dung dịch kháng thể 70 μ M (10,5 mg/mL) trong dung dịch đệm B được trộn với lượng thích hợp của dung dịch TCEP 5mM trong nước để giữ cho chất khử ở lượng dư 2,5 lần so với kháng thể này. Hỗn hợp này được ủ và khuấy trong 60 phút ở nhiệt độ 20°C và sau đó nhỏ từng phần kháng thể đã khử thu được được loại bỏ để tính toán tỷ lệ giữa Cys tự do và kháng thể, đồng thời mẫu còn lại được trộn với thể tích thích hợp của dung dịch Hợp chất 25 10mM trong DMSO để thu được lượng hợp chất dư 6 lần so với kháng thể này: nhận thấy rằng kháng thể đã khử này thường có mặt nhỏ hơn 6 Cys tự do/protein phân tử, tỷ lệ mol giữa hợp chất và Cys tự do thu được không bao giờ nhỏ hơn 1. DMSO được bổ sung nếu có để giữ cho nồng độ của nó ở 5% (thể tích/thể tích) và hỗn hợp này được ủ trong 30 phút ở nhiệt độ 20°C. Sau đó, *N*-axetyl-xystein được bổ sung để làm nguội phản ứng, bằng cách sử dụng thể tích thích hợp của dung dịch 10mM trong nước để đạt tới nồng độ của được chất-liên kết. Cuối cùng thể tiếp hợp thu được được tinh chế khỏi phần cản của các chất phản ứng

bằng cách lọc gel trong Sephadex G-25 bằng cách sử dụng cột PD-10 do GE Healthcare cung cấp. Sự có mặt của các kết tụ được kiểm tra bằng cách phân tích phương pháp sắc ký loại cỡ bằng cách sử dụng hệ Äkta FPLC được trang bị cột Superdex-100 10/300 thực hiện phương pháp đồng đẳng với PBS với tốc độ 1mL/phút: nếu diện tích pic tương ứng với các kết tụ vượt quá 10% tổng diện tích pic, thì monome được tinh chế bằng cách sử dụng cùng một hệ sắc ký với cột điều chế Superdex 200 16/600 thực hiện cùng một phương pháp đã nêu trên. Nồng độ ADC cuối cùng được xác định bằng thiết bị quang phổ bằng cách kiểm soát độ hấp phụ của nó ở bước sóng 280nm bằng cách sử dụng cùng hệ số tắt mol so với kháng thể gốc: khi nồng độ ADC nhỏ hơn 2 mg/mL, thì nó được cô bằng cách sử dụng thiết bị Vivaspın do GE Healthcare cung cấp và nồng độ mới được xác định lại như đã nêu trên.

Khi được chất gây độc tế bào được tiếp hợp với các gốc Lys (như với hợp chất 27 để điều chế ADC8), thì kháng thể trước đó được hoạt hóa bằng SMCC. Tóm lại, dung dịch kháng thể 70 μ M (10,5 mg/mL) trong dung dịch đệm A được trộn với lượng thích hợp của dung dịch SMCC 20 mM trong DMSO để giữ cho chất phản ứng hoạt hóa có mặt với lượng dư 8 lần so với kháng thể này. DMSO được bổ sung nếu có để đạt được nồng độ DMSO cuối là 5% (thể tích/thể tích). Hỗn hợp này được ủ và khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ 18°C và sau đó, lượng dư SMCC được loại bỏ bằng sắc ký lọc gel trên Sephadex G-25 bằng cách sử dụng cột PD-10 do GE Healthcare cung cấp. Lượng nhỏ kháng thể đã hoạt hóa thu được được loại bỏ để tính toán LAR và mẫu còn lại được trộn với thể tích thích hợp của dung dịch 10mM của hợp chất 27 trong DMSO để đạt được lượng hợp chất dư 8 lần so với kháng thể: cho rằng trị số LAR không bao giờ vượt quá 8, điều này đảm bảo rằng tỷ lệ mol giữa hợp chất và vị trí phản ứng thu được không bao giờ nhỏ hơn 1. DMSO được bổ sung nếu có để giữ cho nồng độ của nó ở 5% (thể tích/thể tích). Hỗn hợp này được ủ trong 4 giờ ở nhiệt độ 18°C và thể tiếp hợp thu được được tinh chế từ phần cần của các chất phản ứng bằng cách lọc gel trên Sephadex G-25 bằng cách sử dụng cột PD-10 do GE Healthcare cung cấp. Sự có mặt của các kết tụ được kiểm tra bằng cách phân tích phương pháp sắc ký loại cỡ bằng cách sử dụng hệ Äkta FPLC được trang bị cột Superdex-100 10/300 tiến hành phương pháp đồng đẳng với PBS ở 1mL/phút: nếu diện tích pic tương ứng với các kết tụ vượt quá 10% tổng diện tích pic, thì monome được tinh chế bằng cách sử dụng cùng một hệ sắc ký với cột điều chế Superdex 200 16/600 thực hiện cùng một phương pháp đã nêu trên. Nồng độ ADC cuối cùng được

xác định bằng phương pháp quang phổ bằng cách kiểm soát độ hấp phụ của nó ở bước sóng 280nm sử dụng cùng hệ số tắt mol so với kháng thể gốc: khi nồng độ ADC nhỏ hơn 2 mg/mL, thì nó được cô bằng cách sử dụng thiết bị Vivaspin do GE Healthcare cung cấp và nồng độ mới được xác định lại như đã nêu trên.

Ví dụ 14: Điều chế kháng thể đơn dòng kháng CD4, kháng CD5 và kháng CD13

Các kháng thể đơn dòng kháng CD4, kháng CD5 và kháng CD13 thu được theo các phương pháp đã biết thường được sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật này. Tóm lại, chuột nhắt BALB/c được tạo miễn dịch bằng tế bào HPB-ALL (để sản sinh chủ yếu kháng thể kháng CD4) hoặc bằng tế bào T của người được hoạt hóa bằng hỗn hợp chứa phorbol 12-myristat 13-acetat và kháng thể đơn dòng kháng CD3 đang có trên thị trường như mô tả trong bài báo Cebrian et al. (1988, J. Exp. Med. 168:1621-1637) (để sản sinh chủ yếu kháng thể kháng CD5) hoặc bằng tế bào nội mô của người được lấy ra từ dây rốn (để sản sinh chủ yếu kháng thể kháng CD13). Cuối cùng, $1,5 \times 10^7$ của các tế bào tương ứng được tiêm vào trong màng bụng chuột nhắt vào ngày thứ 45 và 30 và trong tĩnh mạch vào ngày thứ 3. Vào ngày 0, lá lách từ các con vật này được lấy ra và các tế bào lá lách được dung hợp với tế bào u tủy SP2 của chuột nhắt với tỷ lệ là 4:1 theo kỹ thuật tiêu chuẩn để tạo ra các tế bào lai tương ứng và phân bố trên đĩa nuôi cấy mô 96 giếng (Costar Corp., Cambridge, MA). Sau 2 tuần, dịch nổi nuôi cấy tế bào lai được thu gom và khả năng phản ứng của chúng đối với dòng tế bào được sử dụng trong bước tạo miễn dịch được thử nghiệm bằng thiết bị đo dòng chảy tế bào. Dịch nổi trên bề mặt hoàn toàn được thử nghiệm bằng cách nhuộm huỳnh quang miễn dịch các tế bào tương ứng bằng cách sử dụng làm kháng nguyên. Tế bào lai có mẫu kết tủa miễn dịch, nhuộm đặc hiệu và khả năng phân bố tế bào được chọn và tách dòng và tách dòng cấp hai bằng cách pha loãng giới hạn.

Ngay khi các dòng được chọn, các tế bào được nuôi cấy trong môi trường RPMI-1640 có bổ sung 10% (thể tích/thể tích) huyết thanh bào thai bò, glutamin 2mM, 100 U/mL Penixilin và 100µg/mL streptomycin ở nhiệt độ 37°C trong 3-4 ngày cho đến khi môi trường này chuyển sang màu vàng nhạt. Tại thời điểm đó, hai phần ba thể tích môi trường được loại ra, được ly tâm ở 1,000xg trong 10 phút để tạo hạt các tế bào và dịch nổi trên bề mặt được ly tâm lại để tinh chế tiếp ở 3.000xg trong 10 phút hoặc được lọc qua màng cỡ lỗ 22µm. Dịch nổi trên bề mặt đã làm sạch được kết tủa bằng 55% dung dịch amoni sulphat bão hòa và tạo hạt thu được được tái hòa dịch trong Tris-HCl 100mM

ở độ pH = 7,8 (1mL/100mL dịch nổi trên bề mặt đã làm sạch ban đầu) và phân giải ở 4°C trong 16-24 giờ đối với 5L Tris-HCl 100mM ở độ pH = 7,8 bằng NaCl 150mM, thay dung dịch phân giải ít nhất ba lần. Cuối cùng, nguyên liệu đã phân giải được nạp lên cột Protein A-Sepharosa và kháng thể đơn dòng tương ứng được rửa giải bằng natri xitrat 100mM ở độ pH = 3,0 hoặc theo cách khác bằng glyxin 1M ở độ pH = 3,0. Các phân đoạn này chứa kháng thể này được trung hòa bằng Tris-HCl 2M ở độ pH = 9,0 và cuối cùng được phân giải đối với PBS và bảo quản ở -80°C cho đến khi sử dụng.

Ví dụ 15: Điều chế các thể tiếp hợp kháng thể-dược chất ADC 9, 10 và 11 với kháng CD13 và các hợp chất 1, 12 và 13

(a) Phương pháp chung

Trong tất cả phương pháp đã nêu trong bản mô tả này, nồng độ kháng thể được kiểm tra bằng thiết bị quang phổ bằng cách kiểm soát độ hấp phụ của nó ở bước sóng 280nm bằng cách sử dụng hệ số tắt mol là $2,25 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ và phân tử lượng là 150 kDa. Dung dịch đệm được sử dụng trong các quy trình này là dung dịch đệm A (natri phosphat 50mM độ pH = 6,5 bằng EDTA 2mM) hoặc dung dịch đệm B (natri phosphat 50mM độ pH = 8,0) hoặc dung dịch đệm nước muối phosphat ("PBS"). Tỷ lệ giữa dược chất và kháng thể ("DAR") được suy ra từ tỷ lệ giữa nhóm liên kết và kháng thể ("LAR") trong trường hợp tạo tiếp hợp qua Lys, hoặc từ Cys tự do/mol của tỷ lệ kháng thể trong trường hợp thể tiếp hợp này hướng đích Cys, cho rằng phản ứng tạo tiếp hợp của dược chất-liên kết với đầu nối maleimide hoặc với Cys tự do được định lượng. Cả hai cách xác định này được thực hiện dựa trên phản ứng đo màu của 5,5'-dithiobis(axit 2-nitrobenzoic) ("DTNB") với nhóm thiol tự do để tạo ra sản phẩm cộng thionitrobenzoat có màu. Để xác định LAR, sản phẩm cộng này được tạo ra bằng cách trộn thể tích tương đương của dung dịch DTNB 200 μ M trong dung dịch đệm B với dung dịch N-acetyl-xystein 200 μ M trong cùng một dung dịch đệm. Sau đó, 75 μ L hỗn hợp này được trộn với 75 μ L mẫu thử nghiệm và sau khi ủ 1 giờ độ hấp phụ ở 412 nm được xác định bằng thiết bị quang phổ và trị số thu được được so sánh với các trị số thu được từ đường cong chuẩn bằng cách sử dụng các nồng độ đã biết của N-hydroxysuccinimide của axit 4-(N-maleimidomethyl)xyclohexanecarboxylic ("SMCC") để thu được nồng độ của maleimide trong mẫu. Sau đó, nồng độ này được chuyển sang nồng độ kháng thể để tính toán LAR. Tương tự, Cys tự do được xác định bằng cách trộn 50 μ L mẫu thử nghiệm với 150 μ L DTNB 133 μ M trong dung dịch đệm B, kiểm soát độ hấp phụ ở 412 nm và so sánh trị số

thu được với các trị số thu được từ đường cong chuẩn bằng cách sử dụng nồng độ Cys đã biết: nồng độ suy ra của Cys tự do trong mẫu thử nghiệm sau đó được chuyển sang nồng độ kháng thể để tính toán tỷ lệ.

(b) Điều chế thể tiếp hợp kháng thể-được chất

Khi được chất gây độc tế bào được tiếp hợp với các gốc Cys (như đối với hợp chất 1 để điều chế ADC9 hoặc hợp chất 12 để điều chế ADC10), thì trước đó, kháng thể này được khử bằng Tris(2-carboxyethyl)phosphin hydroclorua ("TCEP"). Tóm lại, dung dịch 70 μ M (10,5 mg/mL) chứa kháng thể này trong dung dịch đệm B được trộn với lượng thích hợp của dung dịch TCEP 5mM trong nước để giữ cho lượng chất khử dư 2,5 lần so với kháng thể này. Hỗn hợp này được ủ và khuấy trong 60 phút ở nhiệt độ 20°C và sau đó, lượng nhỏ kháng thể đã khử thu được được loại bỏ để tính toán tỷ lệ giữa Cys tự do và kháng thể, đồng thời mẫu còn lại được trộn với thể tích thích hợp của dung dịch 10mM chứa được chất liên kết (Hợp chất 1 đối với ADC9 hoặc hợp chất 12 đối với ADC10) trong DMSO để đạt được lượng hợp chất dư 6 lần so với kháng thể này: cho rằng kháng thể đã khử này thường nhỏ hơn 6 Cys tự do /phân tử protein, tỷ lệ mol giữa hợp chất và Cys tự do thu được không bao giờ nhỏ hơn 1. DMSO được bổ sung nếu có để giữ cho nồng độ của nó ở 5% (thể tích/thể tích) và hỗn hợp này được ủ trong 30 phút ở nhiệt độ 20°C. Sau đó, N-acetyl-cysteine được bổ sung để làm nguội phản ứng, sử dụng thể tích thích hợp của dung dịch 10mM trong nước để đạt tới nồng độ được chất-liên kết. Cuối cùng, thể tiếp hợp thu được được tinh chế từ phần cản của các chất phản ứng bằng cách lọc gel trên Sephadex G-25 bằng cách sử dụng cột PD-10 do GE Healthcare cung cấp. Sự có mặt của các kết tụ được kiểm tra bằng cách phân tích phương pháp sắc ký loại cở bằng cách sử dụng hệ Äkta FPLC được trang bị cột Superdex-100 10/300 tiến hành phương pháp đồng đẳng với PBS ở 1mL/phút: nếu diện tích pic tương ứng với các kết tụ vượt quá 10% tổng diện tích pic, thì monome được tinh chế bằng cách sử dụng cùng một hệ sắc ký với cột điều chế Superdex 200 16/600 thực hiện cùng một phương pháp đã nêu trên. Nồng độ ADC cuối cùng được xác định bằng thiết bị quang phổ bằng cách kiểm soát độ hấp phụ của nó ở bước sóng 280nm bằng cách sử dụng cùng hệ số tắt mol lớn hơn so với kháng thể gốc: khi nồng độ ADC nhỏ hơn 2 mg/mL, thì nó được cô bằng cách sử dụng thiết bị Vivaspın do GE Healthcare cung cấp và nồng độ mới được xác định lại như đã nêu trên.

Khi được chất gây độc tế bào được tiếp hợp với các gốc Lys (như với hợp chất 13 để điều chế ADC11), thì trước đó kháng thể này được hoạt hóa bằng SMCC. Tóm lại, dung dịch 70 μ M (10,5 mg/mL) chứa kháng thể này trong dung dịch đệm A được trộn với lượng thích hợp của dung dịch SMCC 20 mM trong DMSO để giữ cho lượng chất phản ứng hoạt hóa dư 8 lần so với kháng thể này. DMSO được bổ sung nếu có để đạt được nồng độ DMSO cuối là 5% (thể tích/thể tích). Hỗn hợp này được ủ và khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ 18°C và sau đó, lượng dư SMCC được loại bỏ bằng cách sắc ký lọc gel trên Sephadex G-25 bằng cách sử dụng cột PD-10 do GE Healthcare cung cấp. Lượng nhỏ kháng thể đã hoạt hóa thu được được loại bỏ để tính toán LAR và mẫu còn lại được trộn với thể tích thích hợp của dung dịch 10mM Hợp chất 13 trong DMSO để đạt được lượng hợp chất dư 8 lần so với kháng thể này: cho rằng trị số LAR không bao giờ vượt quá 8, điều này đảm bảo rằng tỷ lệ mol giữa hợp chất và vị trí phản ứng thu được không bao giờ nhỏ hơn 1. DMSO được bổ sung nếu có để giữ cho nồng độ của nó là 5% (thể tích/thể tích). Hỗn hợp này được ủ trong 4 giờ ở nhiệt độ 18°C và thể tiếp hợp thu được được tinh chế từ phần cần của các chất phản ứng bằng cách lọc gel trên Sephadex G-25 bằng cách sử dụng cột PD-10 do GE Healthcare cung cấp. Sự có mặt của các kết tụ được kiểm tra bằng cách phân tích phương pháp sắc ký loại cỡ bằng cách sử dụng hệ Äkta FPLC được trang bị cột Superdex-100 10/300 tiến hành phương pháp đồng đẳng với PBS ở 1mL/phút: nếu diện tích pic tương ứng với các kết tụ vượt quá 10% tổng diện tích pic, thì monome được tinh chế bằng cách sử dụng cùng một hệ sắc ký với cột điều chế Superdex 200 16/600 thực hiện cùng một phương pháp đã nêu trên. Nồng độ ADC cuối cùng được xác định bằng thiết bị quang phổ bằng cách kiểm soát độ hấp phụ của nó ở bước sóng 280nm bằng cách sử dụng cùng hệ số tắt mol lớn hơn so với kháng thể gốc: khi nồng độ ADC nhỏ hơn 2 mg/mL, thì nó được cô bằng cách sử dụng thiết bị Vivaspın do GE Healthcare cung cấp và nồng độ mới được xác định lại như đã nêu trên.

Ví dụ 16: Điều chế thể tiếp hợp kháng thể-được chất ADC 12 và 13 với Rituximab và các hợp chất 1 và 12

(a) Phương pháp chung

Nồng độ kháng thể được kiểm tra bằng thiết bị quang phổ bằng cách kiểm soát độ hấp phụ của nó ở bước sóng 280nm bằng cách sử dụng hệ số tắt mol là $2,45E5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ và phân tử lượng là 150 kDa. Dung dịch đệm được sử dụng trong các quy trình này là dung dịch đệm B (natri phosphat 50mM độ pH = 8,0) hoặc dung dịch đệm nước muối

phosphat (“PBS”). Tỷ lệ giữa dược chất và kháng thể (“DAR”) được suy ra từ tỷ lệ giữa Cys tự do/mol của kháng thể, từ đó cho rằng phản ứng tạo tiếp hợp giữa dược chất-liên kết và Cys tự do được định lượng. Việc xác định này được thực hiện dựa trên phản ứng đo màu của 5,5'-dithiobis(axit 2-nitrobenzoic) (“DTNB”) với nhóm thiol tự do để tạo ra sản phẩm cộng thionitrobenzoat có màu. 50 μ L mẫu thử nghiệm được trộn với 150 μ L DTNB 133 μ M trong dung dịch đệm B, sau đó độ hấp phụ ở 412 nm được đo và trị số thu được được so sánh với các trị số thu được từ đường cong chuẩn bằng cách sử dụng nồng độ Cys đã biết. Nồng độ suy ra của Cys tự do trong mẫu thử nghiệm sau đó được chuyển sang nồng độ kháng thể để tính toán tỷ lệ.

(b) Điều chế thể tiếp hợp kháng thể-dược chất

Trước khi tạo tiếp hợp với dược chất-liên kết qua Cys, kháng thể này được khử bằng Tris(2-carboxyethyl)phosphin hydroclorua (“TCEP”). Tóm lại, dung dịch 70 μ M (10,5 mg/mL) chứa kháng thể trong dung dịch đệm B được trộn với lượng thích hợp của dung dịch TCEP 5mM trong nước để giữ cho lượng chất khử dư 2,5 lần so với kháng thể này. Hỗn hợp này được ủ và khuấy trong 60 phút ở nhiệt độ 20°C và sau đó, lượng nhỏ kháng thể đã khử thu được được loại bỏ để tính toán tỷ lệ giữa Cys tự do và kháng thể, đồng thời mẫu còn lại được trộn với thể tích thích hợp của dung dịch 10mM của dược chất liên kết (Hợp chất 1 đối với ADC12 hoặc hợp chất 12 đối với ADC13) trong DMSO để đạt được lượng hợp chất dư 6 lần so với kháng thể này: cho rằng kháng thể đã khử này thường nhỏ hơn 6 Cys tự do/phân tử protein, tỷ lệ mol giữa hợp chất và Cys tự do thu được không bao giờ nhỏ hơn 1. DMSO được bổ sung nếu có để giữ cho nồng độ của nó là 5% (thể tích/thể tích) và hỗn hợp này được ủ trong 30 phút ở nhiệt độ 20°C. Sau đó, *N*-Acetyl-cysteine được bổ sung để làm nguội phản ứng, sử dụng thể tích thích hợp của dung dịch 10mM trong nước để đạt tới nồng độ dược chất-liên kết. Cuối cùng, thể tiếp hợp thu được được tinh chế từ phần cản của các chất phản ứng bằng cách lọc gel trên Sephadex G-25 bằng cách sử dụng cột PD-10 do GE Healthcare cung cấp. Sự có mặt của các kết tụ được kiểm tra bằng cách phân tích phương pháp sắc ký loại cỡ sử dụng hệ Äkta FPLC được trang bị cột Superdex-100 10/300 tiến hành phương pháp đồng đẳng với PBS ở 1mL/phút: nếu diện tích pic tương ứng với các kết tụ vượt quá 10% tổng diện tích pic, thì monome được tinh chế bằng cách sử dụng cùng một hệ sắc ký với cột điều chế Superdex 200 16/600 thực hiện cùng một phương pháp đã nêu trên. Nồng độ ADC cuối cùng được xác định bằng thiết bị quang phổ bằng cách kiểm soát độ hấp phụ của nó ở

bước sóng 280nm bằng cách sử dụng cùng hệ số tắt mol lớn hơn so với kháng thể gốc: khi nồng độ ADC nhỏ hơn 1 mg/mL thì nó được cô bằng cách sử dụng thiết bị Vivaspın do GE Healthcare cung cấp và nồng độ mới được xác định lại như đã nêu trên.

Ví dụ 17: Điều chế thể tiếp hợp kháng thể-độc chất ADC 14 và 15 với kháng CD5 và các hợp chất 1 và 12

(a) Phương pháp chung

Nồng độ kháng thể được kiểm tra bằng thiết bị quang phổ bằng cách kiểm soát độ hấp phụ của nó ở bước sóng 280nm bằng cách sử dụng hệ số tắt mol là $2,25E5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ và phân tử lượng là 150 kDa. Dung dịch đệm được sử dụng trong các quy trình này là dung dịch đệm B (natri phosphat 50mM độ pH = 8,0) hoặc dung dịch đệm nước muối phosphat ("PBS"). Tỷ lệ giữa độc chất và kháng thể ("DAR") được suy ra từ tỷ lệ Cys tự do/mol của kháng thể, cho rằng phản ứng tạo tiếp hợp của độc chất-liên kết với Cys tự do được định lượng. Việc xác định này được thực hiện dựa trên phản ứng đo màu của 5,5'-dithiobis(axít 2-nitrobenzoic) ("DTNB") với nhóm thiol tự do để tạo ra sản phẩm cộng thionitrobenzoat có màu. 50 μ L mẫu thử nghiệm được trộn với 150 μ L DTNB 133 μ M trong dung dịch đệm B, sau đó, độ hấp phụ ở 412 nm được đo và trị số thu được được so sánh với các trị số thu được từ đường cong chuẩn bằng cách sử dụng nồng độ Cys đã biết. Nồng độ suy ra của Cys tự do trong mẫu thử nghiệm sau đó được chuyển sang nồng độ kháng thể để tính toán tỷ lệ.

(b) Điều chế thể tiếp hợp kháng thể-độc chất

Trước khi tạo tiếp hợp với độc chất-liên kết qua Cys, kháng thể này được khử bằng Tris(2-carboxyetyl)phosphin hydroclorua ("TCEP"). Tóm lại, dung dịch 70 μ M (10,5 mg/mL) chứa kháng thể này trong dung dịch đệm B được trộn với lượng thích hợp của dung dịch TCEP 5mM trong nước để giữ cho lượng chất khử dư 2,5 lần so với kháng thể này. Hỗn hợp này được ủ và khuấy trong 60 phút ở nhiệt độ 20°C và sau đó, lượng nhỏ kháng thể đã khử thu được được loại bỏ để tính toán tỷ lệ giữa Cys tự do và kháng thể, đồng thời mẫu còn lại được trộn với thể tích thích hợp của dung dịch 10mM chứa độc chất liên kết (Hợp chất 1 đối với ADC14 hoặc hợp chất 12 đối với ADC15) trong DMSO để đạt được lượng hợp chất dư 6 lần so với kháng thể này: cho rằng kháng thể đã khử này thường nhỏ hơn 6 Cys tự do/phân tử protein, tỷ lệ mol giữa hợp chất và Cys tự do thu được không bao giờ nhỏ hơn 1. DMSO được bổ sung nếu có để giữ cho nồng độ của nó là 5% (thể tích/thể tích) và hỗn hợp này được ủ trong 30 phút ở nhiệt độ

20°C. Sau đó, *N*-Acetyl-cysteine được bổ sung để làm nguội phản ứng, sử dụng thể tích thích hợp của dung dịch 10mM trong nước để đạt tới nồng độ được chất-liên kết. Cuối cùng, thể tiếp hợp thu được được tinh chế từ phần cần của các chất phản ứng bằng cách lọc gel trên Sephadex G-25 bằng cách sử dụng cột PD-10 do GE Healthcare cung cấp. Sự có mặt của các kết tụ được kiểm tra bằng cách phân tích phương pháp sắc ký loại cỡ bằng cách sử dụng hệ Äkta FPLC được trang bị cột Superdex-100 10/300 tiến hành phương pháp đồng đẳng với PBS ở 1mL/phút: nếu diện tích pic tương ứng với các kết tụ vượt quá 10% tổng diện tích pic, thì monome được tinh chế bằng cách sử dụng cùng một hệ sắc ký với cột điều chế Superdex 200 16/600 thực hiện cùng một phương pháp đã nêu trên. Nồng độ ADC cuối cùng được xác định bằng thiết bị quang phổ bằng cách kiểm soát độ hấp phụ của nó ở bước sóng 280nm bằng cách sử dụng cùng hệ số tắt mol lớn hơn so với kháng thể gốc: khi nồng độ ADC nhỏ hơn 1 mg/mL, thì nó được cô bằng cách sử dụng thiết bị Vivaspın do GE Healthcare cung cấp và nồng độ mới được xác định lại như đã nêu trên.

Ví dụ 18: Điều chế thể tiếp hợp kháng thể-được chất ADC 16 và 17 với kháng CD4 và các hợp chất 1 và 12

(a) Phương pháp chung

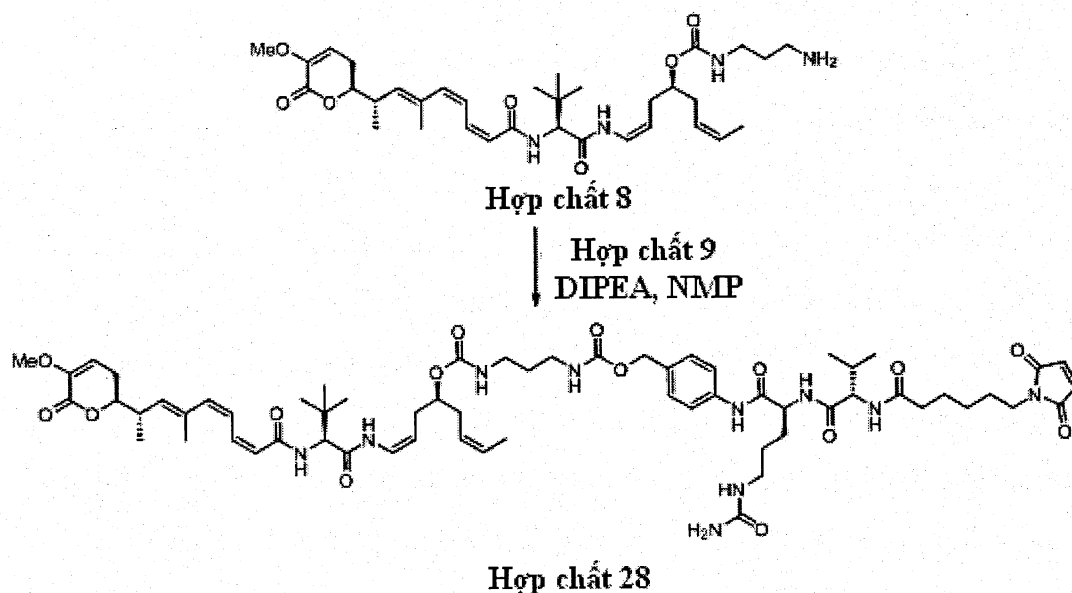
Nồng độ kháng thể được kiểm tra bằng thiết bị quang phổ bằng cách kiểm soát độ hấp phụ của nó ở bước sóng 280nm bằng cách sử dụng hệ số tắt mol là $2,25 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ và phân tử lượng là 150 kDa. Dung dịch đệm được sử dụng trong các quy trình này là dung dịch đệm B (natri phosphat 50mM độ pH = 8,0) hoặc dung dịch đệm nước muối phosphat ("PBS"). Tỷ lệ giữa được chất và kháng thể ("DAR") được suy ra từ tỷ lệ Cys tự do/mol của kháng thể, cho rằng phản ứng tạo tiếp hợp của được chất-liên kết với Cys tự do được định lượng. Việc xác định này được thực hiện dựa trên phản ứng đo màu của 5,5'-dithiobis(axit 2-nitrobenzoic) ("DTNB") với nhóm thiol tự do để tạo ra sản phẩm cộng thionitrobenzoat có màu. 50µL mẫu thử nghiệm được trộn với 150µL DTNB 133µM trong dung dịch đệm B, sau đó, độ hấp phụ ở 412 nm được đo và trị số thu được được so sánh với các trị số thu được từ đường cong chuẩn bằng cách sử dụng nồng độ Cys đã biết. Nồng độ suy ra của Cys tự do trong mẫu thử nghiệm sau đó được chuyển sang nồng độ kháng thể để tính toán tỷ lệ.

(b) Điều chế thể tiếp hợp kháng thể-được chất

Trước khi tạo tiếp hợp với được chất-liên kết qua Cys, kháng thể này được khử bằng Tris(2-carboxyethyl)phosphin hydroclorua ("TCEP"). Tóm lại, dung dịch 70 μ M (10,5 mg/mL) chứa kháng thể này trong dung dịch đệm B được trộn với lượng thích hợp của dung dịch TCEP 5mM trong nước để giữ cho lượng chất khử dư 2,5 lần sao với kháng thể này. Hỗn hợp này được ủ và khuấy trong 60 phút ở nhiệt độ 20°C và sau đó, lượng nhỏ kháng thể đã khử thu được được loại bỏ để tính toán tỷ lệ giữa Cys tự do và kháng thể, đồng thời mẫu còn lại được trộn với thể tích thích hợp của dung dịch 10mM chứa được chất liên kết (Hợp chất 1 đối với ADC16 hoặc hợp chất 12 đối với ADC17) trong DMSO để đạt được lượng hợp chất dư 6 lần so với kháng thể này: cho rằng kháng thể đã khử này thường nhỏ hơn 6 Cys tự do/phân tử protein, tỷ lệ mol giữa hợp chất và Cys tự do thu được không bao giờ nhỏ hơn 1. DMSO được bổ sung nếu có để giữ cho nồng độ của nó là 5% (thể tích/thể tích) và hỗn hợp này được ủ trong 30 phút ở nhiệt độ 20°C. Sau đó, *N*-Acetyl-cysteine được bổ sung để làm nguội phản ứng, sử dụng thể tích thích hợp của dung dịch 10mM trong nước để đạt tới nồng độ được chất-liên kết. Cuối cùng, thể tiếp hợp thu được được tinh chế từ phần cản của các chất phản ứng bằng cách lọc gel trên Sephadex G-25 bằng cách sử dụng cột PD-10 do GE Healthcare cung cấp. Sự có mặt của các kết tụ được kiểm tra bằng cách phân tích phương pháp sắc ký loại cỡ sử dụng hệ Äkta FPLC được trang bị cột Superdex-100 10/300 tiến hành phương pháp đồng đẳng với PBS ở 1mL/phút: nếu diện tích pic tương ứng với các kết tụ vượt quá 10% tổng diện tích pic, thì monome được tinh chế sử dụng cùng một hệ sắc ký với cột điều chế Superdex 200 16/600 thực hiện cùng một phương pháp đã nêu trên. Nồng độ ADC cuối cùng được xác định bằng thiết bị quang phổ bằng cách kiểm soát độ hấp phụ của nó ở bước sóng 280nm bằng cách sử dụng cùng hệ số tắt mol lớn hơn so với kháng thể gốc: khi nồng độ ADC nhỏ hơn 1 mg/mL, thì nó được cô bằng cách sử dụng thiết bị Vivaspin do GE Healthcare cung cấp và nồng độ mới được xác định lại như đã nêu trên.

Ví dụ 19: Tổng hợp hợp chất có công thức $D-X-(AA)_w-L_1$

Điều chế hợp chất 28



(a) Điều chế hợp chất 28

DIPEA (10 μ L, 0,06mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa hợp chất 9 (13mg, 0,02mmol), đã được điều chế như được thể hiện trong ví dụ điều chế nêu trên, và Hợp chất 8 (20mg, 0,02mmol), đã được điều chế như được mô tả trong ví dụ 2 nêu trên, trong NMP (6,5mL) ở nhiệt độ 23°C. Sau 9 giờ, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng H₂O và chiết bằng EtOAc. Lọc hữu cơ thu gom được làm khô trên khan Na₂SO₄, lọc, và cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO₂, DCM:CH₃OH, nằm trong khoảng từ 100:0 đến 90:10) để thu được hợp chất 28 đích tinh khiết (9mg, 38%).

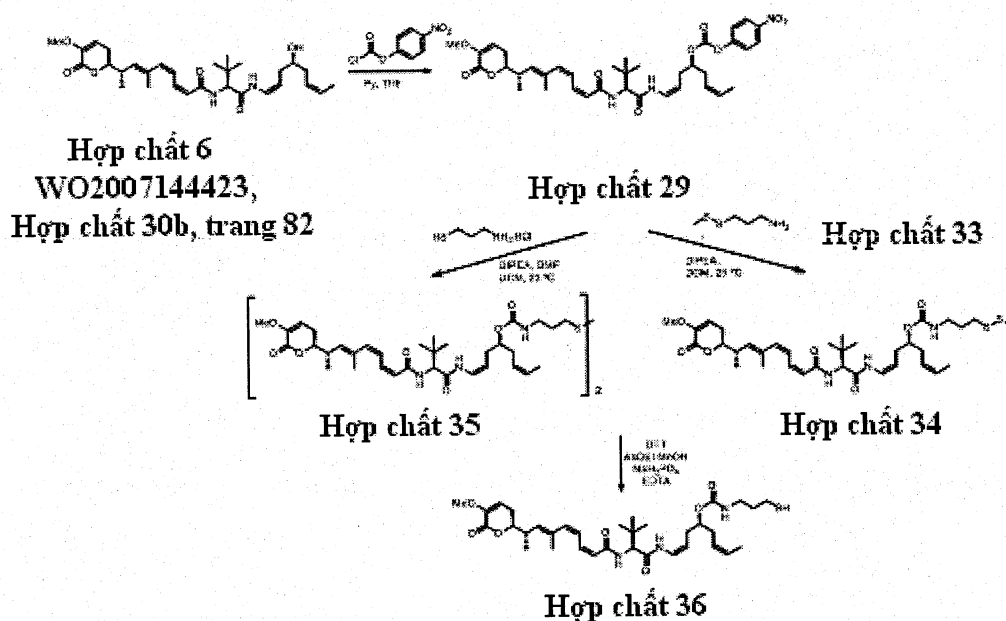
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃/CD₃OD): δ 9,40 (s, 1H), 8,92 (d, J = 10,6 Hz, 1H), 7,67 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,47 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,21 (d, J = 7,9 Hz, 2H), 7,16 (t, J = 11,9 Hz, 1H), 6,97 (t, J = 9,6 Hz, 2H), 6,82 (t, J = 11,4 Hz, 1H), 6,67-6,64 (m, 1H), 6,64 (s, 2H), 6,08 (d, J = 11,7 Hz, 1H), 5,68 (d, J = 11,4 Hz, 1H), 5,62-5,58 (m, 1H), 5,54-5,47 (m, 1H), 5,35-5,29 (m, 1H), 5,20 (d, J = 9,9 Hz, 1H), 4,94 (s, 2H), 4,77 (q, J = 8,1 Hz, 1H), 4,54-4,45 (m, 2H), 4,37 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 4,20-4,12 (m, 1H), 4,08 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 3,58 (s, 3H), 3,42 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,18- 3,00 (m, 7H), 2,81-2,75 (m, 1H), 2,35-2,30 (m, 3H), 2,29-2,25 (m, 3H), 2,17 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,14-2,06 (m, 1H), 2,04-1,92 (m, 1H), 1,86-1,74 (m, 1H), 1,76 (s, 3H), 1,61-1,42 (m, 10H), 1,54 (d, J = 6,3 Hz, 3H), 1,30-1,14 (m, 4H), 1,08 (d, J = 6,4Hz, 3H), 0,94 (s, 9H), 0,86 (dd, J = 6,8, 4,3 Hz, 6H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 173,0, 172,1, 171,0, 170,2, 168,5, 167,1, 162,0, 161,3, 157,2, 157,0, 145,0, 140,2, 137,7, 137,5, 137,1, 134,0, 132,4, 128,8, 126,9, 124,9, 124,4, 124,3, 124,0, 120,5, 119,8, 108,6, 107,3, 81,9, 74,8, 66,1, 60,4, 58,8, 55,4, 37,6, 37,2, 36,0, 34,8, 31,9, 31,6, 30,9, 30,7, 30,0, 29,7, 29,3, 28,1, 26,5, 26,2, 26,1, 25,1, 19,2, 18,3, 17,1, 16,5, 12,9.

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $\text{C}_{63}\text{H}_{90}\text{N}_{10}\text{O}_{15}$: 1226,7. Thu được bằng thực nghiệm: 1267,4 ($\text{M}+\text{H}$) $^{+}$.

Ví dụ 20: Tổng hợp hợp chất có công thức $\text{D-X-(AA)}_w\text{-H}$

Điều chế hợp chất 36

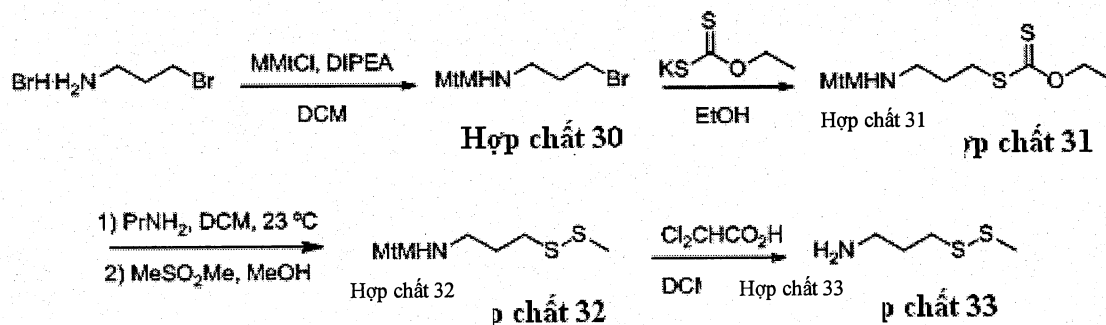


(a) Điều chế hợp chất 29

Bổ sung pyridin (0,31mL, 3,82mmol) và 4-nitrophenyl cloformat (769,7mg, 3,82mmol) ở 0°C vào dung dịch chứa hợp chất 6 (1,01g, 1,91mmol) (Hợp chất 30b, được điều chế như được mô tả trong WO 2007144423, được kết hợp vào sáng chế bằng cách viện dẫn) trong DCM (40mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 1,5 giờ, pha loãng bằng axit xitric 10% và chiết bằng DCM. Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên Na_2SO_4 khan, lọc và cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO_2 , hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 29 tinh khiết (783mg, 59%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,26 (d, $J = 9,2$ Hz, 2H), 8,02 (d, $J = 10,9$ Hz, 1H), 7,43 (d, $J = 9,2$ Hz, 2H), 7,22 (t, $J = 9,2$ Hz, 1H), 6,92-6,76 (m, 2H), 6,21 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 6,17-6,12 (m, 1H), 5,73-5,64 (m, 1H), 5,65-5,56 (m, 2H), 5,46-5,38 (m, 1H), 5,27 (d, $J = 9,9$ Hz, 1H), 4,86 (q, $J = 8,2$ Hz, 1H), 4,76 (p, $J = 6,2$ Hz, 1H), 4,40 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 4,21 (ddd, $J = 10,7, 7,6, 4,9$ Hz, 1H), 3,66 (s, 3H), 2,89-2,79 (m, 1H), 2,59-2,29 (m, 6H), 1,83 (d, $J = 1,3$ Hz, 3H), 1,61 (s, 3H), 1,16 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H), 1,00 (s, 9H).

(b) Điều chế hợp chất 33



Điều chế hợp chất 30

Bổ sung 4-metoxitriphenylmetyl clorua (5,89g, 19,1mmol) và DIPEA (6,3mL, 36,38mmol) vào dung dịch chứa 3-bromopropylamin hydrobromua (1,22g, 2,98mmol) trong CH_2Cl_2 (30mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C qua đêm, pha loãng bằng H_2O và chiết bằng CH_2Cl_2 . Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên Na_2SO_4 khan, lọc và cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO_2 , hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 30 tinh khiết (8,16g, 100%) dưới dạng chất rắn trắng.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,50-7,42 (m, 4H), 7,39-7,33 (m, 2H), 7,29-7,22 (m, 4H), 7,22-7,15 (m, 2H), 6,81 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,56 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 2,26 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H), 2,07-1,96 (m, 2H).

Điều chế hợp chất 31

Bổ sung kali etylxanthogenat (1,46g, 9,08mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 30 (1,49g, 3,63mmol) trong etanol (36mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C qua đêm và sau đó, kali bromua kết tủa được lọc ra khỏi dung dịch. Sau khi phần lọc được bay hơi trong điều kiện áp suất thấp, và phần cặn rắn được nghiền bằng hexan. Phần

rắn thu được được loại bỏ bằng cách lọc và phần lọc được bay hơi và tinh chế bằng sắc ký nhanh (SiO_2 , hỗn hợp Hex/EtOAc) để thu được hợp chất 31 (1,31g, 80%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,50-7,42 (m, 4H), 7,39-7,33 (m, 2H), 7,29-7,22 (m, 4H), 7,22-7,15 (m, 2H), 6,81 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 4,62 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,32-3,20 (dd, $J = 7,7, 6,9$ Hz, 2H), 2,23 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H), 1,91-1,80 (m, 2H), 1,41 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H).

Điều chế hợp chất 32

Bổ sung 1-propylamin (4,4mL, 66,4mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 31 (3g, 6,64mmol) trong DCM (10mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 10 phút và cô trong chân không. Phần cặn thu được được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần làm sạch thêm. Nó được hoà tan trong metanol khô (50mL) và làm lạnh đến nhiệt độ 0°C . Metyl metanthiosulfonat (9,7mL, 7,97mmol) được bổ sung và dung dịch này được khuấy trong 16 giờ ở nhiệt độ 23°C . Dung môi được loại bỏ trong chân không, phần cặn dầu được hoà tan trong điclorometan, được rửa bằng dung dịch đệm có độ pH = 7 và nước muối, được làm khô và làm bay hơi. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO_2 , hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 32 (1, 6g, 59%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,52-7,44 (m, 4H), 7,38 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 7,32-7,22 (m, 4H), 7,19 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H), 6,82 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 3,79 (s, 3H), 2,90-2,72 (m, 2H), 2,39 (s, 3H), 2,24 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H), 1,88 (p, $J = 6,9$ Hz, 2H).

Điều chế hợp chất 33

Bổ sung axit đicloaxetic (0,9mL, 10,9mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 32 (1,22g, 2,98mmol) trong CH_2Cl_2 (30mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 20 phút và pha loãng bằng nước. Lớp hữu cơ được chiết và pha nước được bazơ hóa bằng KOH 10%. Sau đó, nó được chiết đều bằng điclorometan (3x), và phần chiết hữu cơ thu gom được làm khô trên Na_2SO_4 , lọc và cô để thu được hợp chất 33 (409mg, 100%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 2,83-2,75 (m, 2H), 2,41 (s, 3H), 1,88-1,81 (m, 2H).

(c) Điều chế hợp chất 34

Bổ sung hợp chất 33 (50mg, 0,36mmol) và DIPEA (0,06mL, 0,36mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 29 (230,2mg, 0,33mmol), được điều chế như được mô tả trong bước (a) nêu trên, trong CH₂Cl₂ (10mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 3 giờ, pha loãng bằng H₂O và chiết bằng CH₂Cl₂. Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên Na₂SO₄ khan, lọc và cô trong chân không. Phần cần thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO₂, hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 34 tinh khiết (150mg, 66%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,68 (d, *J* = 10,7 Hz, 1H), 7,31 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H), 6,90 (dd, *J* = 12,7, 10,2 Hz, 1H), 6,81 (dd, *J* = 10,9, 8,5 Hz, 1H), 6,38 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 6,16 (d, *J* = 11,7 Hz, 1H), 5,69 (d, *J* = 11,5 Hz, 1H), 5,65-5,52 (m, 3H), 5,41-5,37 (m, 1H), 5,29-5,56 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 4,83 (q, *J* = 8,3 Hz, 1H), 4,54-4,50 (m, 1H), 4,46 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 4,24-4,19 (m, 1H), 3,65 (s, 3H), 3,36-3,16 (m, 2H), 2,86-2,82 (m, 1H), 2,70 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,44-2,35 (m, 5H), 2,40 (s, 3H), 2,19-2,04 (m, 1H), 1,98-1,83 (m, 2H), 1,84 (s, 3H), 1,63 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 1,16 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 1,05 (s, 9H).

ESI-MS *m/z*: Tính toán được đối với C₃₅H₅₃N₃O₇S₂: 691,33. Thu được bằng thực nghiệm: 692,4 (M+H)⁺.

(d) Điều chế hợp chất 35

Bổ sung hỗn dịch chứa 3-aminopropan-1-thiol hydroclorua (37,2mg, 0,29mmol) trong DCM (2,5mL), DIPEA (59μL, 0,34mmol) và DMF (0,1mL) ở nhiệt độ 23°C Vào dung dịch chứa hợp chất 29 (121,3mg, 0,17mmol), được điều chế như được mô tả trong bước (a) nêu trên, trong DCM (2,5mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 7 giờ, pha loãng bằng H₂O và chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên khan Na₂SO₄, lọc và cô trong chân không. Phần cần thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO₂, hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được tinh khiết Hợp chất 35 (40,5mg, 37%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8,63 (d, *J* = 10,6 Hz, 1H), 7,34- 7,21 (m, 1H), 6,88 (t, *J* = 11,4 Hz, 1H), 6,76 (t, *J* = 9,6 Hz, 1H), 6,68 (d, *J* = 9,3 Hz, 1H), 6,13 (d, *J* = 11,6 Hz, 1H), 5,7-5,67 (m, 3H), 5,66-5,48 (m, 3H), 4,81 (q, *J* = 8,1 Hz, 1H), 4,66-4,50 (m, 1H), 4,46 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 4,25-4,18 (m, 1H), 3,64 (s, 3H), 3,27-3,34 (m, 1H), 2,88-2,77 (m, 1H), 2,66 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,42-2,30 (m, 5H), 2,22-2,06 (m, 2H), 1,89-1,74 (m, 5H), 1,62 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 1,15 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 1,05 (s, 9H).

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $C_{68}H_{100}N_6O_{14}S_2$: 1288,67. Thu được bằng thực nghiệm: 1289,4($M+H$)⁺.

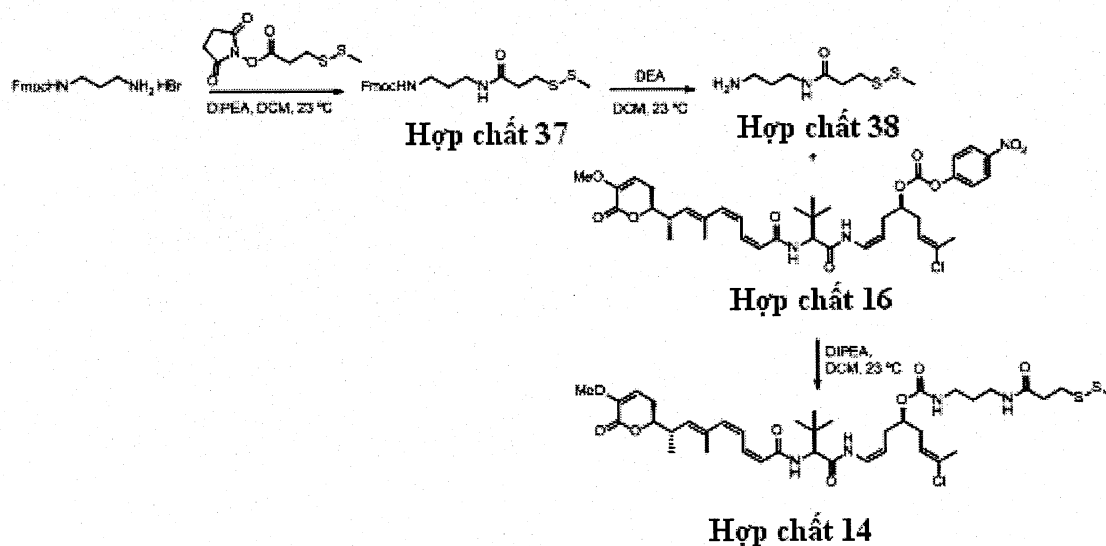
(e) Điều chế hợp chất 36

Dung dịch chứa hợp chất 35 (40,5mg, 0,03mmol) trong hỗn hợp chứa EtOAc (1,5mL) và CH_3OH (1,5mL) được xử lý bằng dung dịch dithiotreitol (0,36mL, 0,36mmol) trong dung dịch đệm kali phosphat 0,05M (1,2mL) ở độ pH = 7,5 chứa axit etylendiamintetraaxetic (EDTA) 2nM. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 4 giờ. Phản ứng được xử lý bằng dung dịch chứa dung dịch đệm kali phosphat 0,2M ở độ pH = 6,0 chứa EDTA 2mM và chiết bằng EtOAc (x3). Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên Na_2SO_4 khan, lọc và cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ HPLC (SiO_2 , hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 36 (15mg, 38%).

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 8,70 (d, J = 10,7 Hz, 1H), 7,35- 7,21 (m, 1H), 6,89 (t, J = 11,4 Hz, 1H), 6,80 (t, J = 9,8 Hz, 1H), 6,42 (d, J = 9,4 Hz, 1H), 6,16 (d, J = 11,3 Hz, 1H), 5,75-5,48 (m, 3H), 5,52-5,13 (m, 3H), 4,83 (q, J = 8,3 Hz, 1H), 4,65-4,38 (m, 2H), 4,32-4,16 (m, 1H), 3,65 (s, 3H), 3,29 (q, J = 6,6 Hz, 2H), 2,85 (dt, J = 9,8, 6,9 Hz, 1H), 2,54 (q, J = 7,3 Hz, 2H), 2,48-2,26 (m, 5H), 2,19-2,01 (m, 1H), 1,89-1,74 (m, 5H), 1,63 (dd, J = 6,8, 1,7 Hz, 3H), 1,16 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 1,05 (s, 9H).

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $C_{34}H_{51}N_3O_7S$: 645,85. Thu được bằng thực nghiệm: 668,4 ($M+Na$)⁺.

Ví dụ 21: Tổng hợp hợp chất 14 theo cách khác



(a) Điều chế hợp chất 37

Bổ sung DIPEA (0,52mL, 3mmol) và N-hydroxysuccinimide của axit 6-maleimidoheptanoic (323,7mg, 1,1mmol) vào dung dịch chứa N-Fmoc-1,3-propanedi-amin hydrobromua (377mg, 1mmol) trong CH₂Cl₂ (15mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C qua đêm và cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO₂, hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 37 tinh khiết (430mg, 100%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,76 (dd, *J* = 7,6, 1,0 Hz, 2H), 7,64-7,55 (m, 2H), 7,45-7,37 (m, 2H), 7,31 (td, *J* = 7,5, 1,2 Hz, 2H), 6,16 (bs, 1H), 5,24 (bs, 1H), 4,42 (d, *J* = 6,9 Hz, 2H), 4,21 (t, *J* = 6,8 Hz, 1H), 3,27 (dq, *J* = 18,3, 6,3 Hz, 4H), 2,99 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,62 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,41 (s, 3H), 1,71-1,59 (m, 2H).

(b) Điều chế hợp chất 38

Bổ sung dietylamine (1,4mL, 13,5mmol) vào dung dịch chứa 37 (430mg, 1mmol), đã được điều chế như được mô tả trong bước (a) nêu trên, trong CH₂Cl₂ (8mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 6 giờ và cô trong chân không. Phần cặn thu được được nghiền bằng Et₂O và lọc để thu được hợp chất 38 (148mg, 71%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 3,29 (td, *J* = 6,5, 2,3 Hz, 2H), 3,01-2,86 (m, 2H), 2,78 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H), 2,57 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H), 2,37 (s, 3H), 1,69 (p, *J* = 6,6 Hz, 2H).

(c) Điều chế hợp chất 14

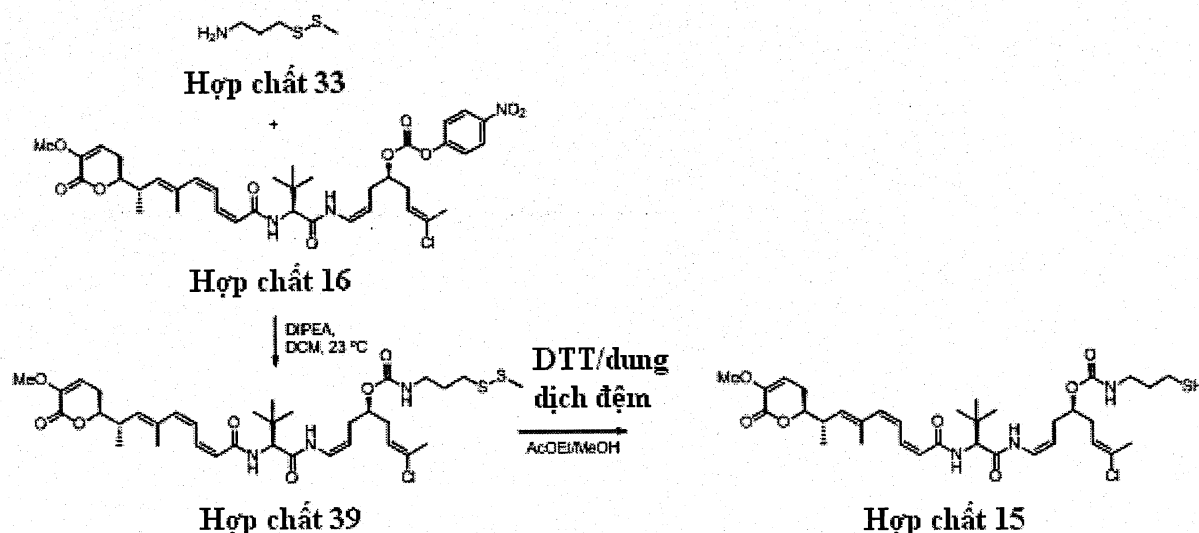
Bổ sung dung dịch chứa hợp chất 38 (58mg, 0,28mmol), đã được điều chế như được mô tả trong bước (b) nêu trên, và DIPEA (0,1mL, 0,56mmol) trong CH₂Cl₂ (2mL) vào dung dịch chứa hợp chất 16 (60mg, 0,08mmol), đã được điều chế như được mô tả trong ví dụ 5(a) nêu trên, trong CH₂Cl₂ (2mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 3 giờ, pha loãng bằng H₂O và chiết bằng CH₂Cl₂. Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên Na₂SO₄ khan, lọc và cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO₂, hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 14 tinh khiết (60,5mg, 95%).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8,88 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H), 7,29-7,24 (m, 1H), 6,90 (t, *J* = 11,5 Hz, 1H), 6,82 (t, *J* = 9,1 Hz, 1H), 6,63 (t, *J* = 6,1 Hz, 1H), 6,49 (d, *J* = 9,4 Hz,

^1H), 6,16 (dd, $J = 11,5, 1,5$ Hz, 1H), 5,70 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H), 5,68-5,51 (m, 3H), 5,29 (d, $J = 9,7$ Hz, 1H), 4,81 (q, $J = 8,2$ Hz, 1H), 4,52 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 4,52-4,43 (m, 1H), 4,24 (ddd, $J = 11,5, 7,3, 4,3$ Hz, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,37-3,21 (m, 3H), 3,21-3,12 (m, 1H), 2,97 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,90-2,81 (m, 1H), 2,60 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,49-2,35 (m, 3H), 2,39 (s, 3H), 2,33 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H), 2,14-2,07 (m, 1H), 2,07 (s, 3H), 1,84 (s, 3H), 1,73-1,64 (m, 2H), 1,16 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H), 1,05 (s, 9H).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 171,6, 168,2, 166,4, 161,6, 157,2, 145,2, 140,3, 137,4, 134,2, 134,0, 131,9, 124,4, 124,1, 122,4, 120,7, 108,3, 105,6, 81,8, 74,8, 60,6, 60,4, 55,5, 37,8, 37,2, 36,2, 35,6, 34,7, 33,1, 31,0, 29,8, 26,7, 26,2, 23,0, 21,0, 17,2, 16,6.

Ví dụ 22: Tổng hợp hợp chất 15 theo cách khác



(a) Điều chế hợp chất 39

Bổ sung hợp chất 33 (120mg, 0,88mmol), đã được điều chế như được mô tả trong ví dụ 20(b) nêu trên, và DIPEA (0,05mL, 0,25mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 16 (178,7mg, 0,25mmol), đã được điều chế như được mô tả trong ví dụ 5(a) nêu trên, trong CH_2Cl_2 (2,5mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 2 giờ, pha loãng bằng H_2O và chiết bằng CH_2Cl_2 . Lỏng hữu cơ thu gom được làm khô trên Na_2SO_4 khan, lọc và cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO_2 , hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 39 tinh khiết (100mg, 56%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,65 (d, $J = 10,7$ Hz, 1H), 7,28 (t, $J = 11,6$ Hz, 1H), 6,90 (t, $J = 11,5$ Hz, 1H), 6,82 (t, $J = 9,6$ Hz, 1H), 6,37 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 6,17 (d, $J = 11,7$ Hz, 1H), 5,69 (d, $J = 11,4$ Hz, 1H), 5,64-5,57 (m, 2H), 5,34 (t, $J = 6,2$ Hz, 1H),

5,29 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H), 4,81 (q, $J = 8,3$ Hz, 1H), 4,54-4,49 (m, 1H), 4,45 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 4,28-4,17 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,37-3,21 (m, 2H), 2,85 (dt, $J = 9,7, 6,9$ Hz, 1H), 2,71 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,44-2,30 (m, 5H), 2,38 (s, 3H), 2,13-2,06 (m, 1H), 2,07 (s, 3H), 1,93 (p, $J = 6,9$ Hz, 2H), 1,84 (s, 3H), 1,16 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 1,06 (s, 9H).

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $C_{35}H_{52}ClN_3O_7S_2$: 725,9. Thu được bằng thực nghiệm: 748,3 ($M+Na$)⁺.

(b) Điều chế hợp chất 15

Dung dịch chứa hợp chất 39 (90mg, 0,12mmol), đã được điều chế như được mô tả trong ví dụ 5(a) nêu trên, trong hỗn hợp chứa EtOAc (6,7mL) và CH_3OH (6,7mL) được xử lý bằng dung dịch dithiotreitol (0,36mL, 0,36mmol) trong dung dịch đệm kali phosphat 0,05M (6,7mL) ở độ pH = 7,5 chứa axit etylenđiamintetraaxetic (EDTA) 2nM. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 4 giờ. Phản ứng được xử lý bằng dung dịch đệm kali phosphat 0,2M ở độ pH = 6,0 chứa EDTA 2mM và chiết bằng EtOAc (x3). Lốp hữu cơ thu gom được làm khô trên Na_2SO_4 khan, lọc và cô trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng hệ thống sắc ký nhanh (SiO_2 , hỗn hợp Hex:EtOAc) để thu được hợp chất 15 đích tinh khiết (40,2mg, 46%).

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 8,66 (d, $J = 10,7$ Hz, 1H), 7,29 (t, $J = 11,2$ Hz, 1H), 6,91 (t, $J = 11,5$ Hz, 1H), 6,83 (t, $J = 9,7$ Hz, 1H), 6,38 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 6,17 (d, $J = 11,8$ Hz, 1H), 5,70 (d, $J = 11,4$ Hz, 1H), 5,65-5,51 (m, 2H), 5,34 (t, $J = 6,3$ Hz, 1H), 5,29 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H), 4,82 (q, $J = 8,3$ Hz, 1H), 4,56-4,48 (m, 1H), 4,45 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 4,22 (ddd, $J = 11,4, 7,5, 4,3$ Hz, 1H), 3,67 (s, 3H), 3,31 (q, $J = 6,4$ Hz, 2H), 2,88-2,83 (m, 1H), 2,55 (q, $J = 7,7$ Hz, 2H), 2,47-2,30 (m, 5H), 2,12-2,07 (m, 1H), 2,08 (s, 3H), 1,88-1,76 (m, 5H), 1,17 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 1,06 (s, 9H).

^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ 168,2, 166,2, 161,5, 156,7, 145,2, 140,2, 137,3, 134,2, 134,0, 132,0, 124,4, 124,2, 122,3, 120,8, 108,1, 105,5, 81,8, 74,5, 60,6, 55,4, 39,6, 37,3, 34,6, 33,9, 33,3, 30,8, 26,7, 26,3, 21,8, 21,1, 17,2, 16,7.

ESI-MS m/z : Tính toán được đối với $C_{34}H_{50}ClN_3O_7S$: 679,3. Thu được bằng thực nghiệm: 702,4 ($M+Na$)⁺.

Ví dụ chứng minh hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp kháng thể-được chất theo sáng chế

Thử nghiệm sinh học để phát hiện hoạt tính kháng khối u

Mục đích của thử nghiệm là nhằm đánh giá hoạt tính kìm tế bào (khả năng trì hoãn hoặc kìm hãm sự phát triển của tế bào của khối u) hoặc gây độc tế bào (khả năng tiêu diệt các tế bào của khối u) *in vitro* của các mẫu được thử nghiệm.

Các dòng tế bào và môi trường nuôi cấy tế bào

Tất cả các dòng tế bào của khối u được sử dụng trong nghiên cứu này thu được từ Ngân hàng giống và vi sinh vật Hoa Kỳ (ATCC), trừ khi có chỉ dẫn khác; BT-474 (ATCC HTB-20, bệnh ung thư biểu mô tuyến ngực), SK-BR-3 (ATCC HTB-30, bệnh ung thư tuyến vú) và HCC-1954 (ATCC CRL-2338, bệnh ung thư biểu mô tuyến ngực), tất cả HER2+; MDA-MB-231 (ATCC HTB-26, bệnh ung thư tuyến vú) và MCF-7 (ATCC HTB-22, bệnh ung thư tuyến vú, tràn dịch màng phổi), tất cả HER2-; SK-OV-3 (ATCC HTB-77, bệnh ung thư buồng trứng), HER2+; NB-4 (Bệnh bạch cầu tiền tủy bào cấp tính, APL, CD13+, *M. Lanotte et al. (1991) NB4, a maturation inducible cell line with t(15;17) marker isolated from a human acute promyelocytic leukemia (M3). Blood 77, 1080-1086*), (CD13+) và U937 (ATCC CRL-1593,2, u mô bạch huyết, CD13+ và CD4+); Raji (ATCC CCL-86, u bạch huyết dạng Burkitt) (CD13-, CD20+, CD5-, và CD4-); RPMI-8226 (ATCC CRM-CCL-155, đa u tủy) (CD13-, CD20-, CD5- và CD4-); Karpas-299 (DSMZ ACC-31, u bạch huyết không phải dạng Hodgkin) (CD20-, CD5+, và CD4+); MOLT-4 (ATCC CRL-1582, bệnh bạch cầu lympho nguyên bào cấp tính, CD5+). Ngoài ra, hai dòng tế bào Raji (ATCC CCL-86, u bạch huyết dạng Burkitt) được sử dụng trong nghiên cứu này, dòng Raji #10 (mức biểu hiện CD5 cao) và dòng Raji 18 (không biểu hiện CD5), được đưa ra bởi giáo sư Juan M. Zapata (Instituto de Investigaciones Biomédicas “Alberto Sols”, CSIC-UAM, Madrid, Spain). Các tế bào này được giữ ở nhiệt độ 37°C, 5% CO₂ và độ ẩm 95% trong môi trường Eagle được cải biến Dulbecco (DMEM) (đối với các tế bào MCF và MDA-MB-231), RPMI-1640 (đối với các tế bào SK-BR-3, HCC-1954, NB-4, U937, Raji, RPMI-8226, Karpas-299, MOLT-4, dòng Raji #10 và dòng Raji #18), RPMI-1640 + 1% ITS (đối với các tế bào BT-474) hoặc McCOyS (đối với các tế bào SK-OV-3), tất cả các môi trường nuôi cấy có bổ sung 10% huyết thanh bào thai bê (FCS) và 100 đơn vị/mL Penicillin và streptomycin.

Thử nghiệm độc tính tế bào

Đối với các tế bào bám dính: Thử nghiệm đo màu có sử dụng sulforhodamin B (SRB) được sử dụng thích hợp để định lượng quá trình sinh trưởng tế bào và hoạt tính gây độc tế bào, như được mô tả trong ấn phẩm: V. Vichai and K. Kirtikara (2006) Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. *Nature Protocols*, 1, 1112-1116. Tóm lại, các tế bào được nuôi cấy trong đĩa vi khuẩn độ 96 giếng và để yên trong 24 giờ trong môi trường không chứa được chất trước khi xử lý bằng tá được lỏng riêng rẽ hoặc các hợp chất chỉ định trong 72 giờ. Để định lượng, các tế bào được rửa hai lần bằng dung dịch nước muối đệm phosphat (PBS), được cố định trong 15 phút trong dung dịch glutaraldehyt 1%, được rửa hai lần bằng PBS, được nhuộm trong dung dịch axit axetic 0,4% SRB-1% trong 30 phút, được rửa vài lần bằng dung dịch axit axetic 1% và làm khô trong không khí. Sau đó, SRB được chiết trong dung dịch bazơ trizma 10mM và mật độ quang học được đo ở 490 nm trong thiết bị quang phổ vi đĩa. Khả năng sống sót tế bào được biểu hiện bằng tỷ lệ tỷ lệ phần trăm sống sót tế bào không được xử lý, đối chứng.

Đối với các tế bào hỗn dịch: Thử nghiệm trao đổi tiêu chuẩn sử dụng MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromua) được sử dụng thích hợp để định lượng quá trình sinh trưởng tế bào và hoạt tính gây độc tế bào, như được mô tả trong ấn phẩm: T. Mosmann (1983) *Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. J. Immunol. Meth.*, 65, 55-63. Tóm lại, dung dịch MTT được bổ sung vào môi trường nuôi cấy tế bào ở nồng độ cuối cùng bằng 0,5 mg/mL, và ủ trong khoảng thời gian từ 1 đến 4 giờ ở nhiệt độ 37°C cho đến khi các tinh thể formazan được tạo ra. Môi trường nuôi cấy được loại ra một cách cẩn thận khỏi môi trường nuôi cấy tế bào và các tinh thể formazan được tạo hỗn dịch lại trong 100µL DMSO. Sau khi trộn để đảm bảo quá trình hoà tan, lượng formazan (có thể tỷ lệ thuận với số lượng tế bào sống sót) được đo bằng ghi lại sự thay đổi về độ hấp phụ ở 570 nm bằng cách sử dụng thiết bị quang phổ có đĩa đọc. Khả năng sống sót tế bào được biểu hiện bằng tỷ lệ tỷ lệ phần trăm sống sót tế bào không được xử lý, đối chứng.

Trị số IC_{50} được sử dụng trong bản mô tả để chỉ nồng độ của hợp chất tiêu diệt 50% tế bào khi so sánh với khả năng sống sót tế bào đối chứng.

Ví dụ về hoạt tính sinh học 1: Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC1 và các chất phản ứng liên quan đối với các tế bào ung thư vú biểu hiện và không biểu hiện HER2

Hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC1 cùng với các hợp chất gây độc tế bào gốc 1 và 4 và Trastuzumab được đánh giá đối với các dòng tế bào ung thư vú biểu hiện quá mức hoặc không biểu hiện thụ thể HER2 của các đối tượng bị bệnh khác nhau, bao gồm BT-474, HCC-1954 và SK-BR-3 (tế bào biểu hiện HER2) và MDA-MB-231 và MCF-7 (tế bào không biểu hiện HER). SK-OV-3, dòng tế bào ung thư buồng trứng HER2+, cũng được bao hàm trong thử nghiệm này làm mô hình tế bào không phải mô ngực. Đường cong đáp ứng liều (DR) tiêu chuẩn trong 72 giờ được tiến hành.

Hoạt tính gây độc tế bào của Trastuzumab

Trên tất cả, hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của Trastuzumab được thử nghiệm đối với các dòng tế bào của khối u khác nhau. Trong ba đường cong đáp ứng liều như nhau nằm trong khoảng từ $5,0E+01$ đến $2,6E-03\mu\text{g/mL}$ ($3,4E-07$ - $1,8E-11$ M), trong hai thử nghiệm độc lập, Trastuzumab hoàn toàn không có hoạt tính, không đạt được trị số IC_{50} trong dòng tế bào bất kỳ đã được thử nghiệm, độc lập về tình trạng HER2 của chúng (xem Bảng 3).

Bảng 3. Tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của Trastuzumab

	Trastuzumab					
	Tế bào ung thư vú					Tế bào ung thư buồng trứng
	HER2+			HER2-		HER2+
	BT-474	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231	SK-OV-3
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	$> 5,0E+01$	$> 5,0E+01$	$> 5,0E+01$	$> 5,0E+01$	$> 5,0E+01$	$> 5,0E+01$
IC_{50} (Mol)	$> 3,44E-07$	$> 3,44E-07$	$> 3,44E-07$	$> 3,44E-07$	$> 3,44E-07$	$> 3,44E-07$

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 trung gian được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ $1E-01$ đến $2,6E-05\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ $1,5E-07$ đến $3,9E-11$ M).

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất này, trong hai thử nghiệm độc lập, là tương đối đồng nhất trong các dòng tế bào khác nhau được thử nghiệm, với trị số IC_{50} trong khoảng nanomol thấp, nằm trong khoảng từ $8,9E-05$ đến $1,7E-03\mu\text{g/mL}$ (nằm trong

khoảng từ $1,34\text{E-}10$ đến $2,6\text{E-}09$ M), với trị số IC_{50} trung bình trong toàn bộ ô tế bào là $5,69\text{E-}04\mu\text{g/mL}$ ($8,57\text{E-}10$ M). Ngoài ra, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 là độc lập với tình trạng HER2 của các dòng tế bào của khối u (xem Bảng 4).

Bảng 4. Tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 4

	Hợp chất 4					
	Tế bào ung thư vú					Tế bào ung thư buồng trứng
	HER2+			HER2-		HER2+
	BT-474	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231	SK-OV-3
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	$1,74\text{E-}03$	$1,30\text{E-}04$	$8,90\text{E-}05$	$4,15\text{E-}04$	$3,10\text{E-}04$	$7,30\text{E-}04$
IC_{50} (Mol)	$2,62\text{E-}09$	$1,96\text{E-}10$	$1,34\text{E-}10$	$6,26\text{E-}10$	$4,68\text{E-}10$	$1,10\text{E-}09$

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 1

Hoạt tính của hợp chất gốc 1 được thử nghiệm bằng cách sử dụng cùng điều kiện như trên, nằm trong khoảng từ $1\text{E-}01$ đến $2,6\text{E-}05\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ $1,1\text{E-}07$ đến $3,0\text{E-}11$ M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất này, trong hai thử nghiệm độc lập, cũng tương đối đồng nhất trong các dòng tế bào khác nhau được thử nghiệm, với trị số IC_{50} trong khoảng nanomol thấp, nằm trong khoảng từ $8,9\text{E-}04$ đến $6,4\text{E-}03\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ $1,04\text{E-}09$ đến $7,47\text{E-}09$ M), với trị số IC_{50} trung bình trong toàn bộ ô tế bào là $3,41\text{E-}03\mu\text{g/mL}$ ($3,98\text{E-}09$ M). Liên kết maleimide dường như làm giảm nhẹ hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất. Tiếp theo, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 1 là độc lập với tình trạng HER2 của các dòng tế bào của khối u (xem Bảng 5).

Bảng 5. Tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 1

	Hợp chất 1					
	Tế bào ung thư vú					Tế bào ung thư buồng trứng
	HER2+			HER2-		HER2+
	BT-474	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231	SK-OV-3
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	$6,40\text{E-}03$	$9,60\text{E-}04$	$8,90\text{E-}04$	$3,70\text{E-}03$	$2,80\text{E-}03$	$5,70\text{E-}03$
IC_{50} (Mol)	$7,47\text{E-}09$	$1,12\text{E-}09$	$1,04\text{E-}09$	$4,32\text{E-}09$	$3,27\text{E-}09$	$6,66\text{E-}09$

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC1

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC1 được thử nghiệm đối với các dòng tế bào khác nhau. Để đảm bảo khoảng nồng độ thích hợp, thể tiếp hợp được thử nghiệm trong sáu đường cong đáp ứng liều khác nhau, lặp lại ba lần (mười nồng độ pha loãng theo bậc, tỷ lệ 1/2,5) từ 50, 10, 1, 0,1, 0,01 và $0,001\mu\text{g/mL}$ (tương đương với nồng

độ mol 3,3E-07, 6,6E-08, 6,6E-09, 6,6E-10, 6,6E-11 và 6,6E-12), trong hai thử nghiệm độc lập.

Đường cong đáp ứng liều đại diện được thể hiện trên Fig.3.

Sau khi điều chỉnh các đường cong đáp ứng liều khác nhau, trị số IC_{50} trung bình được tính toán đối với ADC1 đối với các dòng tế bào khác nhau được thể hiện trong Bảng 6 dưới đây. ADC1 có hoạt tính gây độc tế bào tương đối giống với hoạt tính của hợp chất gốc 1 riêng rẽ và, quan trọng là, tính đặc hiệu rõ ràng đối với các tế bào biểu hiện HER2+. Do đó, các tác giả sáng chế nhận thấy rằng thể tiếp hợp thực sự hoạt động thông qua quá trình tương tác của kháng thể đơn dòng với thụ thể HER2 liên quan đến màng trên các tế bào của khối u, và tiếp đó phân phối nội bào được chất gây độc tế bào vào mô đích. Trong số các dòng tế bào biểu hiện HER2, có sự khác nhau đáng kể về tính nhạy đối với ADC1. Các dòng tế bào nhạy cảm nhất là HCC-1954 và SK-BR-3, có IC_{50} là 3,88E-02 và 2,45E-02 $\mu\text{g/mL}$ (tương đương với 2,581E-10 và 1,63E-10 M), tiếp đó là các tế bào BT-474, có trị số IC_{50} cao hơn đáng kể là 7,4E-01 $\mu\text{g/mL}$ (tương đương với 4,93E-09 M). Dòng tế bào buồng trứng SK-OV-3 có trị số IC_{50} cao hơn nữa là 7,0E+00 $\mu\text{g/mL}$ (tương đương với 4,67E-08 M). Hai tế bào không biểu hiện HER có tính nhạy tương đương là 2,0E+01 $\mu\text{g/mL}$ (tương đương với khoảng 1,0E-07 M) (xem Bảng 6).

Bảng 6. Tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC1

Dòng tế bào	Thể tiếp hợp ADC1					
	Tế bào ung thư vú					Tế bào ung thư buồng trứng
	HER2+			HER2-		HER2+
Tình trạng HER2	BT-474	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231	SK-OV-3
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	7,40E-01	3,88E-02	2,45E-02	1,20E+01	2,00E+01	7,00E+00
IC_{50} trung bình ($\mu\text{g/mL}$) đối với tế bào ung thư vú biểu hiện HER2						2,68E-01
IC_{50} trung bình ($\mu\text{g/mL}$) đối với tế bào ung thư vú không biểu hiện HER2						1,60E+01
IC_{50} (M)	4,93E-09	2,58E-10	1,63E-10	7,97E-08	1,33E-07	4,67E-08
IC_{50} trung bình (M) đối với tế bào ung thư vú biểu hiện HER2						1,79E-09
IC_{50} trung bình (M) đối với tế bào ung thư vú không biểu hiện HER2						1,07E-07

Do đó, các dòng tế bào biểu hiện HER2 đáp ứng nhất có tính nhạy cao hơn khoảng 300-800 lần so với các dòng tế bào không biểu hiện HER2, chứng tỏ thể tiếp hợp này có tính đặc hiệu đối với các tế bào biểu hiện HER2.

Để so sánh bằng đồ thị, hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng Trastuzumab riêng lẻ với hoạt tính của thể tiếp hợp ADC1, các biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ (10 μ g/mL) hoặc ADC ở nồng độ bằng 10 μ g/mL hoặc 1 μ g/mL, được thể hiện trên Fig.4. Như có thể thấy từ Fig.4, ở nồng độ tương đương là 10 μ g/mL, mAb Trastuzumab riêng lẻ có hoạt tính gây độc tế bào rất nhỏ hoặc không có hoạt tính gây độc tế bào (< 20% cực đại) đối với dòng tế bào bất kỳ được thử nghiệm, độc lập với tình trạng HER2 của chúng. Trái lại, ADC1 có hoạt tính gây độc tế bào tiềm năng đối với các tế bào biểu hiện HER2, HCC-1954 và SK-BR-3 và, có hoạt tính yếu hơn đối với, BT-474 và SK-OV-3, tạo ra tỷ lệ ức chế trung bình về khả năng sống sót tế bào lần lượt là 88%, 82%, 52% và 47%, khi so với các tế bào đối chứng. Ở nồng độ này, ADC1 biểu hiện một số hoạt tính gây độc tế bào đối với tế bào không biểu hiện HER MCF-7 và MDA-MB-231, với tỷ lệ ức chế trung bình về khả năng sống sót tế bào lần lượt là 38% và 32%. Ở nồng độ 1 μ g/mL, thể tiếp hợp ADC1 có hoạt tính gây độc tế bào tương tự đối với tế bào biểu hiện HER2 so với hoạt tính quan sát được ở nồng độ bằng 10 μ g/mL, nhưng trong trường hợp này không có hiệu quả phát hiện được trên các tế bào không biểu hiện HER2 (Fig.4).

Các kết quả này đã chứng minh được rằng hoạt tính gây độc tế bào và tính đặc hiệu đáng kể của thể tiếp hợp ADC1 đối với tế bào của khối u biểu hiện HER2 của người *in vitro*.

Ví dụ về hoạt tính sinh học 2 - Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC2 và các chất phản ứng liên quan đối với các tế bào ung thư vú biểu hiện và không biểu hiện HER2

Hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC2, ADC Trastuzumab-Hợp chất 5, cùng với các hợp chất gốc gây độc tế bào 5 và 8 và mAb Trastuzumab được đánh giá đối với các dòng tế bào ung thư vú biểu hiện hoặc không biểu hiện thụ thể HER2 của các đối tượng bị bệnh khác nhau, bao gồm HCC-1954 và SK-BR-3 (tế bào biểu hiện HER2) và MDA-MB-231 và MCF-7 (tế bào không biểu hiện HER). Đường cong đáp ứng liều (DR) tiêu chuẩn trong 72 giờ được tiến hành.

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 8

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 8 trung gian được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ 01E+00 đến 2,6E-04 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 1,6E-06 đến 4,0E-10 M).

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất này, trong hai thử nghiệm độc lập, là tương đối đồng nhất trong các dòng tế bào khác nhau được thử nghiệm, với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ 3,40E-03 đến 6,75E-03 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 5,4E-09 đến 1,0E-08 M), với trị số IC₅₀ trung bình trong toàn bộ ô tế bào là 5,53E-03 μ g/mL (tương đương với 8,79E-09 M). Ngoài ra, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 8 là độc lập với tình trạng HER2 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 7).

Bảng 7. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 8

	Hợp chất 8			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC ₅₀ (μ g/mL)	5,40E-03	3,40E-03	6,75E-03	6,55E-03
IC ₅₀ (Mol)	8,59E-09	5,41E-09	1,07E-08	1,04E-08

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 5

Hoạt tính của hợp chất 5, hợp chất 8 đã biến đổi chứa liên kết maleimit, được thử nghiệm trong cùng điều kiện như trên, nằm trong khoảng từ 01E+00 đến 2,6E-04 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 1,2E-06 đến 3,1E-10 M).

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất này, trong hai thử nghiệm độc lập, cũng tương đối đồng nhất trong các dòng tế bào khác nhau được thử nghiệm, với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ 1,9E-02 đến 7,7E-02 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 2,32E-08 đến 9,41E-08 M), là trị số IC₅₀ trung bình trong tất cả các ô tế bào 4,33E-02 μ g/mL (5,26E-08 M). Sự có mặt của liên kết maleimit trong Hợp chất 5 làm giảm nhẹ hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất khi so sánh với hợp chất 8. Ngoài ra, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 5 dường như độc lập với tình trạng HER2 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 8).

Bảng 8. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 5

	Hợp chất 5			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC ₅₀ (μ g/mL)	1,95E-02	1,90E-02	7,75E-02	5,70E-02
IC ₅₀ (Mol)	2,38E-08	2,32E-08	9,41E-08	6,94E-08

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC2

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC2 được thử nghiệm đối với các dòng tế bào khác nhau. Để đảm bảo khoảng nồng độ thích hợp, thể tiếp hợp được thử nghiệm trong năm khoảng nồng độ khác nhau, mỗi đường cong trong số ba đường cong đáp ứng liều lặp lại (mười nồng độ pha loãng theo bậc, tỷ lệ 1/2,5) từ 50, 10, 1, 0,1, và 0,01 $\mu\text{g/mL}$, trong hai thử nghiệm độc lập. Đường cong đáp ứng liều đại diện được thể hiện trên Fig.5. Sau khi điều chỉnh toàn bộ các đường cong đáp ứng liều khác nhau, trị số IC_{50} trung bình được tính toán đối với ADC2 đối với các dòng tế bào khác nhau được thể hiện trong Bảng 9. Thể tiếp hợp ADC2 có tính đặc hiệu đối với các tế bào biểu hiện HER2+, HCC-1954 và SK-BR-3, trong đó hợp chất đã chứng minh được rằng hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất này là tương tự như hoạt tính của hợp chất gốc 5, với trị số IC_{50} trung bình lần lượt là 5,8E+00 và 2,2E-01 $\mu\text{g/mL}$ (tương đương với 4,0E-08 và 1,5E-09 M). Hai dòng tế bào HER-, MCF-7 và MDA-MB-231, hầu như không đáp ứng với ADC2 trong khoảng nồng độ đã thử nghiệm, không đạt được trị số IC_{50} ($>5,0\text{E}+01 \mu\text{g/mL}$) (xem Fig.5 và Bảng 9).

Do đó, các tác giả sáng chế nhận thấy rằng thể tiếp hợp này thực sự hoạt động thông qua quá trình tương tác giữa kháng thể đơn dòng với thụ thể HER2 liên quan đến màng trên các tế bào của khối u, và tiếp đó phân phối nội bào được chất gây độc tế bào vào mô đích.

Bảng 9. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC2 (ADC Trastuzumab-Hợp chất 5)

Dòng tế bào	ADC2 (ADC Trastuzumab-Hợp chất 5)			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
Tình trạng HER2	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	5,80E+00	2,20E-01	$> 5,0\text{E}+01$	$> 5,0\text{E}+01$
IC_{50} trung bình ($\mu\text{g/mL}$) đối với tế bào ung thư vú biểu hiện HER2				3,01E+00
IC_{50} trung bình ($\mu\text{g/mL}$) đối với tế bào ung thư vú không biểu hiện HER2				$> 5,0\text{E}+01$
IC_{50} (M)	4,00E-08	1,52E-09	$> 3,4\text{E}-07$	$> 3,4\text{E}-07$
IC_{50} trung bình (M) đối với tế bào ung thư vú biểu hiện HER2				2,08E-08
IC_{50} trung bình (M) đối với tế bào ung thư vú không biểu hiện HER2				$> 3,4\text{E}-07$

Để so sánh bằng đồ thị hoạt tính gây độc tế bào của Trastuzumab riêng lẻ với hoạt tính của thể tiếp hợp ADC2, biểu đồ thể hiện tỷ lệ tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng Trastuzumab riêng lẻ (10 $\mu\text{g/mL}$) hoặc ADC

ở nồng độ bằng 10 μ g/mL hoặc 1 μ g/mL, được thể hiện trên Fig.6. Ở nồng độ 10 μ g/mL, mAb Trastuzumab riêng lẻ không có hoạt tính gây độc tế bào đối với dòng tế bào bất kỳ được thử nghiệm, độc lập với tình trạng HER2 của chúng. Trái lại, thể tiếp hợp ADC2 có hoạt tính gây độc tế bào đáng kể và đặc hiệu với các tế bào biểu hiện HER2 HCC-1954 và SK-BR-3, tạo ra tỷ lệ ức chế trung bình về khả năng sống sót tế bào lần lượt là 57% và 78%, khi so sánh với các tế bào đối chứng.

Ở nồng độ 1 μ g/mL, thể tiếp hợp ADC2 có hoạt tính gây độc tế bào tương tự với tế bào biểu hiện HER2 với hoạt tính quan sát được ở nồng độ bằng 10 μ g/mL, nhưng không có hiệu quả phát hiện được trên các tế bào không biểu hiện HER2 (Fig.6).

Các kết quả này rõ ràng đã chứng minh được rằng hoạt tính gây độc tế bào và tính đặc hiệu đáng kể của thể tiếp hợp ADC2 đối với các tế bào của khối u biểu hiện HER2 của người *in vitro*.

Ví dụ về hoạt tính sinh học 3: Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC3 và các chất phản ứng liên quan đối với các tế bào ung thư vú biểu hiện và không biểu hiện HER2

Hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC3, cùng với các hợp chất gây độc tế bào gốc 12 và 4 và mAb Trastuzumab được đánh giá đối với các dòng tế bào ung thư vú biểu hiện hoặc không biểu hiện thụ thể HER2 của các đối tượng bị bệnh khác nhau, bao gồm HCC-1954 và SK-BR-3 (tế bào biểu hiện HER2) và MDA-MB-231 và MCF-7 (tế bào không biểu hiện HER). Đường cong đáp ứng liều (DR) tiêu chuẩn trong 72 giờ được tiến hành.

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất gốc 4 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ 01E-02 đến 2,6E-06 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 1,5E-07 đến 3,9E-12 M).

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4, trong hai thử nghiệm độc lập, là tương đồng trong các dòng tế bào khác nhau được thử nghiệm, với trị số IC₅₀ trong khoảng pícômol, nằm trong khoảng từ 1,16E-04 đến 2,80E-04 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 1,75E-10 đến 4,23E-10 M), với trị số IC₅₀ trung bình trong toàn bộ ô tế bào là 1,97E-

04 μ g/mL (tương đương với 2,96E-10 M). Ngoài ra, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 là độc lập với tình trạng HER2 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 10).

Bảng 10. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 4

	Hợp chất 4			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC50 (μ g/mL)	1,20E-04	1,16E-04	2,80E-04	2,70E-04
IC50 (Mol)	1,81E-10	1,75E-10	4,2E-10	4,07E-10

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 12

Hoạt tính của hợp chất 12, hợp chất 4 đã biến đổi chứa liên kết peptit có thể phân cắt được, được thử nghiệm trong cùng điều kiện thử nghiệm như đã nêu trên, trong khoảng nồng độ từ 01E+01 đến 2,6E-03 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 7,9E-06 đến 2,0E-09 M).

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 12, trong hai thử nghiệm độc lập, cũng tương đối đồng nhất trong các dòng tế bào khác nhau được thử nghiệm, với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol thấp, nằm trong khoảng từ 7,60E-03 đến 3,05E-02 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 6,02E-09 đến 2,42E-08 M), với trị số IC₅₀ trung bình trong toàn bộ ô tế bào là 1,63E-02 μ g/mL (1,29E-08 M) (Bảng 11). Sự có mặt của liên kết peptit trong Hợp chất 12 không tạo ra hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất, khi so sánh với hợp chất 4. Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 12 dĩ nhiên là độc lập với tình trạng HER2 của các dòng tế bào của khối u.

Bảng 11. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 12

	Hợp chất 12			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC50 (μ g/mL)	7,60E-03	9,05E-03	3,05E-02	1,80E-02
IC50 (Mol)	6,02E-09	7,18E-09	2,42E-08	1,43E-08

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC 3

Cuối cùng, hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC3 được thử nghiệm đối với các dòng tế bào khác nhau. Để đảm bảo khoảng nồng độ thích hợp, thể tiếp hợp được thử nghiệm trong sáu khoảng nồng độ khác nhau, mỗi đường cong trong số ba đường cong đáp ứng liều lặp lại (mười nồng độ pha loãng theo bậc, tỷ lệ 1/2,5) bắt đầu từ 50, 10, 1, 0,1, 0,01 và 0,001 μ g/mL (tương đương với 3,33E-07, 6,64E-08, 6,64E-09, 6,64E-

10, 6,64E-11 và 6,64E-12 mol nồng độ), trong hai thử nghiệm độc lập. Đường cong đáp ứng liều đại diện được thể hiện trên Fig.7. Trị số IC_{50} trung bình được tính toán đối với ADC3 đối với các dòng tế bào khác nhau được thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 12.

Thể tiếp hợp ADC3 rõ ràng là có tính đặc hiệu đáng kể đối với các tế bào biểu hiện HER2+, trong đó đã chứng minh được rằng hợp chất có hoạt tính gây độc tế bào tiềm năng, tương tự như hoạt tính của hợp chất gốc 4 (có hoạt tính khoảng 1 log hơn so với hợp chất trung gian 12 chứa liên kết peptit). Các dòng tế bào HER2+, HCC-1954 lẫn SK-BR-3, có tính nhạy như nhau đối với ADC3, với trị số IC_{50} trung bình lần lượt là 8,83E-02 và 6,77 E-02 $\mu\text{g/mL}$ (tương đương với 5,86E-10 và 4,49E-10 M). Hai dòng tế bào HER âm tính, MCF-7 và MDA-MB-231, có tính nhạy kém hơn đáng kể so với ADC3, với trị số IC_{50} trung bình lần lượt là 9,40E+00 và >5,0E+01 $\mu\text{g/mL}$ (tương đương với khoảng 6,24E-08 M và >3,32E-07 M).

Fig.8 là đồ thị thể hiện hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC3 đối với các tế bào ung thư vú biểu hiện và không biểu hiện HER2. Nhận thấy rằng các dòng tế bào HER2+ (IC_{50} trung bình là 7,80E-02 $\mu\text{g/mL}$) có tính nhạy với ADC3 cao hơn ít nhất >120 lần so với các tế bào MCF-7 âm tính với HER2 (IC_{50} trung bình là 9,40E+00 $\mu\text{g/mL}$), và nhạy hơn nhiều so với các tế bào MDA-MB-231, rõ ràng là có tính đặc hiệu của thể tiếp hợp ADC3 đối với các tế bào biểu hiện HER2 (Fig.7 và Bảng 12). Do đó, các tác giả sáng chế nhận thấy rằng thể tiếp hợp thực sự hoạt động thông qua quá trình tương tác giữa kháng thể đơn dòng với thụ thể HER2 liên quan đến màng trên các tế bào của khối u, và tiếp đó phân phối nội bào được chất gây độc tế bào vào mô đích.

Bảng 12. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC3 (Trastuzumab-Hợp chất 12).

Dòng tế bào	ADC3 (ADC Trastuzumab-Hợp chất 12)			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
Tình trạng HER2	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	8,83E-02	6,77E-02	9,40E+00	> 5,0E+01
IC_{50} trung bình ($\mu\text{g/mL}$) đối với tế bào ung thư vú biểu hiện HER2				7,80E-02
IC_{50} trung bình ($\mu\text{g/mL}$) đối với tế bào ung thư vú không biểu hiện HER2				9,40E+00
IC_{50} (M)	5,86E-10	4,49E-10	6,24E-08	>3,32E-07
IC_{50} trung bình (M) đối với tế bào ung thư vú biểu hiện HER2				5,18E-10
IC_{50} trung bình (M) đối với tế bào ung thư vú không biểu hiện HER2				6,24E-08

Để so sánh bằng đồ thị hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng Trastuzumab, riêng lẻ với hoạt tính của thể tiếp hợp ADC3, đồ thị này thể hiện tỷ lệ tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($10\mu\text{g/mL}$) hoặc ADC3 ở nồng độ là 10 hoặc $1\mu\text{g/mL}$, được thể hiện trên Fig.8, có hoạt tính gây độc tế bào của Trastuzumab vs ADC3 đối với các dòng tế bào ung thư vú của các đối tượng bị bệnh khác nhau.

Ở nồng độ tương đương $10\mu\text{g/mL}$, trastuzumab, riêng lẻ, không có hoạt tính gây độc tế bào đối với các dòng tế bào được thử nghiệm, độc lập với tình trạng HER2 của chúng. Trái lại, thể tiếp hợp ADC3 có hoạt tính gây độc tế bào tiềm năng đối với các tế bào biểu hiện HER2, HCC-1954 và SK-BR-3. Trong các dòng tế bào này, ADC3 có thể ức chế khả năng sống sót tế bào lần lượt là 83% và 84%, khi so sánh với các tế bào đối chứng. Ở nồng độ này, ADC3 cũng có hiệu quả trên các tế bào không biểu hiện HER2, MCF-7 và MDA-MB-231, tạo ra tỷ lệ ức chế nhẹ về khả năng sống sót tế bào lần lượt là 33% và 20%. Ở nồng độ $1\mu\text{g/mL}$, thể tiếp hợp ADC3 có hoạt tính gây độc tế bào tương tự đối với tế bào biểu hiện HER2 so với hoạt tính quan sát được ở nồng độ bằng $10\mu\text{g/mL}$, nhưng không có hiệu quả phát hiện được trên các tế bào không biểu hiện HER2 (Fig.8). Các kết quả này rõ ràng đã chứng minh được rằng hoạt tính gây độc tế bào và tính đặc hiệu đáng kể của thể tiếp hợp ADC3 đối với các tế bào của khối u biểu hiện HER2 của người *in vitro*.

Ví dụ về hoạt tính sinh học 4: Tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC4 và các chất phản ứng liên quan đối với các tế bào ung thư vú biểu hiện và không biểu hiện HER2

Hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC4, cùng với các hợp chất gây độc tế bào gốc 13 và 4 và mAb Trastuzumab được đánh giá đối với các dòng tế bào ung thư vú biểu hiện hoặc không biểu hiện thụ thể HER2 của các đối tượng bị bệnh khác nhau, bao gồm HCC-1954 và SK-BR-3 (tế bào biểu hiện HER2) và MDA-MB-231 và MCF-7 (Các tế bào không biểu hiện HER2). Đường cong đáp ứng liều (DR) tiêu chuẩn trong 72 giờ được tiến hành.

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất gốc Hợp chất 4 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ $1\text{E}-01$ đến $2,6\text{E}-05\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ $1,5\text{E}-07$ đến $3,0\text{E}-11\text{ M}$)

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4, trong hai thử nghiệm độc lập, là tương đồng trong các dòng tế bào khác nhau được thử nghiệm, với trị số IC_{50} trong khoảng nanomol thấp, nằm trong khoảng từ $2,43E-04$ đến $4,45E-04 \mu g/mL$ ($3,6E-10$ đến $6,7E-10$ M), với trị số IC_{50} trung bình trong tất cả các ô tế bào $3,3E-04 \mu g/mL$ (tương đương với $4,98E-10$ M). Do đó, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 là độc lập với tình trạng HER2 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 13).

Bảng 13. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 4

	Hợp chất 4			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC_{50} ($\mu g/mL$)	$2,98E-04$	$2,43E-04$	$4,45E-04$	$3,35E-04$
IC_{50} (Mol)	$4,49E-10$	$3,66E-10$	$6,71E-10$	$5,05E-10$

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 13

Hoạt tính của hợp chất 13, hợp chất 4 đã biến đổi chứa nhóm thiol, được thử nghiệm trong cùng điều kiện như đã nêu trên, nằm trong khoảng từ $1E-01$ đến $2,6E-05 \mu g/mL$ (nằm trong khoảng từ $1,3E-07$ đến $2,0E-11$ M)

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 13, trong hai thử nghiệm độc lập, cũng tương đối đồng nhất trong các dòng tế bào khác nhau được thử nghiệm, với trị số IC_{50} trong khoảng nanomol thấp, nằm trong khoảng từ $7,95E-04$ đến $2,63E-03 \mu g/mL$ (nằm trong khoảng từ $1,0E-09$ đến $3,5E-09$ M), là trị số IC_{50} trung bình trong tất cả các ô tế bào $1,83E-03 \mu g/mL$ ($2,44E-09$ M) (Bảng 14). Sự có mặt của đuôi chứa thiol trong Hợp chất 13 làm giảm nhẹ (khoảng 5 lần) hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất so với hợp chất 4. Ngoài ra, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 13 dường như độc lập với tình trạng HER2 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 14).

Bảng 14. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 13

	Hợp chất 13			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC_{50} ($\mu g/mL$)	$1,49E-03$	$7,95E-04$	$2,43E-03$	$2,63E-03$
IC_{50} (Mol)	$1,98E-09$	$1,06E-09$	$3,23E-09$	$3,50E-09$

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC4

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC4 được thử nghiệm đối với các dòng tế bào khác nhau. Để đảm bảo khoảng nồng độ thích hợp, thể tiếp hợp được thử nghiệm ở bốn khoảng nồng độ khác nhau, mỗi đường cong trong số ba đường cong đáp ứng liều lặp lại (mười nồng độ pha loãng theo bậc, tỷ lệ 1/2,5) bắt đầu từ 50, 10, 1 và 0,1 µg/mL, trong hai thử nghiệm độc lập. Đường cong đáp ứng liều đại diện được thể hiện trên Fig.9. Sau khi điều chỉnh toàn bộ các đường cong đáp ứng liều khác nhau, trị số IC₅₀ trung bình được tính toán đối với ADC4 đối với các dòng tế bào khác nhau được thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 15.

Thể tiếp hợp ADC4 có tính đặc hiệu đối với các tế bào biểu hiện HER2+, HCC-1954 và SK-BR-3, trong đó đã chứng minh được rằng hợp chất này có hoạt tính gây độc tế bào tiềm tàng tương tự như hoạt tính của các hợp chất gốc 4 và 13, với trị số IC₅₀ trung bình lần lượt là 1,17E-01 và 4,80E-02 µg/mL. Hai dòng tế bào HER âm tính, MCF-7 và MDA-MB-231, có tính nhạy thấp hơn đáng kể đối với ADC4, với trị số IC₅₀ trung bình lần lượt là 5,35E+00 và 6,50E+00 µg/mL. Nhận thấy rằng thể tiếp hợp hoạt động ưu tiên thông qua quá trình tương tác giữa kháng thể đơn dòng với thụ thể HER2 liên quan đến màng trên các tế bào của khối u, và tiếp đó phân phối nội bào được chất gây độc tế bào vào mô đích.

Bảng 15. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của thể tiếp hợp ADC4.

ADC 4				
Tình trạng HER2	HER2+		HER2-	
Dòng tế bào	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC ₅₀ (µg/mL)	1,17E-01	4,80E-02	5,35E+00	6,50E+00
IC ₅₀ trung bình (µg/mL) đối với tế bào biểu hiện HER2				8,24E-02
IC ₅₀ trung bình (µg/mL) đối với tế bào không biểu hiện HER2				5,93E+00

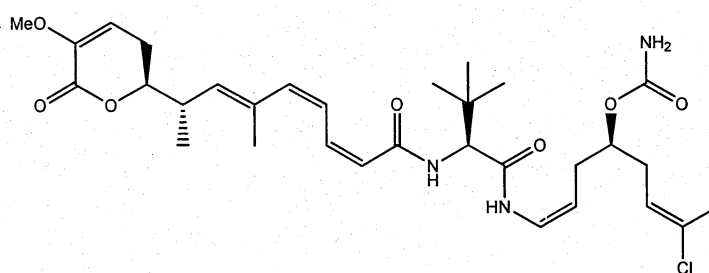
Để so sánh bằng đồ thị hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng Trastuzumab, riêng lẻ với hoạt tính của thể tiếp hợp ADC4, đồ thị này thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ (10 µg/mL) hoặc ADC4 ở nồng độ bằng 10 µg/mL hoặc 1 µg/mL, được thể hiện trên Fig.10. Ở nồng độ 10 µg/mL, mAb trastuzumab riêng lẻ, không có hoạt tính gây độc tế bào đối với dòng tế bào bất kỳ được thử nghiệm, độc lập với tình trạng HER2 của chúng. Trái lại, thể tiếp hợp ADC4 có hoạt tính gây độc tế bào đáng kể và đặc hiệu đối

với các tế bào biểu hiện HER2, HCC-1954 và SK-BR-3, tạo ra tỷ lệ ức chế trung bình về khả năng sống sót tế bào lần lượt là 80% và 75%, khi so sánh với các tế bào đối chứng. Ở nồng độ này, ADC4 cũng có hiệu quả trên các tế bào không biểu hiện HER2, MCF-7 và MDA-MB-231, tạo ra tỷ lệ ức chế khả năng sống sót tế bào lần lượt là 53% và 40%. Ở nồng độ 1µg/mL, thể tiếp hợp ADC4 có hoạt tính gây độc tế bào tương tự đối với tế bào biểu hiện HER2 so với hoạt tính quan sát được ở nồng độ bằng 10µg/mL, nhưng không phát hiện được hiệu quả trên các tế bào không biểu hiện HER2 (Fig.10). Các kết quả này rõ ràng đã chứng minh được rằng hoạt tính gây độc tế bào và tính đặc hiệu đáng kể của thể tiếp hợp ADC4 đối với các tế bào của khối u biểu hiện HER2 của người *in vitro*.

Ví dụ về hoạt tính sinh học 5: Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC5 và các chất phản ứng liên quan đối với các tế bào ung thư vú biểu hiện và không biểu hiện HER2.

Hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC5 cùng với các hợp chất gây độc tế bào gốc 15 và 40, được đánh giá đối với các dòng tế bào ung thư vú biểu hiện hoặc không biểu hiện thụ thể HER2 của các đối tượng bị bệnh khác nhau, bao gồm HCC-1954 và SK-BR-3 (tế bào biểu hiện HER2) và MDA-MB-231 và MCF-7 (tế bào không biểu hiện HER).

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40



40

Hợp chất 40 được điều chế như được mô tả trong WO2007144423 (hợp chất 1 trong WO2007144423), được kết hợp vào sáng chế bằng cách viện dẫn.

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất gốc 40 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ 1E-02 đến 2,6E-06µg/mL (nằm trong khoảng từ 1,65E-08 đến 4,29E-12 M).

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40, trong hai thử nghiệm độc lập, là rất tương đương nhau trong các dòng tế bào khác nhau được thử nghiệm, với trị số IC₅₀

trong khoảng nanomol thấp, nằm trong khoảng từ $4,90\text{E-}05$ đến $1,73\text{E-}04\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ $8,10\text{E-}11$ đến $2,84\text{E-}10$ M), là trị số IC_{50} trung bình trong tất cả các ô tế bào $1,06\text{E-}04\mu\text{g/mL}$ (tương đương với $1,75\text{E-}10$ M). Do đó, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40 là độc lập với tình trạng HER2 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 16).

Bảng 16. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 40.

	Hợp chất 40			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	$7,05\text{E-}05$	$4,90\text{E-}05$	$1,32\text{E-}04$	$1,73\text{E-}04$
IC_{50} (Mol)	$1,16\text{E-}10$	$8,10\text{E-}11$	$2,18\text{E-}10$	$2,84\text{E-}10$

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 15

Hoạt tính của hợp chất 15, hợp chất 40 đã biến đổi chứa nhóm thiol, được thử nghiệm trong cùng điều kiện như đã nêu trên, nằm trong khoảng từ $1\text{E-}01$ đến $2,6\text{E-}05\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ $1,47\text{E-}07$ đến $3,82\text{E-}11$ M).

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 15, trong hai thử nghiệm độc lập, cũng khá là tương đương nhau trong các dòng tế bào khác nhau được thử nghiệm, với trị số IC_{50} trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ $4,80\text{E-}04$ đến $1,49\text{E-}03\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ $7,06\text{E-}10$ đến $2,19\text{E-}09$ M), là trị số IC_{50} trung bình trong tất cả các ô tế bào $1,03\text{E-}03\mu\text{g/mL}$ ($1,51\text{E-}09$ M). Sự có mặt của đuôi thiol ở hợp chất 15 làm giảm nhẹ (khoảng 8 lần) hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất so với hợp chất 40. Ngoài ra, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 15 là độc lập với tình trạng HER2 của các dòng tế bào của khối u. (Bảng 17).

Bảng 17. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 15

	Hợp chất 15			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	$6,75\text{E-}04$	$4,80\text{E-}04$	$1,45\text{E-}03$	$1,49\text{E-}03$
IC_{50} (Mol)	$9,94\text{E-}10$	$7,06\text{E-}10$	$2,14\text{E-}09$	$2,19\text{E-}09$

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC 5

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC5 được thử nghiệm đối với các dòng tế bào khác nhau. Để đảm bảo khoảng nồng độ thích hợp, thể tiếp hợp được thử

nghiệm ở bốn khoảng nồng độ khác nhau, mỗi đường cong trong số ba đường cong đáp ứng liều lặp lại (mười nồng độ pha loãng theo bậc, tỷ lệ 1/2,5) bắt đầu từ 50, 10, 1 và 0,1 µg/mL, trong hai thử nghiệm độc lập. Đường cong đáp ứng liều đại diện (nồng độ ban đầu là 1 µg/mL) được thể hiện trên Fig.11. Sau khi điều chỉnh, toàn bộ các đường cong đáp ứng liều khác nhau, trị số IC₅₀ trung bình được tính toán đối với ADC5 đối với các dòng tế bào khác nhau được thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 18.

Thế tiếp hợp ADC5 có tính đặc hiệu đối với các tế bào biểu hiện HER2+, HCC-1954 và SK-BR-3, trong đó chứng minh được rằng hợp chất này có hoạt tính gây độc tế bào tương tự như hoạt tính của các hợp chất gốc 40 và hợp chất 15, với trị số IC₅₀ trung bình lần lượt là 1,13E-01 và 4,61E-02 µg/mL. Hai dòng tế bào HER âm tính, MCF-7 và MDA-MB-231, có tính nhạy kém hơn đáng kể so với ADC5, với trị số IC₅₀ trung bình lần lượt là 1,23E+00 và 1,45E+00 µg/mL.

Nhận thấy rằng thế tiếp hợp ADC5 hoạt động ưu tiên thông qua quá trình tương tác của kháng thể đơn dòng với thụ thể HER2 liên quan đến màng trên các tế bào của khối u, và sau đó phân phối nội bào được chất gây độc tế bào vào mô đích.

Bảng 18. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của thế tiếp hợp ADC5.

ADC5				
Tình trạng HER2	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
Dòng tế bào	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC ₅₀ (µg/mL)	1,13E-01	4,61E-02	1,23E+00	1,45E+00
IC ₅₀ trung bình (µg/mL) đối với tế bào biểu hiện HER2				7,96E-02
IC ₅₀ trung bình (µg/mL) đối với tế bào không biểu hiện HER2				1,34E+00

Để so sánh bằng đồ thị hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng Trastuzumab riêng lẻ với hoạt tính của thế tiếp hợp ADC5, đồ thị này thể hiện tỷ lệ tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ (10 µg/mL) hoặc ADC5 ở 10 µg/mL hoặc 1 µg/mL, được thể hiện trên Fig.12. Ở nồng độ 10 µg/mL, mAb trastuzumab riêng lẻ không có hoạt tính gây độc tế bào đối với dòng tế bào bất kỳ được thử nghiệm, độc lập với tình trạng HER2 của chúng. Trái lại, thế tiếp hợp ADC5 có hoạt tính gây độc tế bào đáng kể và đặc hiệu đối với các tế bào biểu hiện HER2, HCC-1954 và SK-BR-3, tạo ra tỷ lệ ức chế trung bình về khả năng sống

sót tế bào lần lượt là 82% và 72%, khi so sánh với các tế bào đối chứng. Ở nồng độ này, ADC5 cũng có hiệu quả trên các tế bào không biểu hiện HER2, MCF-7 và MDA-MB-231, tạo ra tỷ lệ ức chế về khả năng sống sót tế bào lần lượt là 58% và 54%. Ở nồng độ 1µg/mL, thể tiếp hợp ADC5 có hoạt tính gây độc tế bào đối với tế bào biểu hiện HER2 tương đối tương tự so với hoạt tính quan sát được ở nồng độ bằng 10µg/mL (lần lượt là 77% và 75%), nhưng nhưng có hoạt tính kém hơn nhiều đối với các tế bào không biểu hiện HER2, với tỷ lệ ức chế về khả năng sống sót tế bào lần lượt là 24% và 15% (Fig.12). Các kết quả này đã chứng minh được rằng hoạt tính gây độc tế bào đáng kể và tính đặc hiệu tương đối của thể tiếp hợp ADC5 đối với các tế bào của khối u biểu hiện HER2 của người *in vitro*.

Ví dụ về hoạt tính sinh học 6: Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC6 và các chất phản ứng liên quan đối với các tế bào ung thư vú biểu hiện và không biểu hiện HER2

Hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC6 cùng với các hợp chất gây độc tế bào gốc 18 và 8 được đánh giá đối với các dòng tế bào ung thư vú biểu hiện hoặc không biểu hiện thụ thể HER2 của các đối tượng bị bệnh khác nhau, bao gồm HCC-1954 và SK-BR-3 (tế bào biểu hiện HER2) và MDA-MB-231 và MCF-7 (Các tế bào không biểu hiện HER2). Đường cong đáp ứng liều (DR) tiêu chuẩn trong các giờ được tiến hành.

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 8

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất gốc 8 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ 1E+00 đến 2,6E-04µg/mL (nằm trong khoảng từ 1,59E-06 đến 4,13E-10 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất này, trong hai thử nghiệm độc lập, là tương đối đồng nhất qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm (hoạt động mạnh hơn không đáng kể đối với các tế bào SK-BR-3), với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol thấp, nằm trong khoảng từ 1,85E-03 đến 9,50E-03µg/mL (nằm trong khoảng từ 2,94E-09 đến 1,51 E-08 M), là trị số IC₅₀ trung bình trong tất cả các ô tế bào 5,45E-03µg/mL (tương đương với 8,67E-09 M). Do đó, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 8 dường như độc lập với tình trạng HER2 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 19).

Bảng 19. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 8

	Hợp chất 8			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC ₅₀ (µg/mL)	5,20E-03	1,85E-03	9,50E-03	5,25E-03
IC ₅₀ (Mol)	8,27E-09	2,94E-09	1,51E-08	8,35E-09

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 18

Hoạt tính của hợp chất 18, hợp chất 8 đã biến đổi chứa nhóm thiol, được thử nghiệm trong cùng điều kiện như đã nêu trên, nằm trong khoảng từ 1E+00 đến 2,6E-04 µg/mL (nằm trong khoảng từ 1,39E-06 đến 3,63E-10 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất này, trong hai thử nghiệm độc lập, cũng khá là tương đương nhau qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ 4,40E-03 đến 1,85E-02 µg/mL (6,14E-09 đến 2,58E-08 M), là trị số IC₅₀ trung bình trong tất cả các ô tế bào 1,06E-02 µg/mL (1,48E-08 M). Sự có mặt của đuôi thiol ở hợp chất 18 có hiệu quả không đáng kể đối với hoạt tính của hợp chất, so với hợp chất 8. Ngoài ra, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 18 dường như là độc lập với tình trạng HER2 của dòng tế bào của khối u (Bảng 20).

Bảng 20. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 18

	Hợp chất 18			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC ₅₀ (µg/mL)	8,05E-03	4,40E-03	1,85E-02	1,15E-02
IC ₅₀ (Mol)	1,12E-08	6,14E-09	2,58E-08	1,60E-08

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC6

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC6 được thử nghiệm đối với các dòng tế bào khác nhau. Để đảm bảo khoảng nồng độ thích hợp, thể tiếp hợp được thử nghiệm ở bốn khoảng nồng độ khác nhau, mỗi đường cong trong số ba đường cong đáp ứng liều lặp lại (mười nồng độ pha loãng theo bậc, tỷ lệ 1/2,5) bắt đầu từ 50, 10, 1 và 0,1 µg/mL, trong hai thử nghiệm độc lập. DR đại diện được thể hiện trên Fig.13. Sau khi điều chỉnh toàn bộ các đường cong đáp ứng liều khác nhau, trị số IC₅₀ trung bình được tính toán đối với ADC6 đối với các dòng tế bào khác nhau được thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 21.

Mặc dù còn bị hạn chế, thể tiếp hợp ADC6 có một vài tính đặc hiệu hướng tới các tế bào biểu hiện HER2+, HCC-1954 và SK-BR-3. Trong các dòng tế bào này, thể tiếp hợp có hoạt tính gây độc tế bào kém hơn không đáng kể so với các hợp chất gốc 8 và 18 riêng lẻ (lần lượt là 5,6 và 3,2 lần), với trị số IC_{50} trung bình lần lượt là $1,04 E+01$ và $3,80E+00\mu g/mL$. Hai dòng tế bào HER âm tính, MCF-7 và MDA-MB-231, có tính nhạy kém hơn không đáng kể đối với ADC6 (ít hơn 5 lần), với trị số IC_{50} trung bình lần lượt là $3,50E+01$ và $4,40E+01\mu g/mL$. Nhận thấy rằng thể tiếp hợp ADC6 là ưu tiên hơn đối với các tế bào biểu hiện HER2, tác động thông qua quá trình tương tác giữa kháng thể đơn dòng với thụ thể HER2 liên quan đến màng trên các tế bào của khối u, và tiếp đó phân phối nội bào được chất gây độc tế bào vào mô đích.

Bảng 21. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC6.

ADC6				
Tình trạng HER2				
	HER2+		HER2-	
Dòng tế bào	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC_{50} ($\mu g/mL$)	$1,04E+01$	$3,80E+00$	$3,50E+01$	$4,40E+01$
IC_{50} trung bình ($\mu g/mL$) của tế bào biểu hiện HER2				$7,12E+00$
IC_{50} trung bình ($\mu g/mL$) của tế bào không biểu hiện				$3,95E+01$

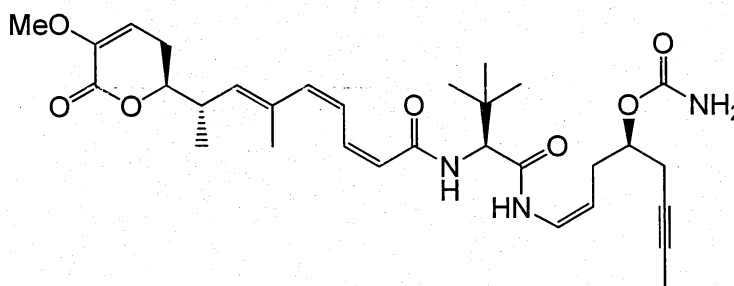
Để so sánh bằng đồ thị hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng Trastuzumab riêng lẻ với hoạt tính của thể tiếp hợp ADC6, đồ thị này thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($10\mu g/mL$) hoặc ADC6 ở nồng độ bằng $10\mu g/mL$ hoặc $1\mu g/mL$, được thể hiện trên Fig.14. Ở nồng độ $10\mu g/mL$, mAb trastuzumab riêng lẻ không có hoạt tính gây độc tế bào đối với dòng tế bào bất kỳ được thử nghiệm, độc lập với tình trạng HER2 của chúng. Trái lại, thể tiếp hợp ADC6 có hoạt tính gây độc tế bào đặc hiệu đối với các tế bào biểu hiện HER2, HCC-1954 và SK-BR-3, tạo ra tỷ lệ ức chế trung bình về khả năng sống sót tế bào lần lượt là 57% và 70%, khi so sánh với các tế bào đối chứng. Ở nồng độ này, ADC6 cũng có tác dụng trên các tế bào không biểu hiện HER2, MCF-7 và MDA-MB-231, tạo ra tỷ lệ ức chế khả năng sống sót tế bào lần lượt là 9% và 7%. Ở nồng độ $1\mu g/mL$, thể tiếp hợp ADC6 cũng có hoạt tính gây độc tế bào đối với tế bào biểu hiện HER2, mặc dù nhỏ hơn so với hoạt tính quan sát được ở nồng độ bằng $10\mu g/mL$ (lần lượt là 19% và 38%). Ở nồng độ này, ADC6 hoàn toàn không có hoạt tính đối với các tế bào không biểu hiện HER2 (Fig.14). Các kết quả này đã được chứng minh rằng hoạt tính gây

độc tế bào ưu tiên của thể tiếp hợp ADC6 đối với các tế bào của khối u biểu hiện HER2 của người *in vitro*.

Ví dụ về hoạt tính sinh học 7: Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC7 và các chất phản ứng liên quan đối với các tế bào ung thư vú biểu hiện và không biểu hiện HER2

Hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC7 cùng với các hợp chất gây độc tế bào gốc 24, 25 và 41 được đánh giá đối với các dòng tế bào ung thư vú biểu hiện hoặc không biểu hiện thụ thể HER2 của các đối tượng bị bệnh khác nhau, bao gồm HCC-1954 và SK-BR-3 (tế bào biểu hiện HER2) và MDA-MB-231 và MCF-7 (Các tế bào không biểu hiện HER2). Đường cong đáp ứng liều (DR) tiêu chuẩn trong 72 giờ được tiến hành.

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 41



41

Hợp chất 41 được điều chế như được mô tả trong WO2009/080761 (Hợp chất 72 trong WO2009/080761), được kết hợp vào sáng chế bằng cách viện dẫn.

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất gốc 41 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ $1\text{E-}02$ đến $2,6\text{E-}06\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ $1,8\text{E-}08$ đến $4,6\text{E-}12$ M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất này, trong hai thử nghiệm độc lập, là tương đồng qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC_{50} trong khoảng nanomol thấp, nằm trong khoảng từ $1,0\text{E-}04$ đến $2,6\text{E-}04\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ $1,8\text{E-}10$ đến $4,6\text{E-}10$ M), là trị số IC_{50} trung bình trong tất cả các ô tế bào $1,6\text{E-}04\mu\text{g/mL}$ (tương đương với $2,9\text{E-}10$ M). Do đó, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 41 là độc lập với tình trạng HER2 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 22).

Bảng 22. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 41.

	Hợp chất 41			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC ₅₀ (µg/mL)	1,04E-04	1,10E-04	2,65E-04	1,80E-04
IC ₅₀ (Mol)	1,83E-10	1,93E-10	4,65E-10	3,16E-10

Tính gây độc tế bào của hợp chất 24

Hoạt tính của hợp chất 24 được thử nghiệm trong cùng điều kiện như đã nêu trên, nằm trong khoảng từ 1E+00 đến 2,6E-04 µg/mL (nằm trong khoảng từ 1,6E-06 đến 4,1E-10 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất này, trong hai thử nghiệm độc lập, là tương đương nhau qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ 9,0E-03 đến 1,8E-02 µg/mL (nằm trong khoảng từ 1,4E-08 đến 2,8E-08 M), là trị số IC₅₀ trung bình trong tất cả các ô tế bào 1,5E-02 µg/mL (2,4E-08 M). Sự có mặt của nhóm 1,3-propylendiamin trong Hợp chất 24 làm giảm đáng kể (khoảng 2 log) hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất so với hợp chất 41. Ngoài ra, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 24 dường như độc lập với tình trạng HER2 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 23).

Bảng 23. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 24.

	Hợp chất 24			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC ₅₀ (µg/mL)	1,80E-02	9,00E-03	1,65E-02	1,75E-02
IC ₅₀ (Mol)	2,87E-08	1,44E-08	2,63E-08	2,79E-08

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 25

Hoạt tính của hợp chất 25, hợp chất 24 đã biến đổi chứa liên kết MC, được thử nghiệm trong cùng điều kiện như đã nêu trên, nằm trong khoảng từ 1E-01 đến 2,6E-05 µg/mL (nằm trong khoảng từ 1,2E-07 đến 3,2E-11 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất này, trong hai thử nghiệm độc lập, là tương đồng qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ 2,5E-02 đến 5,3E-02 µg/mL (nằm trong khoảng từ 3,1E-08 đến 6,5E-08 M), là trị số IC₅₀ trung bình trong tất cả các ô tế bào 4,1E-02 µg/mL (4,9E-08 M). Sự có mặt của liên kết MC ở hợp chất 25 làm giảm không đáng kể hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất so với hợp

chất 24, đặc biệt là trong các tế bào MDA-MB-231. Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 25 dường như độc lập với tình trạng HER2 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 24).

Bảng 24. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 25

	Hợp chất 25			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC ₅₀ (µg/mL)	4,40E-02	2,55E-02	5,30E-02	>1,0E-01
IC ₅₀ (Mol)	5,37E-08	3,11E-08	6,46E-08	>1,22E-07

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC7

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC7 được thử nghiệm đối với các dòng tế bào khác nhau. Để đảm bảo khoảng nồng độ thích hợp, thể tiếp hợp được thử nghiệm ở bốn khoảng nồng độ khác nhau, mỗi đường cong trong số ba đường cong đáp ứng liều lặp lại (mười nồng độ pha loãng theo bậc, tỷ lệ 1/2,5) bắt đầu từ 50, 10, 1 và 0,1 µg/mL trong hai thử nghiệm độc lập. Đường cong đáp ứng liều đại diện (nồng độ ban đầu 10 µg/mL) được thể hiện trên Fig.15. Sau khi điều chỉnh toàn bộ các đường cong đáp ứng liều khác nhau, trị số IC₅₀ trung bình được tính toán đối với ADC7 đối với các dòng tế bào khác nhau được thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 25.

Thể tiếp hợp ADC7 có tính đặc hiệu đối với các tế bào biểu hiện HER2+, HCC-1954 và SK-BR-3, trong đó đã chứng minh được rằng hợp chất này có hoạt tính gây độc tế bào gần tương đương với hoạt tính của hợp chất gốc 41, với trị số IC₅₀ trung bình lần lượt là 3,7E-01 và 8,9E-02 µg/mL. Hai dòng tế bào HER âm tính, MCF-7 và MDA-MB-231, hầu như không đáp ứng với ADC7. Thể tiếp hợp dường như tác động thông qua quá trình tương tác giữa kháng thể đơn dòng với thụ thể HER2 liên quan đến màng trên các tế bào của khối u dương tính, và tiếp đó phân phối nội bào được chất gây độc tế bào vào mô đích.

Bảng 25. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC7

	ADC7			
	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
Dòng tế bào	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC ₅₀ (µg/mL)	3,75E-01	8,97E-02	>5,0E+01	>5,0E+01
IC ₅₀ trung bình (µg/mL) đối với tế bào biểu hiện HER2				2,32E-01
IC ₅₀ trung bình (µg/mL) đối với tế bào không biểu hiện HER2				>5,0E+01

Để so sánh bằng đồ thị hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng Trastuzumab riêng lẻ với hoạt tính của thể tiếp hợp ADC7, đồ thị này thể hiện tỷ lệ phần

trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($50\mu\text{g/mL}$) hoặc ADC7 ở nồng độ bằng $50\mu\text{g/mL}$ hoặc $1\mu\text{g/mL}$, được thể hiện trên Fig.16. Ở nồng độ $50\mu\text{g/mL}$, mAb trastuzumab riêng lẻ, không có hoạt tính gây độc tế bào đáng kể đối với dòng tế bào bất kỳ được thử nghiệm, độc lập với tình trạng HER2 của chúng. Trái lại, thể tiếp hợp ADC7 có hoạt tính gây độc tế bào đáng kể và đặc hiệu đối với các tế bào biểu hiện HER2, HCC-1954 và SK-BR-3, tạo ra tỷ lệ ức chế trung bình khả năng sống sót tế bào lần lượt là 77% và 76%, khi so sánh với các tế bào đối chứng. Ở nồng độ này, ADC7 chỉ có tác dụng mạnh trên các tế bào không biểu hiện HER2, MCF-7 và MDA-MB-231, tạo ra tỷ lệ ức chế khả năng sống sót tế bào lần lượt là 13% và 15%. Hoạt tính và tính đặc hiệu tương tự được phát hiện ở các nồng độ nhỏ hơn của thể tiếp hợp ADC7 (nhỏ ở mức có thể là $1\mu\text{g/mL}$) trong các tế bào HCC-1954 và SK-BR-3, tạo ra tỷ lệ ức chế về khả năng sống sót tế bào lần lượt là 68% và 79% (Fig.16). Đồng thời, các kết quả này rõ ràng đã chứng minh được rằng hoạt tính gây độc tế bào và tính đặc hiệu đáng kể của thể tiếp hợp ADC7 đối với các tế bào của khối u biểu hiện HER2 của người *in vitro*.

Ví dụ về hoạt tính sinh học 8: Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC8 và các chất phản ứng liên quan đối với các tế bào ung thư vú biểu hiện và không biểu hiện HER2

Hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC8 cùng với các hợp chất gây độc tế bào gốc 24, 27 và 41, được đánh giá đối với các dòng tế bào ung thư vú biểu hiện hoặc không biểu hiện thụ thể HER2 của các đối tượng bị bệnh khác nhau, bao gồm HCC-1954 và SK-BR-3 (tế bào biểu hiện HER2) và MDA-MB-231 và MCF-7 (tế bào không biểu hiện HER). Đường cong đáp ứng liều (DR) tiêu chuẩn trong 72 giờ được tiến hành.

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 41

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất gốc 41 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ $01\text{E}-02$ đến $2,6\text{E}-06\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ $1,8\text{E}-08$ đến $4,6\text{E}-12\text{ M}$). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất này, trong hai thử nghiệm độc lập, là tương đồng qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC_{50} trong khoảng nanomol thấp, nằm trong khoảng từ $7,5\text{E}-05$ đến $1,4\text{E}-04\mu\text{g/mL}$ ($1,3\text{E}-10$ đến $2,4\text{E}-10\text{ M}$), là trị số IC_{50} trung bình trong tất cả các ô tế bào $1,1\text{E}-04\mu\text{g/mL}$ (tương đương với $1,9\text{E}-10\text{ M}$). Do đó, hoạt tính

gây độc tế bào của hợp chất 41 là độc lập với tình trạng HER2 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 26).

Bảng 26. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 41

	Hợp chất 41			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC ₅₀ (µg/mL)	7,55E-05	8,05E-05	1,39E-04	1,35E-04
IC ₅₀ (Mol)	1,33E-10	1,41E-10	2,44E-10	2,36E-10

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 24

Hoạt tính của hợp chất 24 (được thử nghiệm trong cùng điều kiện như đã nêu trên, nằm trong khoảng từ 01E+00 đến 2,6E-04 µg/mL (nằm trong khoảng từ 1,6E-06 đến 4,1E-10 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất này, trong hai thử nghiệm độc lập, là tương đồng qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ 9,0E-03 đến 1,8E-02 µg/mL (nằm trong khoảng từ 1,4E-08 đến 2,9E-08 M), là trị số IC₅₀ trung bình trong tất cả các ô tế bào 1,5E-02 µg/mL (2,4E-08 M). Sự có mặt của nhóm 1,3-propylendi-amin ở hợp chất 24 làm giảm đáng kể (khoảng 2 log) hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất so với hợp chất 41. Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 24 dường như độc lập với tình trạng HER2 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 27).

Bảng 27. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 24

	Hợp chất 24			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC ₅₀ (µg/mL)	1,80E-02	9,00E-03	1,65E-02	1,75E-02
IC ₅₀ (Mol)	2,87E-08	1,44E-08	2,63E-08	2,79E-08

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 27

Hoạt tính của hợp chất 27 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ 01E+00 đến 2,6E-04 µg/mL (nằm trong khoảng từ 1,4E-06 đến 3,6E-10 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 27, trong hai thử nghiệm độc lập, là tương đồng qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC₅₀ trong khoảng micromol, nằm trong khoảng từ 1,05E-02 đến 3,9E-02 µg/mL (nằm trong khoảng từ 1,5E-08 đến 5,5E-08 M), là trị số IC₅₀ trung bình trong tất cả các ô tế bào 2,5E-02 µg/mL (3,5E-08 M). Sự có mặt của liên

kết MPA ở hợp chất 27 không ảnh hưởng đáng kể đến hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất so với hợp chất 24. Hoạt tính của hợp chất 27 là độc lập với tình trạng HER2 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 28).

Bảng 28. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 27

	Hợp chất 27			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC ₅₀ (µg/mL)	1,65E-02	1,05E-02	3,90E-02	3,45E-02
IC ₅₀ (Mol)	2,31E-08	1,47E-08	5,46E-08	4,83E-08

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC8

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC8 được thử nghiệm đối với các dòng tế bào khác nhau. Thể tiếp hợp này được thử nghiệm ở bốn khoảng nồng độ khác nhau, mỗi đường cong trong số ba đường cong đáp ứng liều lặp lại (mười nồng độ pha loãng theo bậc, tỷ lệ 1/2,5) bắt đầu từ 50, 10, 1 và 0,1 µg/mL, trong hai thử nghiệm độc lập. Đường cong đáp ứng liều đại diện (nồng độ tối đa là 10 µg/mL) được thể hiện trên Fig.17. ADC8 là đặc hiệu đối với các tế bào biểu hiện HER2+, đặc biệt là ở SK-BR-3, dòng tế bào nhạy nhất. Ngoại trừ các tế bào này, tính nhạy lớn hơn khoảng 4 lần so với các tế bào không biểu hiện HER2 (IC₅₀ là 2,3E-09M), chứng tỏ rằng ADC8 có hoạt tính gây độc tế bào tương tự, theo cách độc lập với HER2, so với hợp chất gốc 27, với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol (Bảng 29).

Bảng 29. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của thể tiếp hợp ADC8

	ADC8			
	Tế bào ung thư vú			
	HER2+		HER2-	
	HCC1954	SK-BR3	MCF7	MDA-MB-231
IC ₅₀ (µg/mL)	3,83E+00	6,37E-01	7,75E+00	1,02E+01
IC50 trung bình (µg/mL) đối với tế bào biểu hiện HER2				2,23E+00
IC50 trung bình (µg/mL) đối với tế bào không biểu hiện HER2				8,98E+00

Để so sánh bằng đồ thị hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng Trastuzumab riêng lẻ với hoạt tính của thể tiếp hợp ADC8, đồ thị này thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi xử lý các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ (50 µg/mL) hoặc ADC8 (50 hoặc 10 µg/mL), được thể hiện trên Fig.18. Ở 50 µg/mL, mAb riêng lẻ không có hoạt tính trên dòng tế bào bất kỳ được thử nghiệm,

ngoại trừ SK-BR-3, trong đó nó đã tạo ra tỷ lệ ức chế về khả năng sống sót tế bào nhỏ hơn 20%. Tiếp theo, ADC8 không có tính đặc hiệu đáng kể đối với các dòng tế bào HER2+, tạo ra khả năng ức chế sự sống sót tế bào mạnh hơn 60% ở toàn bộ các tế bào được phân tích. Ở nồng độ 10 μ g/mL, ADC8 có một ít nhưng không đáng kể tính đặc hiệu đối với các tế bào HER2+, tạo ra 78% ức chế khả năng sống sót tế bào trong các tế bào HCC-1954 và SK-BR-3 dương tính với HER2, đồng thời ít ảnh hưởng trên các tế bào không biểu hiện HER2, lần lượt là 59% và 41%, ở MCF7 và MDA-MB-231. Tế bào biểu hiện HER2 có tính nhạy trong khoảng từ 1,5 đến 2 lần đối với ADC8 so với các tế bào không biểu hiện HER2.

Ví dụ về hoạt tính sinh học 9: Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC9 và các chất phản ứng liên quan đối với tế bào của khối u người biểu hiện và không biểu hiện CD13

Hoạt tính gây độc tế bào in vitro của thể tiếp hợp ADC9 cùng với các hợp chất gây độc tế bào gốc 1 và 4, được đánh giá đối với dòng tế bào của khối u khác nhau của người biểu hiện hoặc không biểu hiện thụ thể CD13, bao gồm NB4 và U937 (tế bào biểu hiện CD13) và Raji và RPMI-8226 (Tế bào không biểu hiện CD13). Đường cong đáp ứng liều (DR) tiêu chuẩn trong 72 giờ được tiến hành.

Hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng kháng CD13 của chuột nhắt

Trước tiên, hoạt tính gây độc tế bào in vitro của kháng thể đơn dòng kháng CD13 của chuột nhắt riêng lẻ được thử nghiệm đối với các dòng tế bào của khối u khác nhau. Ở ba đường cong đáp ứng liều lặp lại nằm trong khoảng từ 5,0E+01 đến 1,3E-02 μ g/mL (3,3E-07 - 8,7E-11 M), trong hai thử nghiệm độc lập, kháng thể này thực tế là không có hoạt tính, không đạt được trị số IC₅₀ trong dòng tế bào bất kỳ được thử nghiệm, độc lập với tình trạng CD13 của chúng (Bảng 30).

Bảng 30. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro kháng thể đơn dòng kháng CD13 của chuột nhắt

	Kháng thể đơn dòng kháng CD13 của chuột nhắt			
	Dòng tế bào			
	CD13+		CD13-	
	NB-4	U937	Raji	RPMI18226
IC ₅₀ (μ g/mL)	>5,0E+01	>5,0E+01	>5,0E+01	>5,0E+01
IC ₅₀ (Mol)	>3,33E-07	>3,33E-07	>3,33E-07	>3,33E-07

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ

01E-02 đến 2,6E-06 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 1,5E-08 đến 4,0E-12 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4, trong hai thử nghiệm độc lập, là rất tương đương nhau qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol thấp, nằm trong khoảng từ 7,9E-05 đến 2,65E-03 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 1,2E-10 đến 4,0E-09 M), là trị số IC₅₀ trung bình trong tất cả các ô tế bào 8,4E-04 μ g/mL (tương đương với 1,2E-09 M). Do đó, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 là độc lập với tình trạng CD13 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 31).

Bảng 31. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 4

	Hợp chất 4			
	Dòng tế bào			
	CD13+		CD13-	
	NB-4	U937	Raji	RPMI18226
IC ₅₀ (μ g/mL)	7,93E-05	2,78E-04	2,65E-03	3,58E-04
IC ₅₀ (Mol)	1,20E-10	4,19E-10	4,00E-09	5,39E-10

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 1

Hoạt tính của hợp chất 1 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ 01E-01 đến 2,6E-05 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 1,1E-07 đến 3,0E-11 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 1, trong hai thử nghiệm độc lập, là đồng nhất ở mức độ nào đó qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ 8,0E-04 đến 6,3E-03 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 9,4E-10 đến 7,3E-09 M), là trị số IC₅₀ trung bình trong tất cả các ô tế bào 2,8E-03 μ g/mL (3,3E-09 M). Sự có mặt của liên kết maleimide trong Hợp chất 1 does không làm biến đổi hoạt tính gây độc tế bào một cách đáng kể của hợp chất so với hợp chất 4. Ngoài ra, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất không liên quan đến tình trạng CD3 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 32).

Bảng 32. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 1

	Hợp chất 1			
	Dòng tế bào			
	CD13+		CD13-	
	NB-4	U937	Raji	RPMI18226
IC ₅₀ (μ g/mL)	8,05E-04	1,65E-03	6,25E-03	2,50E-03
IC ₅₀ (Mol)	9,39E-10	1,93E-09	7,31E-09	2,92E-09

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC9

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC9 được thử nghiệm đối với các dòng tế bào khác nhau. Thể tiếp hợp này được thử nghiệm ở bốn khoảng nồng độ khác

nhau, mỗi đường cong trong số ba đường cong đáp ứng liều lặp lại (mười nồng độ pha loãng theo bậc, tỷ lệ 1/2,5) bắt đầu từ 50, 10, 1 và 0,1µg/mL, trong hai thử nghiệm độc lập. Đường cong đáp ứng liều đại diện (nồng độ tối đa 0,1µg/mL) được thể hiện trên Fig.19.

Thế tiếp hợp ADC9 có tính đặc hiệu đáng kể đối với các tế bào biểu hiện CD13+, trong đó đã chứng minh được rằng hợp chất này có hoạt tính gây độc tế bào tương tự, hoặc cao hơn chút ít, so với hoạt tính của các hợp chất gốc 4 và 1. Cả hai dòng tế bào CD13+, NB4 và U937, có tính nhạy tương đương đối với ADC9, với trị số IC_{50} trung bình lần lượt là 8,7E-03 và 2,4E-02µg/mL. Hai dòng tế bào không biểu hiện CD13, Raji và RPMI-8226, có tính nhạy kém hơn đáng kể so với ADC9, với trị số IC_{50} trung bình lần lượt là 1,6E+00 và 5,9E-01µg/mL. Tính trung bình, các dòng tế bào CD13+ (IC_{50} trung bình 1,66E-02µg/mL) có tính nhạy với ADC9 lớn hơn khoảng 65 lần so với các tế bào CD13- (IC_{50} trung bình 1,08E+00µg/mL). So sánh hoạt tính của thế tiếp hợp ADC9 trong các tế bào NB4 (có tính nhạy lớn nhất) với các tế bào Raji (có tính nhạy kém nhất); nhận thấy rằng có sự khác biệt khoảng 180 lần. Các kết quả này rõ ràng chỉ ra rằng tính đặc hiệu của thế tiếp hợp đối với các tế bào biểu hiện CD13 (Bảng 33). Do đó, các tác giả sáng chế nhận thấy rằng ít nhất một phần ADC9 tác động thông qua quá trình tương tác giữa kháng thể đơn dòng với thụ thể CD13 liên quan đến màng trên các tế bào của khối u, và tiếp đó phân phối nội bào được chất gây độc tế bào vào mô đích.

Bảng 33. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của thế tiếp hợp ADC9

	ADC9			
	Dòng tế bào			
	CD13+		CD13-	
	NB-4	U937	Raji	RPMI18226
IC_{50} (µg/mL)	8,75E-03	2,44E-02	1,57E+00	5,92E-01
IC_{50} trung bình (µg/mL) đối với tế bào biểu hiện CD13				1,66E-02
IC_{50} trung bình (µg/mL) đối với tế bào không biểu hiện CD13				1,08E+00

Để so sánh bằng đồ thị hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng riêng lẻ với hoạt tính của thế tiếp hợp ADC9, đồ thị này thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ (50µg/mL) hoặc ADC ở nồng độ bằng 50µg/mL hoặc 0,1µg/mL, được thể hiện trên Fig.20. Ở nồng độ tương đương 50µg/mL, kháng thể kháng CD13 riêng lẻ, không có hoạt tính gây độc tế bào đối với dòng tế bào bất kỳ được thử nghiệm, độc lập với tình trạng

CD13 của chúng. Trái lại, thể tiếp hợp ADC9 có hoạt tính gây độc tế bào tiềm năng đối với toàn bộ các dòng tế bào, tạo ra tỷ lệ ức chế về khả năng sống sót tế bào lớn hơn 80%. Ở nồng độ 0,1 µg/mL, thể tiếp hợp ADC9 có hoạt tính gây độc tế bào tương tự đối với tế bào biểu hiện CD13 so với hoạt tính quan sát được ở nồng độ bằng 50 µg/mL, nhưng không phát hiện thấy hiệu quả bất kỳ trên tế bào không biểu hiện CD13. Các kết quả này cũng chứng minh được rằng hoạt tính gây độc tế bào và tính đặc hiệu một cách đáng kể của thể tiếp hợp ADC9 đối với các tế bào của khối u người biểu hiện CD13 *in vitro*.

Ví dụ về hoạt tính sinh học 10: Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC10 và các chất phản ứng liên quan đối với tế bào của khối u người biểu hiện và không biểu hiện CD13

Hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC10 cùng với các hợp chất gây độc tế bào gốc 12 và 4, được đánh giá đối với dòng tế bào của khối u khác nhau của người biểu hiện hoặc không biểu hiện thụ thể CD13, bao gồm NB4 và U937 (tế bào biểu hiện CD13) và Raji và RPMI-8226 (tế bào không biểu hiện CD13). Đường cong đáp ứng liều (DR) tiêu chuẩn trong 72 giờ được tiến hành.

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ 01E-02 đến 2,6E-06 µg/mL (nằm trong khoảng từ 1,5E-08 đến 4,0E-12 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4, trong hai thử nghiệm độc lập, là rất tương đương nhau qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol thấp, nằm trong khoảng từ 7,9E-05 đến 2,65E-03 µg/mL (nằm trong khoảng từ 1,2E-10 đến 4,0E-09 M), là trị số IC₅₀ trung bình trong tất cả các ô tế bào 8,4E-04 µg/mL (tương đương với 1,2E-09 M). Do đó, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 là độc lập với tình trạng CD13 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 34).

Bảng 34. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 4

	Hợp chất 4			
	Dòng tế bào			
	CD13+		CD13-	
	NB-4	U937	Raji	RPMI18226
IC ₅₀ (µg/mL)	7,93E-05	2,78E-04	2,65E-03	3,58E-04
IC ₅₀ (Mol)	1,20E-10	4,19E-10	4,00E-09	5,39E-10

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 12

Hoạt tính của hợp chất 12 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ 01E+00 đến

2,6E-04 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 7,9E-07 đến 2,0E-10 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 12, trong hai thử nghiệm độc lập, là đồng nhất ở mức độ nào đó qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC_{50} trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ 4,4E-03 đến 4,8E-02 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 3,5E-09 đến 3,8E-08 M), là trị số IC_{50} trung bình trong tất cả các ô tế bào 2,0E-02 μ g/mL (1,6E-08 M). Sự có mặt của liên kết dài trong Hợp chất 12 làm giảm (khoảng 1 log) hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất so với hợp chất 4. Ngoài ra, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất không liên quan đến tình trạng CD3 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 35).

Bảng 35. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 12

	Hợp chất 12			
	Dòng tế bào			
	CD13+		CD13-	
	NB-4	U937	Raji	RPMI18226
IC_{50} (μ g/mL)	4,45E-03	1,07E-02	4,80E-02	1,90E-02
IC_{50} (Mol)	3,53E-09	8,44E-09	3,80E-08	1,51E-08

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC10

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC10 được thử nghiệm đối với các dòng tế bào khác nhau. Thể tiếp hợp này được thử nghiệm ở bốn khoảng nồng độ khác nhau, mỗi đường cong trong số ba đường cong đáp ứng liều lặp lại (mười nồng độ pha loãng theo bậc, tỷ lệ 1/2,5) bắt đầu từ 50, 10, 1 và 0,1 μ g/mL, trong hai thử nghiệm độc lập. Đường cong đáp ứng liều đại diện (nồng độ tối đa 1 μ g/mL) được thể hiện trên Fig.21.

Thể tiếp hợp ADC10 có tính đặc hiệu đáng kể đối với các tế bào biểu hiện CD13+, trong đó đã chứng minh được hợp chất này có hoạt tính gây độc tế bào tương tự, hoặc cao hơn chút ít, so với hoạt tính của các hợp chất gốc 4 và 12. Cả hai dòng tế bào CD13+, NB4 và U937, có tính nhạy tương đương đối với ADC10, với trị số IC_{50} trung bình lần lượt là 7,2E-03 và 9,8E-03 μ g/mL. Hai dòng tế bào không biểu hiện CD13, Raji và RPMI-8226, có tính nhạy kém hơn đáng kể so với ADC10, với trị số IC_{50} trung bình lần lượt là 1,0E+01 và 5,3E+00 μ g/mL. Tính theo trung bình, các dòng tế bào CD13+ (IC_{50} trung bình là 8,50E-03 μ g/mL) có tính nhạy với ADC10 lớn hơn khoảng 900 lần so với các tế bào CD13- (IC_{50} trung bình là 7,83E+00 μ g/mL). So sánh hoạt tính của thể tiếp hợp ADC10 trong các tế bào NB4 (tính nhạy lớn nhất) vs các tế bào Raji (tính nhạy kém nhất); nhận thấy rằng có sự chênh lệch khoảng 1440 lần. Các kết quả này rõ ràng chỉ ra

rằng tính đặc hiệu của thể tiếp hợp ADC10 đối với các tế bào biểu hiện CD13 (Bảng 36). Do đó, các tác giả sáng chế nhận thấy rằng ít nhất một phần ADC10 tác động thông qua quá trình tương tác giữa kháng thể đơn dòng với thụ thể CD13 liên quan đến màng trên các tế bào của khối u, và tiếp đó phân phối nội bào được chất gây độc tế bào vào mô đích.

Bảng 36. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC10

	ADC10			
	Dòng tế bào			
	CD13+		CD13-	
	NB-4	U937	Raji	RPMI18226
IC ₅₀ (µg/mL)	7,18E-03	9,81E-03	1,04E+01	5,30E+00
IC ₅₀ trung bình (µg/mL) đối với tế bào biểu hiện CD13				8,50E-03
IC ₅₀ trung bình (µg/mL) đối với tế bào không biểu hiện CD13				7,83E+00

Để so sánh bằng đồ thị hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng riêng lẻ với hoạt tính của thể tiếp hợp ADC10, đồ thị này thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ (50µg/mL) hoặc thể ADC ở nồng độ bằng 50µg/mL hoặc 1µg/mL, được thể hiện trên Fig.22. Ở nồng độ tương đương 50µg/mL, kháng thể kháng CD13 riêng lẻ, không có hoạt tính gây độc tế bào đối với dòng tế bào bất kỳ được thử nghiệm, độc lập với tình trạng CD13 của chúng. Trái lại, thể tiếp hợp ADC10 có hoạt tính gây độc tế bào tiềm năng đối với toàn bộ các dòng tế bào, tạo ra tỷ lệ ức chế về khả năng sống sót tế bào lớn hơn 80%, ngoại trừ các tế bào Raji, trong đó nó đã tạo ra tỷ lệ ức chế nhỏ hơn, nhưng vẫn quan trọng, khoảng 70%. Ở nồng độ 1µg/mL, ADC10 có hoạt tính gây độc tế bào tương tự đối với tế bào biểu hiện CD13 so với hoạt tính quan sát được ở 50µg/mL, nhưng không phát hiện thấy hiệu quả bất kỳ trên tế bào không biểu hiện CD13. Các kết quả này còn chứng minh được rằng hoạt tính gây độc tế bào và tính đặc hiệu một cách đáng kể của thể tiếp hợp ADC10 đối với các tế bào của khối u người biểu hiện CD13 *in vitro*.

Ví dụ về hoạt tính sinh học 11: Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC11 và các chất phản ứng liên quan đối với tế bào của khối u người biểu hiện và không biểu hiện CD13

Hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC11 cùng với các hợp chất gây độc tế bào gốc 13 và 40, được đánh giá đối với dòng tế bào của khối u khác nhau của người biểu hiện hoặc không biểu hiện thụ thể CD13, bao gồm NB4 và U937 (tế bào biểu

hiện CD13) và Raji và RPMI-8226 (tế bào không biểu hiện CD13). Đường cong đáp ứng liều (DR) tiêu chuẩn trong 72 giờ được tiến hành.

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ $01\text{E}-03$ đến $2,6\text{E}-07\mu\text{g/mL}$ ($1,7\text{E}-09$ đến $4,3\text{E}-13$ M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40, trong hai thử nghiệm độc lập, là tương đồng qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC_{50} trong khoảng pícômôl thấp, nằm trong khoảng từ $3,1\text{E}-05$ đến $1,7\text{E}-04\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ $5,2\text{E}-11$ đến $2,8\text{E}-10$ M), là trị số IC_{50} trung bình trong tất cả các ô tế bào $8,6\text{E}-05\mu\text{g/mL}$ (tương đương với $1,4\text{E}-10$ M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40 là độc lập với mức biểu hiện CD13 trên các dòng tế bào của khối u (Bảng 37).

Bảng 37. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 40

	Hợp chất 40			
	Dòng tế bào			
	CD13+		CD13-	
	NB-4	U937	Raji	RPMI18226
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	$3,15\text{E}-05$	$7,10\text{E}-05$	$1,70\text{E}-04$	$7,05\text{E}-05$
IC_{50} (Mol)	$5,20\text{E}-11$	$1,17\text{E}-10$	$2,80\text{E}-10$	$1,16\text{E}-10$

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 13

Hoạt tính của hợp chất 13 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ $01\text{E}-01$ đến $2,6\text{E}-05\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ $1,3\text{E}-07$ đến $3,4\text{E}-11$ M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 13, trong hai thử nghiệm độc lập, là đồng nhất ở mức độ nào đó qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC_{50} trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ $1,7\text{E}-03$ đến $1,0\text{E}-02\mu\text{g/mL}$ ($2,7\text{E}-09$ đến $1,4\text{E}-08$ M), là trị số IC_{50} trung bình trong tất cả các ô tế bào $4,3\text{E}-03\mu\text{g/mL}$ ($5,7\text{E}-09$ M). Sự có mặt của đuôi thiol ở hợp chất 13 làm giảm (nhỏ hơn 1 log) hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất, so với hợp chất 40. Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất là độc lập với tình trạng CD13 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 38).

Bảng 38. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 13

	Hợp chất 13			
	Dòng tế bào			
	CD13+		CD13-	
	NB-4	U937	Raji	RPMI18226
IC ₅₀ (µg/mL)	1,70E-03	2,85E-03	1,03E-02	2,30E-03
IC ₅₀ (Mol)	2,26E-09	3,80E-09	1,37E-08	3,06E-09

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC11

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC11 được thử nghiệm đối với các dòng tế bào khác nhau. Thể tiếp hợp này được thử nghiệm ở bốn khoảng nồng độ khác nhau, mỗi đường cong trong số ba đường cong đáp ứng liều lặp lại (mười nồng độ pha loãng theo bậc, tỷ lệ 1/2,5) bắt đầu từ 50, 10, 1 và 0,1 µg/mL, trong hai thử nghiệm độc lập. Đường cong đáp ứng liều đại diện (nồng độ tối đa là 1 µg/mL) được thể hiện trên Fig.23. ADC11 có tính đặc hiệu nhưng không đáng kể đối với các tế bào biểu hiện CD13. Thể tiếp hợp có hoạt tính gây độc tế bào tương tự, ngoại trừ các tế bào Raji, kém nhạy hơn không đáng kể, trong toàn bộ các dòng tế bào được thử nghiệm. Hoạt tính của thể tiếp hợp ADC11 là tương đương với hoạt tính của hợp chất gốc 13, với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol thấp (Bảng 39).

Bảng 39. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của thể tiếp hợp ADC11

	ADC11			
	Dòng tế bào			
	CD13+		CD13-	
	NB-4	U937	Raji	RPMI18226
IC ₅₀ (µg/mL)	2,27E-01	6,77E-01	3,48E+00	6,95E-01
IC ₅₀ trung bình (µg/mL) đối với tế bào biểu hiện CD13				4,52E-01
IC ₅₀ trung bình (µg/mL) đối với tế bào không biểu hiện CD13				2,09E+00

Để so sánh bằng đồ thị hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng kháng CD13 riêng lẻ với hoạt tính của thể tiếp hợp ADC11, đồ thị này thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ (50 µg/mL) hoặc ADC11 (50 hoặc 1 µg/mL), được thể hiện trên Fig.24. Ở nồng độ 50 µg/mL, kháng thể kháng CD13 riêng lẻ, có hoạt tính gây độc tế bào đối với các dòng tế bào CD13+, tạo ra tỷ lệ ức chế khả năng sống sót tế bào khoảng 30%. Ở các tế bào CD13-, kháng thể này thực tế là không có hoạt tính. Ở cùng nồng độ, thể tiếp hợp ADC11 có hoạt tính gây độc tế bào tiềm năng đối với toàn bộ các dòng tế bào, có tính đặc hiệu nhưng không đáng kể, đối với các tế bào biểu hiện CD13, trong đó nó làm giảm

khả năng sống sót tế bào xuống gần 100%. Ở các tế bào CD13-, ADC11 làm giảm hơn 80% khả năng sống sót tế bào. Ở nồng độ 1 μ g/mL, ADC11 có tính đặc hiệu mạnh đối với các tế bào CD13+, NB-4 và U937, trong đó nó làm giảm khả năng sống sót tế bào lần lượt là 99 và 85%. Ở các tế bào CD13-, Raji và RPMI8226, thể tiếp hợp làm giảm khả năng sống sót tế bào lần lượt là 38 và 60%.

Ví dụ về hoạt tính sinh học 12: Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC12 và các chất phản ứng liên quan đối với các tế bào của khối u biểu hiện và không biểu hiện CD20

Hoạt tính gây độc tế bào in vitro của thể tiếp hợp ADC12 cùng với các hợp chất gây độc tế bào gốc 1, 4, và 40, được đánh giá được thử nghiệm đối với các dòng tế bào ung thư của các đối tượng bị bệnh khác nhau biểu hiện hoặc không biểu hiện kháng nguyên CD20, bao gồm Raji (tế bào biểu hiện CD20); RPMI-8226 và Karpas-299 (tế bào không biểu hiện CD20). Đường cong đáp ứng liều (DR) tiêu chuẩn trong 72 giờ được tiến hành.

Hoạt tính gây độc tế bào của Rituximab

Trước tiên, hoạt tính gây độc tế bào in vitro mAb riêng lẻ Rituximab được thử nghiệm đối với các dòng tế bào ung thư của các đối tượng bị bệnh khác nhau biểu hiện hoặc không biểu hiện kháng nguyên CD20, bao gồm Raji (tế bào biểu hiện CD20); RPMI-8226 và Karpas-299 (tế bào không biểu hiện CD20). Ở ba đường cong đáp ứng liều lặp lại nằm trong khoảng từ 5,0E+01 đến 2,62E-05 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 3,4E-07 đến 1,7E-13 M), kháng thể này không có hoạt tính, không đạt được IC₅₀ ở dòng tế bào bất kỳ được thử nghiệm, độc lập với tình trạng CD20 (Bảng 40).

Bảng 40. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của Rituximab

	Rituximab		
	CD20+	CD20-	
	Raji	RPMI-8226	Karpas-299
	U bạch huyết dạng Burkitt	Đa u tủy	NHL
IC ₅₀ (μ g/mL)	>5,0E+01	>5,0E+01	>5,0E+01
IC ₅₀ (Mol)	>3,48E-07	>3,48E-07	>3,48E-07

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất gốc Hợp chất 40 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ 01E-03 đến 2,6E-07 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 1,7E-09 đến 4,3E-13

M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40 là rất tương đương nhau qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC_{50} với khoảng cận nanomol thấp, nằm trong khoảng từ $8,6E-05$ đến $1,1E-04 \mu g/mL$ (nằm trong khoảng từ $1,4E-10$ đến $1,9E-10$ M), là trị số IC_{50} trung bình trong tất cả các ô tế bào $9,6E-05 \mu g/mL$ (tương đương với $1,6E-10$ M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40 là độc lập với tình trạng CD20 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 41).

Bảng 41. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 40

	Hợp chất 40		
	CD20+	CD20-	
	Raji	RPMI-8226	Karpas-299
	U bạch huyết dạng Burkitt	Đa u tủy	NHL
IC_{50} ($\mu g/mL$)	$1,15E-04$	$8,65E-05$	$8,60E-05$
IC_{50} (Mol)	$1,90E-10$	$1,43E-10$	$1,42E-10$

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ $01E-02$ đến $2,6E-06 \mu g/mL$ (nằm trong khoảng từ $1,5E-08$ đến $4,0E-12$ M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 là tương đồng qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC_{50} trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ $5,7E-04$ đến $1,4E-03 \mu g/mL$ (nằm trong khoảng từ $8,6E-10$ đến $2,1E-09$ M), là trị số IC_{50} trung bình trong tất cả các ô tế bào $9,7E-04 \mu g/mL$ ($1,5E-09$ M). Sự có mặt của amin chứa nhóm ở hợp chất 4 giảm không đáng kể hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất so với hợp chất 40. Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 cũng độc lập với tình trạng CD20 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 42).

Bảng 42. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 4

	Hợp chất 4		
	CD20+	CD20-	
	Raji	RPMI-8226	Karpas-299
	U bạch huyết dạng Burkitt	Đa u tủy	NHL
IC_{50} ($\mu g/mL$)	$1,41E-03$	$5,70E-04$	$9,30E-04$
IC_{50} (Mol)	$2,12E-09$	$8,59E-10$	$1,40E-09$

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 1

Hoạt tính của hợp chất 1 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ $01E-01$ đến $2,6E-05 \mu g/mL$ (nằm trong khoảng từ $1,2E-07$ đến $3,0E-11$ M). Hoạt tính gây độc tế bào của

hợp chất 1, trong hai thử nghiệm độc lập, là rất tương đương nhau qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC_{50} trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ $1,6E-03$ đến $2,8E-03\mu g/mL$ (nằm trong khoảng từ $1,9E-09$ đến $3,3E-09$ M), là trị số IC_{50} trung bình trong tất cả các ô tế bào $2,1E-03\mu g/mL$ ($2,5E-09$ M). Sự có mặt của liên kết maleimit trong Hợp chất 1 không làm biến đổi đáng kể hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất so với hợp chất 4. Ngoài ra, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất cũng độc lập với tình trạng CD20 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 43).

Bảng 43. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 1

	Hợp chất 1		
	CD20+	CD20-	
	Raji	RPMI-8226	Karpas-299
	U bạch huyết dạng Burkitt	Đa u tủy	NHL
IC_{50} ($\mu g/mL$)	$2,85E-03$	$1,60E-03$	$1,90E-03$
IC_{50} (Mol)	$3,33E-09$	$1,87E-09$	$2,22E-09$

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC12

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC12 được thử nghiệm đối với các dòng tế bào của khối u khác nhau. Thể tiếp hợp này được thử nghiệm ở bốn nồng độ khác nhau, mỗi đường cong trong số ba đường cong đáp ứng liều lặp lại (mười nồng độ pha loãng theo bậc, tỷ lệ 1/2,5) lần lượt bắt đầu từ 50, 10, 1 và $0,1\mu g/mL$. Đường cong đáp ứng liều đại diện (nồng độ ban đầu $1\mu g/mL$) được thể hiện trên Fig.25. Mặc dù cao hơn trong tế bào biểu hiện CD20 Raji, ADC12 có hoạt tính gây độc tế bào tương đối tương tự, trong khoảng nanomol, ở toàn bộ các dòng tế bào được thử nghiệm. Các tế bào Raji (CD20+), có trị số IC_{50} trung bình là $9,5E-02\mu g/mL$, trong khi đó các trị số tương ứng đối với các tế bào RPMI-8226 và Karpas-299 (cả hai loại tế bào CD20-), lần lượt là $4,0E-01$ và $4,1E-01\mu g/mL$ (Bảng 44). Do đó, tế bào biểu hiện CD20 nhạy hơn với ADC12 không đáng kể (4 lần) so với tế bào không biểu hiện CD20.

Bảng 44. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của thể tiếp hợp ADC12

	ADC12		
	CD20+	CD20-	
	Raji	RPMI-8226	Karpas-299
	U bạch huyết dạng Burkitt	Đa u tủy	NHL
IC_{50} ($\mu g/mL$)	$9,54E-02$	$3,97E-01$	$4,13E-01$
IC_{50} trung bình ($\mu g/mL$) của tế bào biểu hiện CD20			$9,54E-02$
IC_{50} trung bình ($\mu g/mL$) của tế bào không biểu hiện CD20			$4,05E-01$

Để so sánh bằng đồ thị hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng Rituximab riêng lẻ với hoạt tính của thể tiếp hợp ADC12, đồ thị này thể hiện tỷ lệ phần

trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($50\mu\text{g/mL}$) hoặc ADC12 (1 và $0,1\mu\text{g/mL}$), được thể hiện trên Fig.26. Rituximab riêng lẻ, ở nồng độ bằng $50\mu\text{g/mL}$, thực tế là không có hoạt tính ở toàn bộ các dòng tế bào được thử nghiệm, độc lập với tình trạng CD20. Trái lại, ADC12, ở nồng độ bằng $1\mu\text{g/mL}$, có hoạt tính gây độc tế bào tiềm năng ở toàn bộ các dòng tế bào được thử nghiệm, làm giảm hơn 70% khả năng sống sót tế bào sau 72 giờ điều trị. Ở nồng độ thấp hơn, $0,1\mu\text{g/mL}$, thể tiếp hợp ADC12 có tính đặc hiệu, làm giảm khả năng sống sót tế bào khoảng 60% ở tế bào biểu hiện CD20 (Raji), đồng thời thực tế không có hoạt tính ở tế bào không biểu hiện CD20 (RPMI-8226 và Karpas-299).

Ví dụ về hoạt tính sinh học 13: Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC13 và các chất phản ứng liên quan đối với các tế bào của khối u biểu hiện và không biểu hiện CD20

Hoạt tính gây độc tế bào in vitro của thể tiếp hợp ADC13 cùng với các hợp chất gây độc tế bào gốc 1, 4, và 40, được đánh giá được thử nghiệm đối với các dòng tế bào ung thư của các đối tượng bị bệnh khác nhau biểu hiện hoặc không biểu hiện kháng nguyên CD20, bao gồm Raji (tế bào biểu hiện CD20); RPMI-8226 và Karpas-299 (tế bào không biểu hiện CD20). Đường cong đáp ứng liều (DR) tiêu chuẩn trong 72 giờ được tiến hành.

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất gốc Hợp chất 40 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ $01\text{E}-03$ đến $2,6\text{E}-07\mu\text{g/mL}$ ($1,7\text{E}-09$ đến $4,3\text{E}-13\text{ M}$). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40 là rất tương đương nhau qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC_{50} với khoảng cận nanomol thấp, nằm trong khoảng từ $8,6\text{E}-05$ đến $1,1\text{E}-04\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ $1,4\text{E}-10$ đến $1,9\text{E}-10\text{ M}$), là trị số IC_{50} trung bình trong tất cả các ô tế bào $9,6\text{E}-05\mu\text{g/mL}$ (tương đương với $1,6\text{E}-10\text{ M}$). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40 là độc lập với tình trạng CD20 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 45).

Bảng 45. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 40

	Hợp chất 40		
	CD20+	CD20-	
	Raji	RPMI-8226	Karpas-299
	U bạch huyết dạng Burkitt	Đa u tủy	NHL
IC ₅₀ (μg/mL)	1,15E-04	8,65E-05	8,60E-05
IC ₅₀ (Mol)	1,90E-10	1,43E-10	1,42E-10

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ 01E-02 đến 2,6E-06 μg/mL (1,5E-08 đến 4,0E-12 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 là tương đồng qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ 5,7E-04 đến 1,4E-03 μg/mL (nằm trong khoảng từ 8,6E-10 đến 2,1E-09 M), là trị số IC₅₀ trung bình trong tất cả các ô tế bào 9,7E-04 μg/mL (1,5E-09 M). Sự có mặt của nhóm chứa amin ở hợp chất 4 làm giảm không đáng kể hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất so với hợp chất 40. Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 cũng độc lập với tình trạng CD20 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 46).

Bảng 46. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 4

	Hợp chất 4		
	CD20+	CD20-	
	Raji	RPMI-8226	Karpas-299
	U bạch huyết dạng Burkitt	Đa u tủy	NHL
IC ₅₀ (μg/mL)	1,41E-03	5,70E-04	9,30E-04
IC ₅₀ (Mol)	2,12E-09	8,59E-10	1,40E-09

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 12

Hoạt tính của hợp chất 12 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ 01E+00 đến 2,6E-04 μg/mL (7,9E-07 đến 2,1E-10 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 12, trong hai thử nghiệm độc lập, là rất tương đương nhau qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ 2,2E-02 đến 6,7E-02 μg/mL (nằm trong khoảng từ 1,8E-08 đến 5,5E-08 M), là trị số IC₅₀ trung bình trong tất cả các ô tế bào 3,9E-02 μg/mL (3,1E-08 M). Sự có mặt của liên kết maleimide trong Hợp chất 12 làm giảm hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất, khi so sánh với hợp

chất 4 và Hợp chất 40. Ngoài ra, hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất cũng độc lập với tình trạng CD20 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 47).

Bảng 47. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 12

	Hợp chất 12		
	CD20+	CD20-	
	Raji	RPMI-8226	Karpas-299
	U bạch huyết dạng Burkitt	Đa u tủy	NHL
IC ₅₀ (μg/mL)	6,95E-02	2,25E-02	2,50E-02
IC ₅₀ (Mol)	5,51E-08	1,78E-08	1,98E-08

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC13

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC13 được thử nghiệm đối với các dòng tế bào của khối u khác nhau. Thể tiếp hợp này được thử nghiệm ở bốn khoảng nồng độ khác nhau, mỗi đường cong trong số ba đường cong đáp ứng liều lặp lại (mười nồng độ pha loãng theo bậc, tỷ lệ 1/2,5) lần lượt bắt đầu từ 50, 10, 1 và 0,1 μg/mL. Đường cong đáp ứng liều đại diện (nồng độ ban đầu 1 μg/mL) được thể hiện trên Fig.27. Mặc dù hoạt tính gây độc tế bào cao hơn ở tế bào biểu hiện CD20 Raji, nhưng ADC13 có hoạt tính gây độc tế bào tương tự, trong khoảng nanomol, ở toàn bộ các dòng tế bào được thử nghiệm. Các tế bào Raji (CD20+), có trị số IC₅₀ trung bình là 2,5E-01 μg/mL, trong khi các trị số tương ứng đối với các tế bào RPMI-8226 và Karpas-299 (cả hai loại tế bào CD20-), là 1,1E+00 μg/mL (Bảng 48). Do đó, tế bào biểu hiện CD20 nhạy hơn với ADC13 không đáng kể (khoảng 5 lần) so với tế bào không biểu hiện CD20.

Bảng 48. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC13

	ADC13		
	CD20+	CD20-	
	Raji	RPMI-8226	Karpas-299
	U bạch huyết dạng Burkitt	Đa u tủy	NHL
IC ₅₀ (μg/mL)	2,53E-01	1,08E+00	1,07E+00
IC ₅₀ trung bình (μg/mL) của tế bào biểu hiện CD20			2,53E-01
IC ₅₀ trung bình (μg/mL) của tế bào không biểu hiện CD20			1,07E+00

Để so sánh bằng đồ thị hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng Rituximab riêng lẻ với hoạt tính của thể tiếp hợp ADC13, đồ thị này thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ (50 μg/mL) hoặc ADC13 (1 và 0,1 μg/mL), được thể hiện trên Fig 28. Rituximab riêng lẻ, ở nồng độ bằng 50 μg/mL, thực tế là không có hoạt tính ở toàn bộ các dòng tế bào được thử nghiệm, độc lập với tình trạng CD20. Trái lại, ở cả hai nồng độ 1 và

0,1 μ g/mL, ADC13 có hoạt tính gây độc tế bào, với tính đặc hiệu đối với các tế bào Raji biểu hiện CD20. Ở nồng độ 1 μ g/mL, sau 72 giờ điều trị, ADC13 làm giảm hơn 65% khả năng sống sót tế bào Raji (CD20+) đồng thời kích ứng 35-45% tế bào RPMI-8226 và Karpas-299 (CD20-), một cách tương ứng. Ở nồng độ 0,1 μ g/mL, thể tiếp hợp ADC13 có tính đặc hiệu rõ ràng, làm giảm khả năng sống sót tế bào khoảng 50% tế bào CD20+, đồng thời không có hoạt tính trong các tế bào CD20-.

Ví dụ về hoạt tính sinh học 14: Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC14 và các chất phản ứng liên quan đối với tế bào của khối u người biểu hiện và không biểu hiện CD5

Hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC14 cùng với các hợp chất gây độc tế bào gốc 1, 4, và 40, được đánh giá đối với các dòng tế bào ung thư của các đối tượng bị bệnh khác nhau biểu hiện hoặc không biểu hiện kháng nguyên CD5, bao gồm Karpas-299 và MOLT-4 (cả hai loại tế bào CD5+); Raji và RPMI-8226 (cả hai loại tế bào CD5-). Đường cong đáp ứng liều (DR) tiêu chuẩn trong 72 giờ được tiến hành.

Hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng kháng CD5

Trước tiên, hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* kháng thể đơn dòng kháng CD5 của chuột nhắt riêng lẻ được thử nghiệm đối với các dòng tế bào ung thư của các đối tượng bị bệnh khác nhau biểu hiện hoặc không biểu hiện kháng nguyên CD5, bao gồm Karpas-299 và MOLT-4 (cả hai loại tế bào CD5+); Raji và RPMI-8226 (cả hai loại tế bào CD5-). Ở ba đường cong đáp ứng liều lặp lại nằm trong khoảng từ 5,0E+01 đến 1,3E-02 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 3,3E-07 đến 8,7E-11 M), trong hai thử nghiệm độc lập, kháng thể này thực tế là không có hoạt tính, không đạt được IC₅₀ ở dòng tế bào bất kỳ được thử nghiệm, độc lập với tình trạng CD5 của chúng (Bảng 49).

Bảng 49. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của kháng thể đơn dòng kháng CD5

	Kháng thể đơn dòng kháng CD5			
	Dòng tế bào			
	CD5+		CD5-	
	Karpas-299	MOLT-4	Raji	RPMI18226
IC ₅₀ (μ g/mL)	>5,0E+01	>5,0E+01	>5,0E+01	>5,0E+01
IC ₅₀ (Mol)	>3,3E-07	>3,3E-07	>3,3E-07	>3,3E-07

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất gốc 40 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ

01E-03 đến 2,6E-07 $\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ 1,7E-09 đến 4,3E-13 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40 là rất tương đương nhau qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC_{50} với khoảng cận nanomol thấp, nằm trong khoảng từ 7,5E-05 đến 3,6E-04 $\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ 1,2E-10 đến 5,9E-10 M), là trị số IC_{50} trung bình trong tất cả các ô tế bào 1,6E-04 $\mu\text{g/mL}$ (tương đương với 2,6E-10 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40 là độc lập với mức biểu hiện CD5 trong các dòng tế bào của khối u (Bảng 50).

Bảng 50. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 40

	Hợp chất 40			
	Dòng tế bào			
	CD5+		CD5-	
	Karpas-299	MOLT-4	Raji	RPMI18226
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	1,12E-04	9,35E-05	3,60E-04	7,55E-05
IC_{50} (Mol)	1,85E-10	1,54E-10	5,94E-10	1,25E-10

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ 01E-02 đến 2,6E-06 $\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ 1,5E-08 đến 4,0E-12 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 là tương đồng qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC_{50} trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ 6,3E-04 đến 2,7E-03 $\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ 9,5E-10 đến 4,1E-09 M), là trị số IC_{50} trung bình trong tất cả các ô tế bào 1,3E-03 $\mu\text{g/mL}$ (1,9E-09 M). Sự có mặt của nhóm chứa amin ở hợp chất 4 làm giảm hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất (khoảng 1 log) so với hợp chất 40. Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 cũng độc lập với mức biểu hiện CD5 trong các dòng tế bào của khối u (Bảng 51).

Bảng 51. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 4

	Hợp chất 4			
	Dòng tế bào			
	CD5+		CD5-	
	Karpas-299	MOLT-4	Raji	RPMI18226
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	9,15E-04	9,10E-04	2,70E-03	6,30E-04
IC_{50} (Mol)	1,38E-09	1,37E-09	4,07E-09	9,50E-10

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 1

Hoạt tính của hợp chất 1 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ 01E-01 đến 2,6E-

05 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 1,2E-07 đến 3,0E-11 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 1 gần như tương đương qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, ngoại trừ các tế bào Raji trong đó hợp chất này có hoạt tính kém hơn, với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ 1,8E-03 đến 1,1E-02 μ g/mL (2,2E-09 đến 1,3E-09 M), là trị số IC₅₀ trung bình trong tất cả các ô tế bào 4,6E-03 μ g/mL (5,3E-09 M). Sự có mặt của liên kết chứa maleimide ở hợp chất 1 không làm biến đổi hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất so với hợp chất 4. Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất cũng độc lập với mức biểu hiện CD5 trong các dòng tế bào của khối u (Bảng 52).

Bảng 52. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 1

	Hợp chất 1			
	Dòng tế bào			
	CD5+		CD5-	
	Karpas-299	MOLT-4	Raji	RPMI18226
IC ₅₀ (μ g/mL)	2,15E-03	3,35E-03	1,09E-02	1,85E-03
IC ₅₀ (Mol)	2,51E-09	3,91E-09	1,28E-08	2,16E-09

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC14

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC14 được thử nghiệm đối với các dòng tế bào của khối u khác nhau. Thể tiếp hợp này được thử nghiệm ở bốn khoảng nồng độ khác nhau, mỗi đường cong trong số ba đường cong đáp ứng liều lặp lại (mười nồng độ pha loãng theo bậc, tỷ lệ 1/2,5) lần lượt bắt đầu từ 50, 10, 1 và 0,1 μ g/mL. Đường cong đáp ứng liều đại diện (nồng độ ban đầu 1 μ g/mL) được thể hiện trên Fig.29. ADC14 có xu hướng chọn lọc đối với các tế bào biểu hiện CD5, mặc dù trị số IC₅₀ trung bình, trong khoảng nanomol trung bình, là tương đối như nhau đối với toàn bộ các dòng tế bào được thử nghiệm, độc lập với tình trạng CD5 (Bảng 53).

Bảng 53. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của thể tiếp hợp ADC14

	ADC14			
	Dòng tế bào			
	CD5+		CD5-	
	Karpas-299	MOLT-4	Raji	RPMI18226
IC ₅₀ (μ g/mL)	5,56E-01	6,18E-01	4,23E+00	5,47E+00
IC ₅₀ trung bình (μ g/mL) của tế bào biểu hiện CD5				5,87E-01
IC ₅₀ trung bình (μ g/mL) của tế bào không biểu hiện CD5				2,39E+00

Để so sánh bằng đồ thị hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng kháng CD5 riêng lẻ với hoạt tính của thể tiếp hợp ADC14, đồ thị này thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng

riêng lẻ (50 μ g/mL) hoặc ADC14 (1 μ g/mL), được thể hiện trên Fig.30. Kháng thể đơn dòng kháng CD5 riêng lẻ, ở nồng độ bằng 50 μ g/mL, thực tế là không có hoạt tính ở toàn bộ các dòng tế bào được thử nghiệm. ADC14, ở nồng độ bằng 1 μ g/mL, có hoạt tính gây độc tế bào đặc hiệu đối với các tế bào biểu hiện CD5, Karpas-299 và MOLT-4, với tỷ lệ ức chế khả năng sống sót tế bào lần lượt là khoảng 84% và 70%, đồng thời không có hoạt tính trên thực tế đối với tế bào không biểu hiện CD5 (Fig.30).

Ví dụ về hoạt tính sinh học 15: Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC16 và các chất phản ứng liên quan đối với các tế bào của khối u người biểu hiện và không biểu hiện CD4

Hoạt tính gây độc tế bào in vitro của thể tiếp hợp ADC16 cùng với các hợp chất gây độc tế bào gốc 1, 4, và 40, được đánh giá đối với các dòng tế bào ung thư của các đối tượng bị bệnh khác nhau biểu hiện hoặc không biểu hiện kháng nguyên CD4, bao gồm Karpas-299 và U937 (cả hai tế bào CD4+); Raji và RPMI-8226 (cả hai tế bào CD4-). Đường cong đáp ứng liều (DR) tiêu chuẩn trong 72 giờ được tiến hành.

Hoạt tính gây độc tế bào của Kháng thể đơn dòng kháng CD4

Trước tiên, hoạt tính gây độc tế bào in vitro của kháng thể đơn dòng kháng CD4 của chuột nhất riêng lẻ được thử nghiệm đối với các dòng tế bào ung thư của các đối tượng bị bệnh khác nhau biểu hiện hoặc không biểu hiện kháng nguyên CD4, bao gồm Karpas-299 và U937 (cả hai tế bào CD4+); Raji và RPMI-8226 (cả hai tế bào CD4-). Ở ba đường cong đáp ứng liều lặp lại nằm trong khoảng từ 5,0E+01 đến 1,3E-02 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 3,3E-07 đến 8,7E-11 M), trong hai thử nghiệm độc lập, kháng thể này thực tế là không có hoạt tính, không đạt được IC₅₀ ở dòng tế bào bất kỳ được thử nghiệm, độc lập với tình trạng CD4 của chúng (Bảng 54).

Bảng 54. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của kháng thể đơn dòng kháng CD4

	Kháng thể đơn dòng kháng CD4			
	Dòng tế bào			
	CD4+		CD4-	
	Karpas-299	U937	RPMI8226	Raji
IC ₅₀ (μ g/mL)	>5,0E+01	>5,0E+01	>5,0E+01	>5,0E+01
IC ₅₀ (Mol)	>3,3E-07	>3,3E-07	>3,3E-07	>3,3E-07

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất gốc 40 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ

01E-03 đến 2,6E-07 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 1,7E-09 đến 4,3E-13 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40 là tương đồng qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC₅₀ với khoảng cận nanomol thấp, nằm trong khoảng từ 7,9E-05 đến 2,8E-04 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 1,3E-10 đến 4,7E-10 M), là trị số IC₅₀ trung bình trong tất cả các ô tế bào 1,5E-04 μ g/mL (tương đương với 2,5E-10 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40 là độc lập với mức biểu hiện CD4 trong các dòng tế bào của khối u (Bảng 55).

Bảng 55. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 40

	Hợp chất 40			
	Dòng tế bào			
	CD4+		CD4-	
	Karpas-299	U937	RPMI18226	Raji
IC ₅₀ (μ g/mL)	1,30E-04	7,90E-05	1,20E-04	2,85E-04
IC ₅₀ (Mol)	2,15E-10	1,31E-10	1,98E-10	4,70E-10

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ 01E-02 đến 2,6E-06 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 1,5E-08 đến 4,0E-12 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 là tương đương qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ 6,1E-04 đến 2,7E-03 μ g/mL (9,2E-10 đến 4,1E-09 M), là trị số IC₅₀ trung bình trong tất cả các ô tế bào 1,2E-03 μ g/mL (1,8E-09 M). Sự có mặt của nhóm chứa amin ở hợp chất 4 làm giảm hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất so với hợp chất 40. Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 cũng độc lập với mức biểu hiện CD4 trong các dòng tế bào của khối u (Bảng 56).

Bảng 56. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 4

	Hợp chất 4			
	Dòng tế bào			
	CD4+		CD4-	
	Karpas-299	U937	RPMI18226	Raji
IC ₅₀ (μ g/mL)	9,10E-04	6,10E-04	6,35E-04	2,75E-03
IC ₅₀ (Mol)	1,38E-09	9,20E-10	9,60E-10	4,15E-09

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 1

Hoạt tính của hợp chất 1 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ 01E-01 đến 2,6E-05 μ g/mL (nằm trong khoảng từ 1,2E-07 đến 3,0E-11 M). Hoạt tính gây độc tế bào của

hợp chất 1 cũng tương đương qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC_{50} trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ $1,5E-03$ đến $7,3E-03 \mu g/mL$ (nằm trong khoảng từ $1,7E-09$ đến $8,6E-09 M$), là trị số IC_{50} trung bình trong tất cả các ô tế bào $3,4E-03 \mu g/mL$ ($3,9E-09 M$). Sự có mặt của liên kết chứa maleimide ở hợp chất 1 không làm biến đổi hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất so với hợp chất 4. Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất cũng độc lập với mức biểu hiện CD4 trong các dòng tế bào của khối u (Bảng 57).

Bảng 57. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 1

	Hợp chất 1			
	Dòng tế bào			
	CD4+		CD4-	
	Karpas-299	U937	RPMI18226	Raji
IC_{50} ($\mu g/mL$)	$2,35E-03$	$1,50E-03$	$2,30E-03$	$7,35E-03$
IC_{50} (Mol)	$2,75E-09$	$1,75E-09$	$2,69E-09$	$8,57E-09$

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC16

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC16 được thử nghiệm đối với các dòng tế bào của khối u khác nhau. Thể tiếp hợp này được thử nghiệm ở bốn khoảng nồng độ khác nhau, mỗi đường cong trong số ba đường cong đáp ứng liều lặp lại (mười nồng độ pha loãng theo bậc, tỷ lệ 1/2,5) lần lượt bắt đầu từ 50, 10, 1 và $0,1 \mu g/mL$. Đường cong đáp ứng liều đại diện (nồng độ ban đầu $1 \mu g/mL$) được thể hiện trên Fig.31. ADC16 có tính đặc hiệu đối với các tế bào biểu hiện CD4, mặc dù mức chênh lệch trung bình về tính nhạy đối với các tế bào không biểu hiện CD4 là tương đối nhỏ, xấp xỉ 7 lần (mức chênh lệch tối đa giữa dòng tế bào kém nhạy và dòng tế bào nhạy nhất, lần lượt là Raji và Karpas-299, khoảng 14 lần) (Bảng 58). Mặc dù có chỉ ra cửa sổ điều trị nhỏ, nhưng có thể nhận thấy rằng ít nhất một phần hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC16 quan sát được có liên quan đến quá trình tương tác giữa kháng thể đơn dòng và glycoprotein CD4 ở màng tế bào của khối u.

Bảng 58. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của thể tiếp hợp ADC16

	ADC16			
	Dòng tế bào			
	CD4+		CD4-	
	Karpas-299	U937	RPMI18226	Raji
IC_{50} ($\mu g/mL$)	$4,70E-02$	$8,18E-02$	$2,60E-01$	$6,74E-01$
IC_{50} trung bình ($\mu g/mL$) đối với tế bào biểu hiện CD4				$6,44E-02$
IC_{50} trung bình ($\mu g/mL$) đối với tế bào không biểu hiện CD4				$4,67E-01$

Để so sánh bằng đồ thị hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng kháng CD4 riêng lẻ với hoạt tính của thể tiếp hợp ADC16, đồ thị này thể hiện tỷ lệ phần trăm

sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($50\mu\text{g/mL}$) hoặc ADC16 (1 và $0,1\mu\text{g/mL}$), được thể hiện trên Fig.32. kháng thể đơn dòng kháng CD4 riêng lẻ, ở nồng độ bằng $50\mu\text{g/mL}$, thực tế là không có hoạt tính ở toàn bộ các dòng tế bào được thử nghiệm. Trái lại, ADC16, ở nồng độ bằng $1\mu\text{g/mL}$, có hoạt tính gây độc tế bào tiềm năng ở toàn bộ các dòng tế bào được thử nghiệm, độc lập với tình trạng CD4 của chúng, làm giảm hơn 60% (nằm trong khoảng từ 60% đến 90%) khả năng sống sót tế bào sau 72 giờ điều trị. Ngay cả ở nồng độ $0,1\mu\text{g/mL}$, ADC16 có hoạt tính gây độc tế bào đặc hiệu đối với các tế bào biểu hiện CD4, Karpas-299 và U937, với tỷ lệ ức chế khả năng sống sót tế bào lần lượt khoảng 80% và 70%, đồng thời không có hoạt tính đối với các tế bào không biểu hiện CD4 (Fig.32).

Ví dụ về hoạt tính sinh học 16: Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC17 và các chất phản ứng liên quan đối với các tế bào của khối u người biểu hiện và không biểu hiện CD4

Hoạt tính gây độc tế bào in vitro của thể tiếp hợp ADC17 cùng với các hợp chất gây độc tế bào gốc 12, 4, và 40, được đánh giá đối với các dòng tế bào ung thư của các đối tượng bị bệnh khác nhau biểu hiện hoặc không biểu hiện kháng nguyên CD4, bao gồm Karpas-299 và U937 (cả hai tế bào CD4+); Raji và RPMI-8226 (cả hai tế bào CD4-). Đường cong đáp ứng liều (DR) tiêu chuẩn trong 72 giờ được tiến hành.

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất gốc 40 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ $01\text{E}-03$ đến $2,6\text{E}-07\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ $1,7\text{E}-09$ đến $4,3\text{E}-13$ M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40 là tương đồng qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC_{50} với khoảng cận nanomol thấp, nằm trong khoảng từ $7,9\text{E}-05$ đến $2,8\text{E}-04\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ $1,3\text{E}-10$ đến $4,7\text{E}-10$ M), là trị số IC_{50} trung bình trong tất cả các ô tế bào $1,5\text{E}-04\mu\text{g/mL}$ (tương đương với $2,5\text{E}-10$ M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40 là độc lập với mức biểu hiện CD4 trong các dòng tế bào của khối u (Bảng 59).

Bảng 59. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 40

	Hợp chất 40			
	Dòng tế bào			
	CD4+		CD4-	
	Karpas-299	U937	RPMI18226	Raji
IC ₅₀ (µg/mL)	1,30E-04	7,90E-05	1,20E-04	2,85E-04
IC ₅₀ (Mol)	2,15E-10	1,31E-10	1,98E-10	4,70E-10

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ 01E-02 đến 2,6E-06 µg/mL (1,5E-08 đến 4,0E-12 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 cũng tương đương qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ 6,1E-04 đến 2,7E-03 µg/mL (9,2E-10 đến 4,1E-09 M), là trị số IC₅₀ trung bình trong tất cả các ô tế bào 1,2E-03 µg/mL (1,8E-09 M). Sự có mặt của nhóm chứa amin ở hợp chất 4 làm giảm hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất so với hợp chất 40. Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 cũng độc lập với mức biểu hiện CD4 trong các dòng tế bào của khối u (Bảng 60).

Bảng 60. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 4

	Hợp chất 4			
	Dòng tế bào			
	CD4+		CD4-	
	Karpas-299	U937	RPMI18226	Raji
IC ₅₀ (µg/mL)	9,10E-04	6,10E-04	6,35E-04	2,75E-03
IC ₅₀ (Mol)	1,38E-09	9,20E-10	9,60E-10	4,15E-09

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 12

Hoạt tính của hợp chất 12 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ 01E+00 đến 2,6E-04 µg/mL (nằm trong khoảng từ 7,9E-07 đến 2,1E-10 M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 12, trong hai thử nghiệm độc lập, là tương đối đồng nhất qua các dòng tế bào khác nhau đã được thử nghiệm, với trị số IC₅₀ trong khoảng nanomol, nằm trong khoảng từ 7,3E-02 đến 4,1E-01 µg/mL (nằm trong khoảng từ 5,8E-08 đến 3,2E-07 M), là trị số IC₅₀ trung bình trong tất cả các ô tế bào 1,7E-01 µg/mL (1,3E-07 M). Sự có mặt của liên kết dài chứa maleimide ở hợp chất 12 làm giảm mạnh hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất so với hợp chất 40 (gần 3 log) và Hợp chất 4 (gần 2 log). Ngoài ra, hoạt tính gây độc

tế bào của hợp chất cũng độc lập với mức biểu hiện CD4 của các dòng tế bào của khối u (Bảng 61).

Bảng 61. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 12

	Hợp chất 12			
	Dòng tế bào			
	CD4+		CD4-	
	Karpas-299	U937	RPMI18226	Raji
IC ₅₀ (µg/mL)	7,65E-02	7,30E-02	1,15E-01	4,15E-01
IC ₅₀ (Mol)	6,07E-08	5,79E-08	9,11E-08	3,29E-07

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC17

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC17 được thử nghiệm đối với các dòng tế bào của khối u khác nhau. Thể tiếp hợp này được thử nghiệm ở bốn khoảng nồng độ khác nhau, mỗi đường cong trong số ba đường cong đáp ứng liều lặp lại (mười nồng độ pha loãng theo bậc, tỷ lệ 1/2,5) lần lượt bắt đầu từ 50, 10, 1 và 0,1 µg/mL. Đường cong đáp ứng liều đại diện (nồng độ ban đầu 1 µg/mL) được thể hiện trên Fig.33. ADC17 có tính đặc hiệu đối với các tế bào biểu hiện CD4, với mức chênh lệch trung bình về tính nhạy đối với các tế bào không biểu hiện CD4 là khoảng 40 lần (nằm trong khoảng từ 11 đến 64 lần) (Bảng 62). Có thể nhận thấy rằng phần lớn hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC17 quan sát được có liên quan đến quá trình tương tác của kháng thể đơn dòng và glycoprotein CD4 ở màng tế bào của khối u.

Bảng 62. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC17

	ADC17			
	Dòng tế bào			
	CD4+		CD4-	
	Karpas-299	U937	RPMI18226	Raji
IC ₅₀ (µg/mL)	4,50E-02	3,86E-02	5,24E-01	2,90E+00
IC ₅₀ trung bình (µg/mL) của các tế bào biểu hiện CD4				4,18E-02
IC ₅₀ trung bình (µg/mL) của các tế bào không biểu hiện CD4				1,71E+00

Để so sánh bằng đồ thị hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng kháng CD4 riêng lẻ với hoạt tính của thể tiếp hợp ADC17, đồ thị này thể hiện tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ (50 µg/mL) hoặc ADC17 (1 và 0,1 µg/mL), được thể hiện trên Fig.34. Kháng thể đơn dòng kháng CD4 riêng lẻ, ở nồng độ bằng 50 µg/mL, thực tế là không có hoạt tính ở toàn bộ các dòng tế bào được thử nghiệm. Trái lại, ADC17, ở nồng độ bằng 1 µg/mL, có

hoạt tính gây độc tế bào tiềm năng ở ba trong số bốn dòng tế bào đã được thử nghiệm (ngoại trừ các tế bào Raji), làm giảm hơn 70% (nằm trong khoảng từ 72% đến 95%) khả năng sống sót tế bào sau 72 giờ điều trị. Ngay cả ở nồng độ $0,1\mu\text{g/mL}$, ADC17 có hoạt tính gây độc tế bào đặc hiệu đối với các tế bào biểu hiện CD4, Karpas-299 và U937, với tỷ lệ ức chế khả năng sống sót tế bào lần lượt khoảng 70% và 75%, đồng thời hầu như không có hoạt tính đối với các tế bào không biểu hiện CD4 (Fig.34).

Ví dụ về hoạt tính sinh học 17: Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC14 và các chất phản ứng liên quan đối với dòng tế bào Raji với mức biểu hiện CD5 cao hoặc không biểu hiện CD5

Hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC14 cùng với các hợp chất gây độc tế bào gốc 1, 4 và 40, được đánh giá đối với dòng tế bào Raji biểu hiện hoặc không biểu hiện kháng nguyên CD5. Đường cong đáp ứng liều (DR) tiêu chuẩn trong 72 giờ được tiến hành.

Hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng kháng CD5

Hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* kháng thể đơn dòng kháng CD5 của chuột nhất riêng lẻ được thử nghiệm đối với dòng tế bào Raji biểu hiện (C#10) hoặc không biểu hiện (C#18) kháng nguyên CD5. Ở ba đường cong đáp ứng liều lặp lại nằm trong khoảng từ $5,0\text{E}+01$ đến $1,3\text{E}-02\mu\text{g/mL}$ ($3,3\text{E}-07$ - $8,7\text{E}-11$ M), trong hai thử nghiệm độc lập, kháng thể này thực tế là không có hoạt tính, không đạt được IC_{50} ở dòng tế bào bất kỳ được thử nghiệm, độc lập với tình trạng CD5 của chúng (Bảng 63).

Bảng 63. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của kháng thể đơn dòng kháng CD5

	Kháng thể đơn dòng kháng CD5	
	Tế bào Raji	
	C#10 (biểu hiện CD5 ở mức cao)	C#18 (không biểu hiện CD5)
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	$> 5,0\text{E}+01$	$>5,0\text{E}+01$
IC_{50} (Mol)	$>3,3\text{E}-07$	$>3,3\text{E}-07$

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất gốc 40 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ $01\text{E}-03$ đến $2,6\text{E}-07\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ $1,7\text{E}-09$ đến $4,3\text{E}-13$ M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40 là tương đối giống giữa các tế bào Raji biểu hiện CD5 (dòng

#10) và không biểu hiện (dòng #18), với trị số IC_{50} trung bình trong khoảng cận nanomol, lần lượt là $4,95E-04$ và $8,90E-04 \mu g/mL$ (tương đương với $8,17E-10$ và $1,47E-09$ M). Mặc dù hoạt tính gây độc tế bào cao hơn không đáng kể trong các tế bào biểu hiện CD5, nhưng hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40 dường như là độc lập với mức biểu hiện CD5 trong các dòng tế bào của khối u (Bảng 64)

Bảng 64. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 40

	Hợp chất 40	
	Tế bào Raji	
	C#10 (biểu hiện CD5 ở mức cao)	C#18 (không biểu hiện CD5)
IC_{50} ($\mu g/mL$)	$4,95E-04$	$8,90E-04$
IC_{50} (Mol)	$8,17E-10$	$1,47E-09$

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 được thử nghiệm ở đường cong đáp ứng DR sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ $01E-02$ đến $2,6E-06 \mu g/mL$ (nằm trong khoảng từ $1,5E-08$ đến $4,0E-12$ M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 là tương đối giống nhau giữa các tế bào Raji biểu hiện CD5 (dòng #10) và không biểu hiện (dòng #18), mặc dù trong các tế bào không hợp chất không đạt được trị số IC_{50} . Ở các tế bào biểu hiện CD5, hợp chất có trị số IC_{50} trung bình là $9,9E-03 \mu g/mL$ (tương đương với $1,57E-08$ M). Mặc dù cao hơn không đáng kể trong các tế bào biểu hiện CD5, nhưng hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 dường như là độc lập với mức biểu hiện CD5 trong các dòng tế bào của khối u (xem các trị số IC_{20} trong bảng 65 làm các trị số đối chiếu).

Bảng 65. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 4

	Hợp chất 4	
	Tế bào Raji	
	C#10 (biểu hiện CD5 ở mức cao)	C#18 (không biểu hiện CD5)
IC_{20} ($\mu g/mL$)	$4,65E-03$	$6,77E-03$
IC_{20} (Mol)	$7,01E-09$	$1,02E-08$
IC_{50} ($\mu g/mL$)	$9,90E-03$	$>1,00E-02$
IC_{50} (Mol)	$1,49E-08$	$>1,51E-08$

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 1

Hoạt tính của hợp chất 1 được thử nghiệm ở các đường cong đáp ứng liều sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ $01E-01$ đến $2,6E-05 \mu g/mL$ ($1,2E-07$ đến $3,0E-11$ M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 1 là khác nhau giữa hai dòng tế bào Raji, tức là có hoạt tính (khoảng 1 log) trong các tế bào biểu hiện

quá mức CD5 (dòng #10) cao hơn so với trong các tế bào không biểu hiện CD5 (dòng #18), với trị số IC_{50} trung bình lần lượt là $2,9E-03$ và $3,8E-02\mu g/mL$ (tương đương với $3,4E-09$ và $4,4E-08 M$) (Bảng 66). Trong trường hợp này hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 1 dường như không độc lập với tình trạng CD5 của các dòng tế bào của khối u.

Bảng 66. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của hợp chất 1

	Hợp chất 1	
	Tế bào Raji	
	C#10 (biểu hiện CD5 ở mức cao)	C#18 (không biểu hiện CD5)
IC_{50} ($\mu g/mL$)	$2,90E-03$	$3,80E-02$
IC_{50} (Mol)	$3,39E-09$	$4,44E-08$

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC14

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC14 được thử nghiệm đối với hai dòng tế bào Raji. Thể tiếp hợp này được thử nghiệm ở ba khoảng nồng độ khác nhau, mỗi đường cong trong số ba đường cong đáp ứng liều lặp lại (mười nồng độ pha loãng theo bậc, tỷ lệ 1/2,5) bắt đầu từ 10, 1 và $0,1\mu g/mL$. Đường cong đáp ứng liều đại diện (nồng độ ban đầu $10\mu g/mL$) được thể hiện trên Fig.35. ADC 14 có tính đặc hiệu đối với các tế bào biểu hiện quá mức CD5 (dòng #10), trong đó đã chứng minh được hợp chất này có hoạt tính gây độc tế bào tương tự, hoặc thậm chí là cao hơn, so với hoạt tính của các hợp chất gốc 1, 4 và 40. Ở các tế bào biểu hiện CD5 Raji, thể tiếp hợp có trị số IC_{50} trung bình là $1,6E-01\mu g/mL$. Ở các tế bào không biểu hiện CD5, thể tiếp hợp này có hoạt tính nhỏ hơn 50 lần so với hoạt tính trong các tế bào biểu hiện CD5, với trị số IC_{50} trung bình là $9,0E+00\mu g/mL$. Mặc dù còn có một số hạn chế, do tính nhạy khác biệt quan sát được giữa hai dòng tế bào Raji đối với một số hợp chất gốc, nên các kết quả này chứng tỏ rằng ADC14 có tính đặc hiệu với các tế bào biểu hiện CD5 (Bảng 67). Do đó, các tác giả sáng chế nhận thấy rằng ít nhất một phần ADC14 tác động thông qua quá trình tương tác giữa kháng thể đơn dòng với thụ thể CD5 liên quan đến màng trên các tế bào của khối u, và tiếp đó phân phối nội bào được chất gây độc tế bào vào mô đích.

Bảng 67. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào in vitro của thể tiếp hợp

ADC14

	ADC14	
	Tế bào Raji	
	C#10 (biểu hiện CD5 ở mức cao)	C#18 (không biểu hiện CD5)
IC_{50} ($\mu g/mL$)	$1,65E-01$	$9,00E+00$

Để so sánh bằng đồ thị hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng kháng CD5 riêng lẻ với hoạt tính của thể tiếp hợp ADC14, đồ thị này thể hiện tỷ lệ phần trăm

sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ ($50\mu\text{g/mL}$) hoặc ADC14 ($10\mu\text{g/mL}$), được thể hiện trên Fig.36. Kháng thể đơn dòng kháng CD5 riêng lẻ, ở nồng độ bằng $50\mu\text{g/mL}$, không có hoạt tính đối với hai dòng tế bào Raji, độc lập với tình trạng CD5 của chúng. Trái với ADC14, ở nồng độ bằng $10\mu\text{g/mL}$, có hoạt tính gây độc tế bào chọn lọc tiềm năng hoặc theo cách này hay cách khác đối với các tế bào biểu hiện CD5 Raji (dòng #10), làm giảm gần 90% khả năng sống sót tế bào của chúng sau 72 giờ điều trị. Trong cùng một điều kiện, ADC14 làm giảm 30% khả năng sống sót tế bào không biểu hiện CD5 (dòng #18) (Fig.36).

Ví dụ về hoạt tính sinh học 18: Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC15 và các chất phản ứng liên quan đối với dòng tế bào Raji có mức biểu hiện CD5 cao hoặc không biểu hiện CD5

Hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC15 cùng với các hợp chất 12, 4, và 40 gốc gây độc tế bào, được đánh giá đối với dòng tế bào Raji biểu hiện hoặc không biểu hiện kháng nguyên CD5. Đường cong đáp ứng liều (DR) tiêu chuẩn trong 72 giờ được sử dụng.

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất gốc 40 được thử nghiệm trên các đường cong đáp ứng liều bằng cách sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ $01\text{E}-03$ đến $2,6\text{E}-07\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ $1,7\text{E}-09$ đến $4,3\text{E}-13$ M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 40 là tương đối giống nhau giữa các tế bào Raji biểu hiện CD5 (dòng #10) và không biểu hiện (dòng #18), với trị số IC_{50} trung bình trong khoảng cận nanomol lần lượt là $4,95\text{E}-04$ và $8,90\text{E}-04\mu\text{g/mL}$ (tương đương với $8,17\text{E}-10$ và $1,47\text{E}-09$ M). Mặc dù hoạt tính này cao hơn không đáng kể trong các tế bào biểu hiện CD5, nhưng tính gây độc tế bào của hợp chất 40 dường như là độc lập về mức biểu hiện CD5 trong các dòng tế bào của khối u (Bảng 68).

Bảng 68. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 40

	Hợp chất 40	
	Tế bào Raji	
	C#10 (biểu hiện CD5 ở mức cao)	C#18 (không biểu hiện CD5)
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	$4,95\text{E}-04$	$8,90\text{E}-04$
IC_{50} (Mol)	$8,17\text{E}-10$	$1,47\text{E}-09$

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 được thử nghiệm trên đường cong đáp ứng DR bằng cách sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ $01E-02$ đến $2,6E-06\mu\text{g/mL}$ (nằm trong khoảng từ $1,5E-08$ đến $4,0E-12$ M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 4 là tương đối giống nhau giữa các tế bào Raji biểu hiện CD5 (dòng #10) và không biểu hiện (dòng #18), Mặc dù trong các tế bào không biểu hiện, hợp chất này không đạt được trị số IC_{50} . Trong các tế bào biểu hiện CD5, hợp chất có trị số IC_{50} trung bình bằng $9,9E-03\mu\text{g/mL}$ (tương đương với $1,57E-08$ M). Mặc dù cao hơn không đáng kể trong các tế bào biểu hiện CD5, nhưng tính gây độc tế bào của hợp chất 4 dường như là độc lập với mức biểu hiện CD5 trong các dòng tế bào của khối u (xem trị số IC_{20} trong bảng 69 làm trị số đối chiếu).

Bảng 69. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 4

	Hợp chất 4	
	Tế bào Raji	
	C#10 (biểu hiện CD5 ở mức cao)	C#18 (không biểu hiện CD5)
IC_{20} ($\mu\text{g/mL}$)	4,65E-03	6,77E-03
IC_{20} (Mol)	7,01E-09	1,02E-08
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	9,90E-03	>1,00E-02
IC_{50} (Mol)	1,49E-08	>1,51E-08

Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 12

Hoạt tính của hợp chất 12 được thử nghiệm trên các đường cong đáp ứng liều bằng cách sử dụng mười nồng độ pha loãng theo bậc (tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ $01E+00$ đến $2,6E-4\mu\text{g/mL}$ ($7,9E-07$ đến $2,1E-10$ M). Hoạt tính gây độc tế bào của hợp chất 12 là tương đối giống nhau giữa các tế bào Raji biểu hiện CD5 (dòng #10) và không biểu hiện (dòng #18), mặc dù trong các tế bào không biểu hiện, hợp chất không đạt được trị số IC_{50} . Ở các tế bào biểu hiện CD5, hợp chất có trị số IC_{50} trung bình là $2,7E-01\mu\text{g/mL}$ (tương đương với $2,15E-07$ M). Mặc dù cao hơn không đáng kể trong các tế bào biểu hiện CD5, nhưng tính gây độc tế bào của hợp chất 12 dường như là độc lập về mức biểu hiện CD5 trong các dòng tế bào của khối u (xem các trị số IC_{20} trong bảng 70 làm trị số đối chiếu).

Bảng 70. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của hợp chất 12

	Hợp chất 12	
	Tế bào Raji	
	C#10 (biểu hiện CD5 ở mức cao)	C#18 (không biểu hiện CD5)
IC_{20} ($\mu\text{g/mL}$)	1,50E-01	2,00E-01
IC_{20} (Mol)	1,19E-07	1,59E-07
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	2,70E-01	>1,00E+00
IC_{50} (Mol)	2,14E-07	>7,92E-07

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC15

Hoạt tính gây độc tế bào của thể tiếp hợp ADC15 được thử nghiệm đối với hai dòng tế bào Raji. Thể tiếp hợp này được thử nghiệm ở ba khoảng nồng độ khác nhau, mỗi khoảng này được dùng lặp lại ở ba đường cong đáp ứng liều (mười nồng độ pha loãng theo bậc, tỷ lệ 1/2,5) nằm trong khoảng từ 10,1 đến 0,1 $\mu\text{g/mL}$. Đường cong đáp ứng liều đại diện (nồng độ ban đầu là 10 $\mu\text{g/mL}$) được thể hiện trên Fig.37. ADC15 có tính đặc hiệu đáng kể đối với các tế bào biểu hiện quá mức CD5 (dòng #10), trong đó đã chứng minh được hợp chất này có hoạt tính gây độc tế bào tương tự như hoạt tính của hợp chất gốc 40 và thậm chí là cao hơn so với hoạt tính của các hợp chất 4 và 12. Ở các tế bào Raji biểu hiện CD5, thể tiếp hợp có trị số IC_{50} trung bình là 9,3E-01 $\mu\text{g/mL}$. Trong các tế bào không biểu hiện CD5, thể tiếp hợp có hoạt tính nhỏ hơn 10 lần so với hoạt tính trong các tế bào biểu hiện CD5, không đạt được trị số IC_{50} . Mặc dù có sự hạn chế, do tính nhạy quan sát được giữa hai dòng tế bào Raji đối với các hợp chất gốc 4 và 12, các kết quả này chứng tỏ rằng ADC15 có tính đặc hiệu đối với các tế bào biểu hiện CD5 (Bảng 71). Các tác giả sáng chế cho rằng ADC15 hoạt động ít nhất một phần cản trở qua sự tương tác của kháng thể đơn dòng với thụ thể CD5 liên quan đến màng trong các tế bào của khối u, và tiếp đó phân phối nội bào được chất gây độc tế bào vào mô đích.

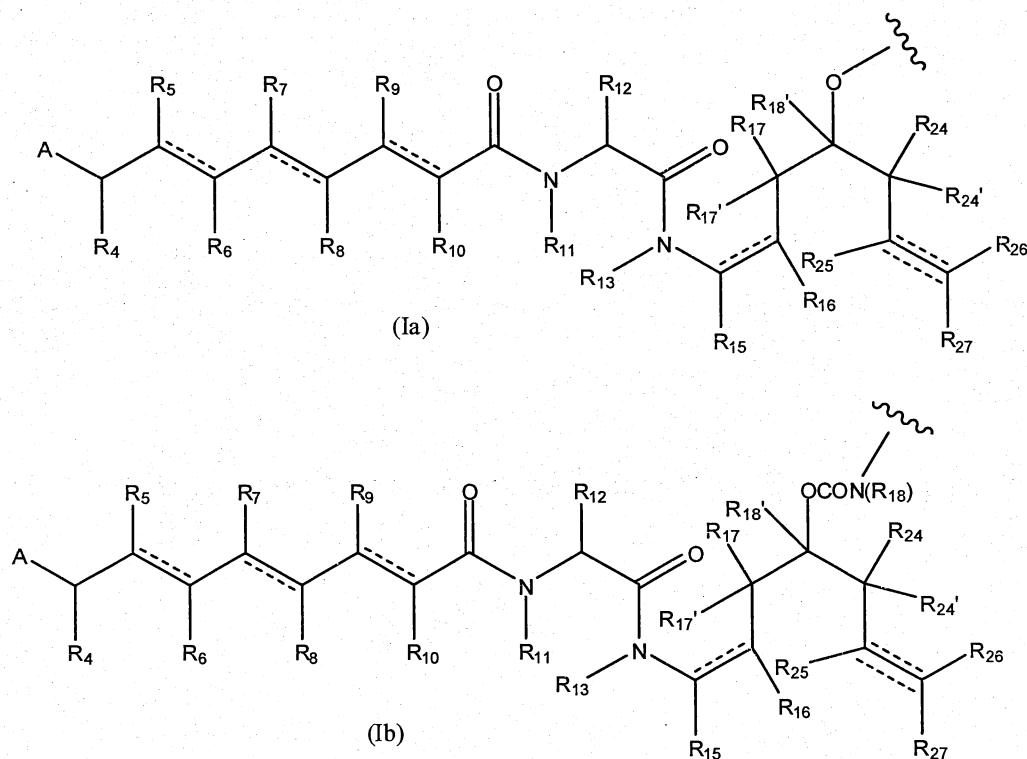
Bảng 71. Dữ liệu tóm tắt về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của thể tiếp hợp ADC15

	ADC15	
	Tế bào Raji	
	C#10 (biểu hiện CD5 ở mức cao)	C#18 (không biểu hiện CD5)
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	9,30E-01	>1,0E+01

Để so sánh bằng đồ thị, hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đơn dòng kháng CD5 riêng lẻ với hoạt tính của thể tiếp hợp ADC15, các biểu đồ chỉ ra rằng tỷ lệ tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào sau khi điều trị các dòng tế bào khác nhau bằng kháng thể đơn dòng riêng lẻ (50 $\mu\text{g/mL}$) hoặc ADC15 (10 $\mu\text{g/mL}$), được thể hiện trên Fig.38. kháng thể đơn dòng kháng CD5 riêng lẻ, ở nồng độ bằng 50 $\mu\text{g/mL}$, không có hoạt tính đối với hai dòng tế bào Raji, độc lập với tình trạng CD5 của chúng. Trái lại, ADC15 ở nồng độ của 10 $\mu\text{g/mL}$ có hoạt tính gây độc tế bào tiềm năng và chọn lọc đối với các tế bào biểu hiện CD5 Raji (dòng #10), làm giảm 80% khả năng sống sót của tế bào sau 72 giờ điều trị. Trong cùng một điều kiện, ADC15 không có hoạt tính trong các tế bào không biểu hiện CD5 (dòng #18) (Fig.38).

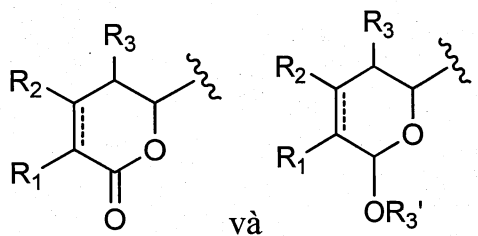
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Thẻ tiếp hợp được chứa gốc được chất liên kết cộng hóa trị với phần còn lại của thẻ tiếp hợp được chất này và thẻ tiếp hợp này có công thức $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)]_n-Ab$, trong đó D là gốc được chất được chọn từ các gốc có công thức (Ia) và công thức (Ib) hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn biến hoặc chất đồng phân lập thể của nó,



trong đó các đường lượn sóng của công thức (Ia) và công thức (Ib) thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc $(AA)_w$ nếu có, hoặc nhóm liên kết L;

A được chọn từ các gốc có công thức:



trong đó các đường lượn sóng của gốc A thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với phần còn lại của gốc được chất;

mỗi R_1 , R_2 và R_3 độc lập được chọn từ hydro, OR_a , $OCOR_a$, $OCOOR_a$, NR_aR_b , NR_aCOR_b , $NR_aC(=NR_a)NR_aR_b$, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế và C_2 - C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_3' được chọn từ hydro, COR_a , $COOR_a$, $CONR_aR_b$, $S(O)R_a$, SO_2R_a , $P(O)(R_a)R_b$, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế và C_2 - C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} và R_{12} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế và C_2 - C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_{11} được chọn từ nhóm bao gồm hydro, COR_a , $COOR_a$, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế và C_2 - C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế, hoặc R_{11} và R_{12} cùng với nguyên tử N và nguyên tử C tương ứng liên kết với chúng có thể tạo ra nhóm heteroxyclo không no hoặc no được thế hoặc không được thế có từ 5 đến 14 cạnh có một hoặc nhiều vòng và tùy ý có một hoặc nhiều dị nguyên tử khác được chọn từ nguyên tử oxy, nitơ và lưu huỳnh trên các vòng này ngoài nguyên tử nitơ của nhóm NR_{11} , trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_{13} được chọn từ nhóm bao gồm hydro, COR_a , $COOR_a$, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế, và C_4 - C_{12} alkenynyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, R_{18} , R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} và R_{26} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế và C_2 - C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_{18} được chọn từ nhóm bao gồm hydro, nhóm C_1 - C_{12} alkyl có thể tùy ý được thế bằng ít nhất một nhóm R_x , nhóm aryl có từ 6 đến 18 nguyên tử cacbon trên một hoặc nhiều vòng thơm, nhóm aryl này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , và

nhóm heteroxyclo không no hoặc no được thế hoặc không được thế có từ 5 đến 14 cạnh có một hoặc nhiều vòng, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_{27} được chọn từ hydro, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế và halogen;

mỗi R_a và R_b độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế, nhóm aryl được thế hoặc không được thế có từ 6 đến 18 nguyên tử cacbon trên một hoặc nhiều vòng, và nhóm heteroxyclo không no hoặc no được thế hoặc không được thế có từ 5 đến 14 cạnh có một hoặc nhiều vòng, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

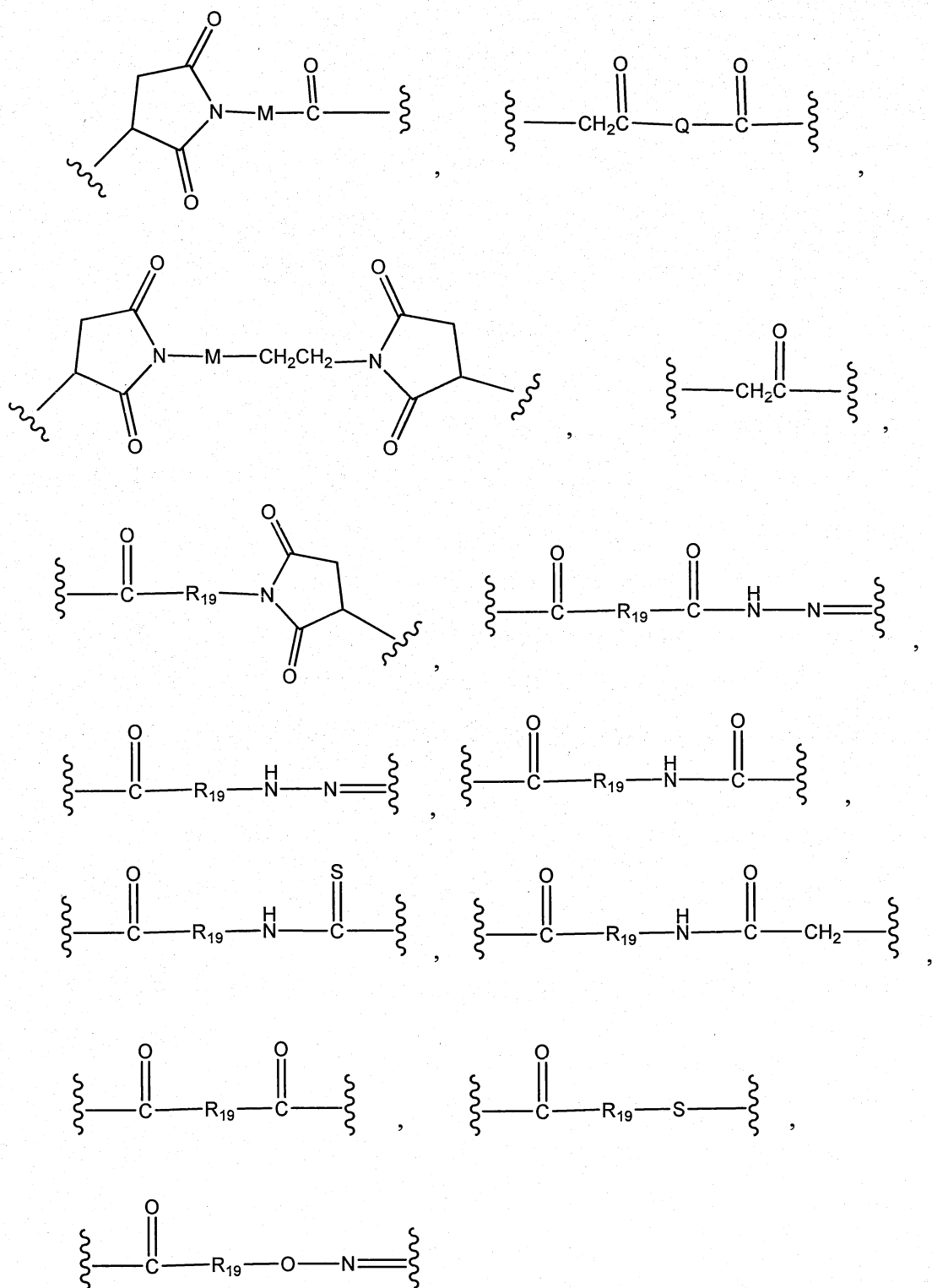
các phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm C_1 - C_{12} alkyl có thể tùy ý được thế bằng ít nhất một nhóm R_y , nhóm C_2 - C_{12} alkenyl có thể tùy ý được thế bằng ít nhất một nhóm R_y , nhóm C_2 - C_{12} alkynyl có thể tùy ý được thế bằng ít nhất một nhóm R_y , nguyên tử halogen, nhóm oxo, nhóm thio, nhóm xyano, nhóm nitro, OR_y , $OCOR_y$, $OCOOR_y$, COR_y , $COOR_y$, $CONR_yR_z$, $CONR_yR_z$, $S(O)R_y$, SO_2R_y , $P(O)(R_y)OR_z$, NR_yR_z , NR_yCOR_z , $NR_yC(=O)NR_yR_z$, $NR_yC(=NR_y)NR_yR_z$, nhóm aryl có từ 6 đến 18 nguyên tử cacbon trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế có thể là giống nhau hoặc khác nhau được chọn từ nhóm bao gồm R_y , OR_y , $OCOR_y$, $OCOOR_y$, NR_yR_z , NR_yCOR_z và $NR_yC(=NR_y)NR_yR_z$, nhóm aralkyl bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 12 nguyên tử cacbon được thế bằng nhóm aryl tùy ý được thế như được xác định trên đây, nhóm aralkyloxy bao gồm nhóm alkoxy có từ 1 đến 12 nguyên tử cacbon được thế bằng nhóm aryl tùy ý được thế như được xác định trên đây, và nhóm heteroxyclo no hoặc không no có từ 5 đến 14 cạnh có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm heteroxyclo này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_y , và trong đó có nhiều hơn một phần tử thế tùy ý trên nhóm đã nêu bất kỳ, các phần tử thế tùy ý này R_y có thể là giống nhau hoặc khác nhau;

mỗi R_y và R_z độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, nhóm C_1 - C_{12} alkyl, nhóm C_1 - C_{12} alkyl được thế bằng ít nhất một nguyên tử halogen, nhóm aralkyl bao gồm nhóm C_1 - C_{12} alkyl được thế bằng nhóm aryl có từ 6 đến 18 nguyên tử cacbon trên một hoặc nhiều vòng và nhóm heteroxycloalkyl bao gồm nhóm C_1 - C_{12} alkyl được thế bằng nhóm

heteroxyclo không no hoặc no có từ 5 đến 14 cạnh có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này;

và mỗi đường chấm chấm thể hiện liên kết bổ sung tùy ý, nhưng khi liên kết ba có mặt giữa nguyên tử C liên kết với R_{25} và nguyên tử C liên kết với R_{26} và R_{27} , thì R_{25} và R_{26} hoặc R_{27} là không có mặt;

L là nhóm liên kết được chọn từ nhóm bao gồm các nhóm có công thức:



trong đó:

các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với Ab (đường lượn sóng sang phải) và $(AA)_w$ nếu có, hoặc $(X)_b$ nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái);

R_{19} được chọn từ $-C_1-C_{12}$ alkylen-, $-C_3-C_8$ carboxyclo-, $-O-(C_1-C_{12}$ alkylen), $-C_6-C_{18}$ arylen trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_1-C_{12}$ alkylen- $-C_6-C_{18}$ arylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_6-C_{18}$ arylen- $-C_1-C_{12}$ alkylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_1-C_{12}$ alkylen- $(C_3-C_8$ carboxyclo)-, $-(C_3-C_8$ carboxyclo)- $-C_1-C_{12}$ alkylen-, $-C_5-C_{14}$ heteroxyclo-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm no hoặc không no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nito hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_1-C_{12}$ alkylen- $(C_5-C_{14}$ heteroxyclo)-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm no hoặc không no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nito hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-(C_5-C_{14}$ heteroxyclo)- $-C_1-C_{12}$ alkylen-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm no hoặc không no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nito hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-(OCH_2CH_2)_r$ - và $-CH_2-(OCH_2CH_2)_r$ -, trong đó mỗi phần tử thế trong số các phần tử thế alkylen nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào gốc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

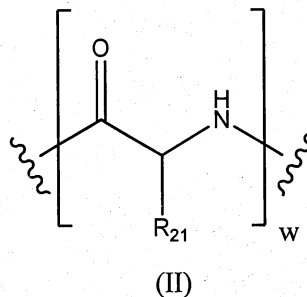
M được chọn từ nhóm bao gồm $-C_1-C_6$ alkylen-, $-C_1-C_6$ alkylen- $(C_3-C_8$ carboxyclo)-, $-(CH_2CH_2O)_s$ -, $-C_1-C_6$ alkylen- $(C_3-C_8$ carboxyclo)-CON(H hoặc C_1-C_6 alkyl)- $-C_1-C_6$ alkylen-, phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , phenylen- $-C_1-C_6$ alkylen-, trong đó gốc phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x và $-C_1-C_6$ alkylen-CON(H hoặc C_1-C_6 alkyl)- $-C_1-C_6$ alkylen-;

Q được chọn từ nhóm bao gồm $-N(H$ hoặc C_1-C_6 alkyl)phenylen- và $-N(H$ hoặc C_1-C_6 alkyl)- $(CH_2)_s$;

r là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 10; và

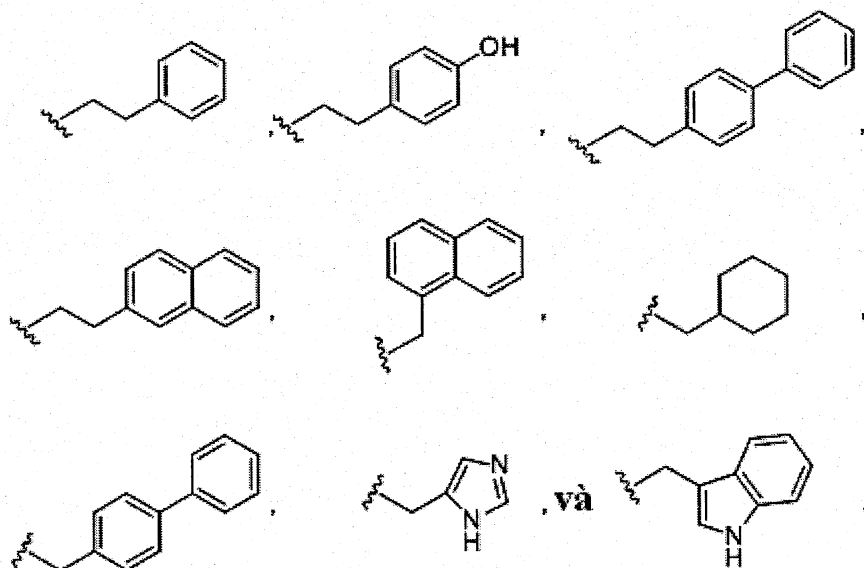
s là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 10;

(AA)_w có công thức (II):



trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với (X)_b nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải);

R₂₁, mỗi khi có mặt, được chọn từ nhóm bao gồm hydro, methyl, isopropyl, isobutyl, *sec*-butyl, benzyl, p-hydroxybenzyl, -CH₂OH, -CH(OH)CH₃, -CH₂CH₂SCH₃, -CH₂CONH₂, -CH₂COOH, -CH₂CH₂CONH₂, -CH₂CH₂COOH, -(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂, -(CH₂)₃NH₂, -(CH₂)₃NHCOCH₃, -(CH₂)₃NHCHO, -(CH₂)₄NHC(=NH)NH₂, -(CH₂)₄NH₂, -(CH₂)₄NHCOCH₃, -(CH₂)₄NHCHO, -(CH₂)₃NHCONH₂, -(CH₂)₄NHCONH₂, -CH₂CH₂CH(OH)CH₂NH₂, 2-pyridylmetyl-, 3-pyridylmetyl-, 4-pyridylmetyl-, phenyl, xyclohexyl, các nhóm có công thức:



và w là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 12;

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ nhóm bao gồm:

-CONH-(C₁-C₆ alkylen)NH-;

-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x)-NH-;

-CONH-(C₁-C₆ alkylen)NH-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x)-NH-;

-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x)-NH-;

-COCH₂NH-COCH₂-NH-;

-COCH₂NH-;

-CONH-(C₁-C₆ alkylen)S-;

-CONH-(C₁-C₆ alkylen)NHCO(C₁-C₆ alkylen)S-;

-(C₁-C₆ alkylen)NHCO(C₁-C₆ alkylen)S-;

-(C₁-C₆ alkylen)S-;

-(C₁-C₆ alkylen)NH-; và

-(C₁-C₆ alkylen)NH-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x)-NH-.

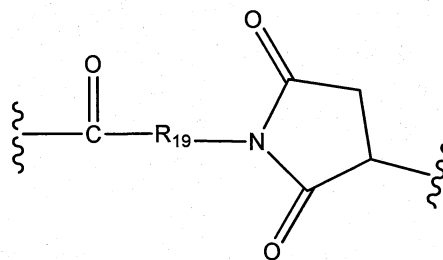
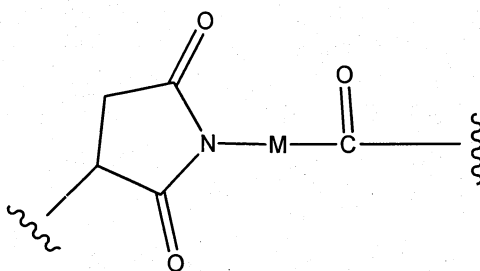
b là số nguyên bằng 0 hoặc 1;

Ab là gốc chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên; và

n là tỷ lệ giữa nhóm [D-(X)_b-(AA)_w-(L)-] với gốc chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 1 đến 20.

2. Thẻ tiếp hợp được chất theo điểm 1, trong đó:

L là nhóm liên kết được chọn từ nhóm bao gồm các nhóm có công thức:



và

trong đó:

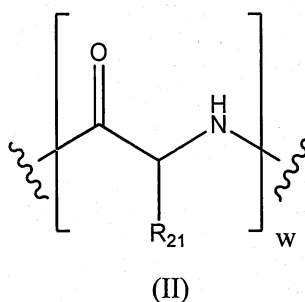
các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với Ab (đường lượn sóng sang phải) và $(AA)_w$ nếu có, hoặc $(X)_b$ nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái);

R_{19} được chọn từ $-C_1-C_{12}$ alkylen-, $-O-(C_1-C_{12}$ alkylen), $-C_6-C_{12}$ arylen trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_1-C_{12}$ alkylen- $-C_6-C_{12}$ arylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_6-C_{12}$ arylen- $-C_1-C_{12}$ alkylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_5-C_{12}$ heteroxyclo-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm no hoặc không no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nito hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_1-C_{12}$ alkylen- $-(C_5-C_{12}$ heteroxyclo)-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm no hoặc không no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nito hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-(C_5-C_{12}$ heteroxyclo)- $-C_1-C_{12}$ alkylen-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm no hoặc không no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nito hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-(OCH_2CH_2)_r$ - và $-CH_2-(OCH_2CH_2)_r$ -, trong đó mỗi phần tử thế trong số các phần tử thế alkylen nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào gốc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

M được chọn từ nhóm bao gồm $-C_1-C_6$ alkylen-, $-C_1-C_6$ alkylen- $-(C_3-C_8$ carboxyclo)- và phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

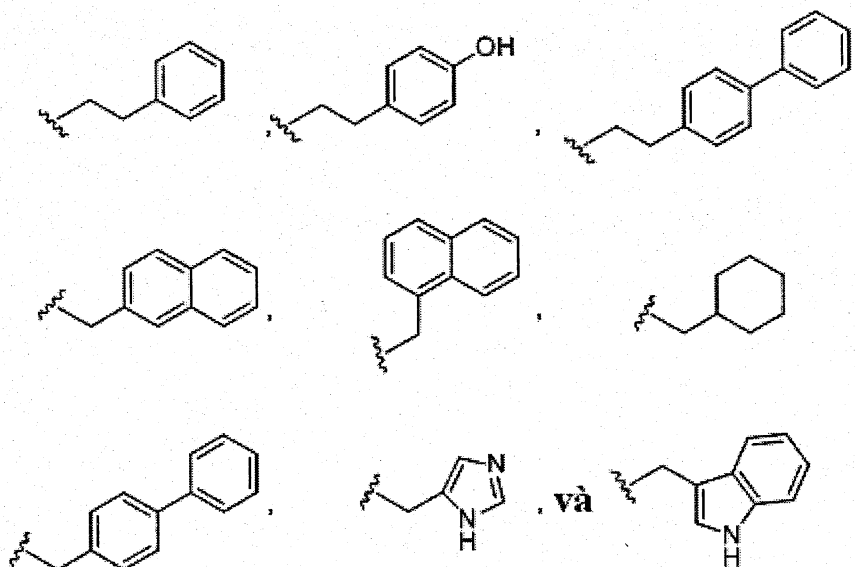
r là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 6;

$(AA)_w$ có công thức (II):



trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với (X)_b nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải);

R₂₁, mỗi khi có mặt, được chọn từ nhóm bao gồm hydro, metyl, isopropyl, isobutyl, *sec*-butyl, benzyl, *p*-hydroxybenzyl, -CH₂OH, -CH(OH)CH₃, -CH₂CH₂SCH₃, -CH₂CONH₂, -CH₂COOH, -CH₂CH₂CONH₂, -CH₂CH₂COOH, -(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂, -(CH₂)₃NH₂, -(CH₂)₃NHCOCH₃, -(CH₂)₃NHCHO, -(CH₂)₄NHC(=NH)NH₂, -(CH₂)₄NH₂, -(CH₂)₄NHCOCH₃, -(CH₂)₄NHCHO, -(CH₂)₃NHCONH₂, -(CH₂)₄NHCONH₂, -CH₂CH₂CH(OH)CH₂NH₂, 2-pyridylmetyl-, 3-pyridylmetyl-, 4-pyridylmetyl-, phenyl, xyclohexyl, các nhóm có công thức:



w là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 12;

trong đó X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ -CONH-(C₁-C₆ alkyl)NH-, -COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phân tử thế R_x)-NH-, -CONH-(C₁-C₆ alkyl)NH-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phân tử thế R_x)-NH-, -CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phân tử thế R_x)-NH-, -COCH₂NH-COCH₂-NH-, -COCH₂-NH-, -CONH-(C₁-C₆ alkyl)S-, -CONH-(C₁-C₆ alkyl)NHCO(C₁-C₆ alkyl)S-, -(C₁-C₆ alkyl)NHCO(C₁-C₆ alkyl)S-, -(C₁-C₆ alkyl)S-, -(C₁-C₆ alkyl)NH- và -(C₁-C₆ alkyl)NH-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phân tử thế R_x)-NH-;

D là gốc được chất có công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn hợp hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó:

R_1 được chọn từ hydro, OR_a và $OCOR_a$, trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_2 và R_3 độc lập được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_3 được chọn từ hydro, COR_a , và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó R_a là C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} và R_{12} độc lập được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế và không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_{11} và R_{13} độc lập được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế và không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, $R_{18'}$, R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} và R_{26} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm:

hydro và nhóm C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm hydroxyl, nhóm oxo, nguyên tử halogen, $OCOR_y$, $OCOOR_y$, COR_y , $COOR_y$, $OCONR_yR_z$, $CONR_yR_z$, NR_yR_z và NR_yCOR_z , trong đó mỗi R_y và R_z được chọn từ nguyên tử hydro và nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon;

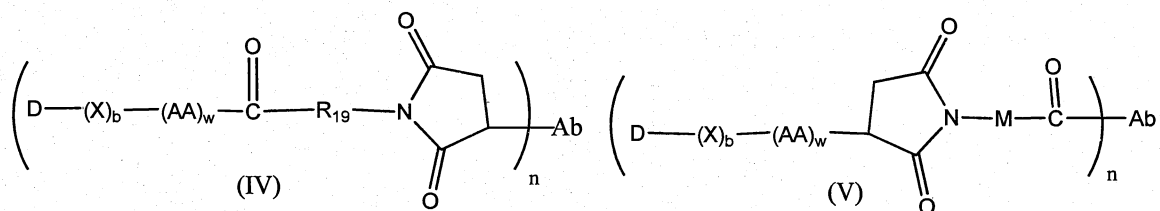
R_{18} được chọn từ hydro, nhóm C_1-C_6 alkyl có thể tùy ý được thế bằng ít nhất một nhóm R_x , nhóm aryl có từ 6 đến 12 nguyên tử cacbon trên một hoặc nhiều vòng thơm, nhóm aryl này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x và nhóm heteroxyclo không no hoặc no có từ 5 đến 10 cạnh có một hoặc nhiều vòng, nhóm heteroxyclo này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , trong đó các phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm hydroxyl, nguyên tử halogen, nhóm alkylamino có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon và nhóm dialkylamino có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon;

R_{27} được chọn từ hydro, halogen và C_1 - C_6 alkyl được thế và không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ; mỗi đường chấm chấm thể hiện liên kết bổ sung tùy ý, nhưng khi liên kết ba có mặt giữa nguyên tử C liên kết với R_{25} và nguyên tử C liên kết với R_{26} và R_{27} , thì R_{25} và R_{26} hoặc R_{27} là không có mặt;

gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên là kháng thể hoặc đoạn gắn kết kháng nguyên của nó và nó được chọn từ nhóm bao gồm kháng thể của người, đoạn gắn kết với kháng nguyên của kháng thể của người, kháng thể được làm giống như của người, đoạn gắn kết với kháng nguyên của kháng thể được làm giống như của người, kháng thể khảm, đoạn gắn kết với kháng nguyên của kháng thể khảm, kháng thể đã được glycosyl hóa và đoạn gắn kết với kháng nguyên đã được glycosyl hóa; và

n là tỷ lệ giữa nhóm $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]$ với gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 1 đến 12.

3. Thế tiếp hợp được chất theo điểm 1, trong đó thế tiếp hợp này được chọn từ các thế tiếp hợp được chất có công thức (IV) và công thức (V):

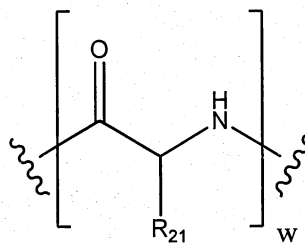


trong đó:

R_{19} được chọn từ $-C_1$ - C_8 alkyl-, $-O$ -(C_1 - C_8 alkyl-), $-C_1$ - C_8 alkyl- C_6 - C_{12} aryl-, trong đó nhóm aryl- này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x và $-C_6$ - C_{12} aryl- C_1 - C_8 alkyl-, trong đó nhóm aryl- này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , trong đó mỗi phần tử thế trong số các phần tử thế alkyl- nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào gốc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

M được chọn từ nhóm bao gồm $-C_1$ - C_3 alkyl- và $-C_1$ - C_3 alkyl-(C_5 - C_7 carboxyclo)-;

$(AA)_w$ có công thức (II):



(II)

trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với (X)_b nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải);

R₂₁, mỗi khi có mặt, được chọn từ nhóm bao gồm hydro, methyl, isopropyl, *sec*-butyl, benzyl, indolylmetyl, -(CH₂)₃NHCONH₂, -(CH₂)₄NH₂, -(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂ và -(CH₂)₄NHC(=NH)NH₂;

w là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 6;

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ nhóm bao gồm -CONH-(C₂-C₄ alkylen)NH-, -COO-CH₂-phenylen-NH-, trong đó nhóm phenylen này có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, -CONH-(C₂-C₄ alkylen)NH-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)-NH-, -COCH₂NH-COCH₂-NH-, -CONH-(C₂-C₄ alkylen)S-, -CONH-(C₂-C₄ alkylen)NHCO(C₁-C₃ alkylen)S-, -(C₂-C₄ alkylen)NHCO(C₁-C₃ alkylen)S-, -(C₂-C₄ alkylen)S-, -(C₂-C₄ alkylen)NH- và -(C₂-C₄ alkylen)NH-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)-NH-;

D là gốc được chất có công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó:

R₁ là hydro hoặc metoxy;

mỗi R₂ và R₃ là hydro;

R_{3'} là hydro;

mỗi $R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}$ và R_{12} độc lập được chọn từ hydro, methyl được thế và không được thế, isopropyl được thế và không được thế và tert-butyl được thế và không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_{11} và R_{13} là hydro;

mỗi $R_{15}, R_{16}, R_{17}, R_{17'}, R_{18}, R_{24}, R_{24'}, R_{25}$ và R_{26} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm:

hydro và nhóm C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm hydroxyl, nhóm oxo, nguyên tử halogen, $OCOR_y$, $OCOOR_y$, COR_y , $COOR_y$, $CONR_yR_z$, $CONR_yR_z$, NR_yR_z , NR_yCOR_z , trong đó mỗi R_y và R_z được chọn từ nguyên tử hydro và nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon;

R_{18} được chọn từ hydro, nhóm C_1 - C_6 alkyl có thể tùy ý được thế bằng ít nhất một nhóm R_x , và nhóm phenyl tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

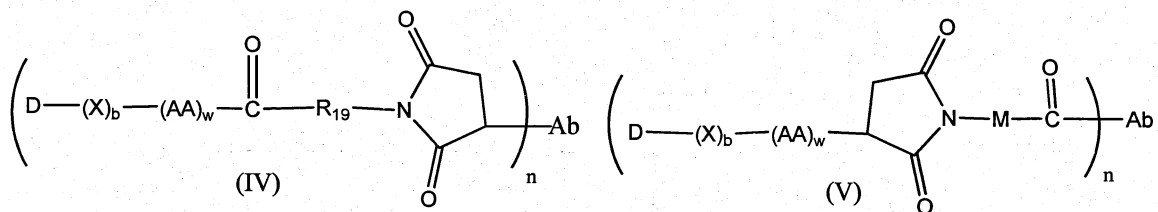
R_{27} là nguyên tử hydro hoặc nguyên tử clo;

mỗi đường chấm chấm thể hiện liên kết bổ sung tùy ý, nhưng khi liên kết ba có mặt giữa nguyên tử C liên kết với R_{25} và nguyên tử C liên kết với R_{26} và R_{27} , thì R_{25} và R_{26} hoặc R_{27} là không có mặt;

gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên là kháng thể hoặc đoạn gắn kết kháng nguyên của nó, trong đó kháng thể hoặc đoạn gắn kết với kháng nguyên này là kháng thể đơn dòng gắn kết miễn dịch đặc hiệu với kháng nguyên của tế bào ung thư, kháng nguyên của virus, kháng nguyên của các tế bào sản sinh các kháng thể tự miễn liên quan đến bệnh tự miễn, kháng nguyên của vi khuẩn, và tốt hơn nếu kháng thể đơn dòng gắn kết miễn dịch đặc hiệu với kháng nguyên của tế bào ung thư; và

n là tỷ lệ giữa nhóm $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]$ trong đó L là như được xác định trong các công thức (IV) hoặc công thức (V) với gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 3 đến 8.

4. Thể tiếp hợp được chất theo điểm 1, trong đó thể tiếp hợp này được chọn từ các thể tiếp hợp được chất công thức (IV) và công thức (V):

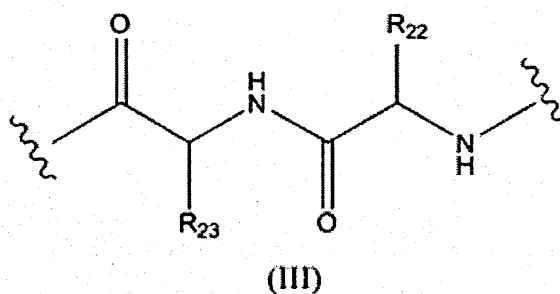


trong đó:

R_{19} được chọn từ $-C_1-C_6$ alkylen-, -phenylen- $-C_1-C_6$ alkylen-, trong đó nhóm phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, trong đó mỗi phần tử thế trong số các phần tử thế alkylen nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào gốc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm aryl có từ 6 đến 12 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, và tốt hơn nếu R_{19} là nhóm C_1-C_6 alkylen;

M là $-C_1-C_3$ alkylen- $-(C_5-C_7$ carboxyclo)-;

w bằng 0 hoặc 2, và khi w bằng 2 thì $(AA)_w$ có công thức (III):



trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải);

R_{22} được chọn từ metyl, benzyl, isopropyl, *sec*-butyl và indolylmetyl;

R_{23} được chọn từ metyl, $-(CH_2)_4NH_2$, $-(CH_2)_3NHCONH_2$ và $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$;

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ nhóm bao gồm $-CONH-(C_2-C_4$ alkylen) $NH-$, $-COO-CH_2$ -phenylen- $NH-$, trong đó nhóm phenylen này có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến

6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, $-\text{CONH}-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NH}-\text{COO}-\text{CH}_2-(\text{phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế } R_x \text{ được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano})-\text{NH}-$, $-\text{COCH}_2\text{NH}-\text{COCH}_2-\text{NH}-$, $-\text{CONH}-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{S}-$, $-\text{CONH}-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NHCO}(\text{C}_1-\text{C}_3 \text{ alkylen})\text{S}-$, $-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NHCO}(\text{C}_1-\text{C}_3 \text{ alkylen})\text{S}-$, $-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{S}-$, $-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NH}-$ và $-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NH}-\text{COO}-\text{CH}_2-(\text{phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế } R_x \text{ được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano})-\text{NH}-$;

D là gốc dược chất có công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối dược dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn hợp hoặc chất đồng phân lập thể của chúng, trong đó:

R_1 là hydro hoặc metoxy;

mỗi R_2 và R_3 là hydro;

R_3' là hydro;

mỗi R_5 , R_7 , R_8 , R_9 và R_{10} là hydro;

mỗi R_4 và R_6 là metyl;

mỗi R_{11} và R_{13} là hydro;

R_{12} là isopropyl, tert-butyl hoặc benzyl;

mỗi R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, $R_{18'}$, R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} và R_{26} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro và C_1-C_6 nhóm alkyl, tốt hơn nếu hydro và metyl;

R_{18} được chọn từ hydro và phenyl, tốt hơn nếu hydro;

R_{27} là nguyên tử hydro hoặc nguyên tử clo;

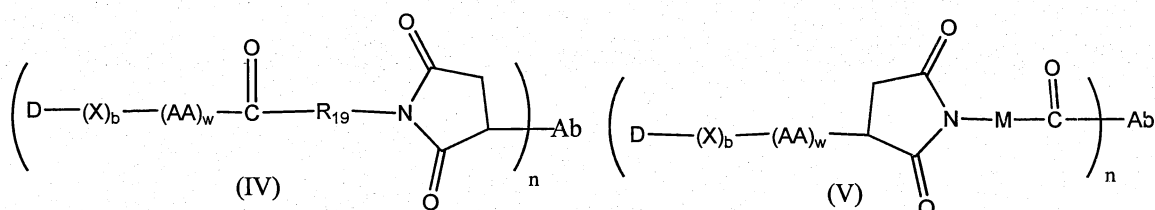
mỗi cặp nguyên tử cacbon liên kết bởi một hoặc nhiều đường chấm chấm được gắn kết qua các liên kết đôi;

gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên là kháng thể đơn dòng được chọn từ nhóm bao gồm Abciximab, Alemtuzumab, Basiliximab, Bevacizumab, Cetuximab, Daclizumab, Glembatumumab, Gemtuzumab, Ibritumomab, Inotuzumab, Labetuzumab, Lorvotuzumab, Milatuzumab, Nimotuzumab, Omalizumab, Palivizumab,

Panitumumab, Pinatuzumab, Rituximab, Vorsetuzumab, Trastuzumab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13, hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó, và tốt hơn nếu kháng thể này được chọn từ Trastuzumab, Rituximab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng; và

n là tỷ lệ giữa nhóm $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]$ trong đó L là như được xác định trong các công thức (IV) hoặc công thức (V) với gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 3 đến 5.

5. Thể tiếp hợp được chất theo điểm 1, trong đó thể tiếp hợp này được chọn từ các thể tiếp hợp được chất có công thức (IV) và công thức (V):

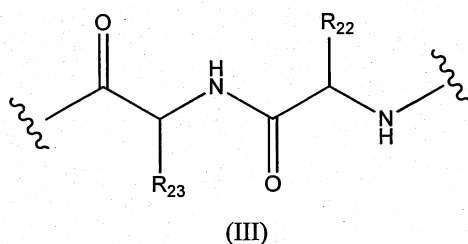


trong đó:

R_{19} là $-C_3-C_6$ alkylen-;

M là $-C_1-C_3$ alkylen- $-(C_5-C_7$ carboxyclo)-;

w bằng 0 hoặc 2, và khi w bằng 2 thì $(AA)_w$ có công thức (III):

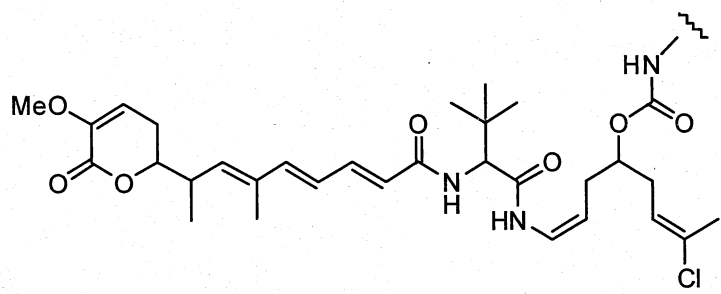
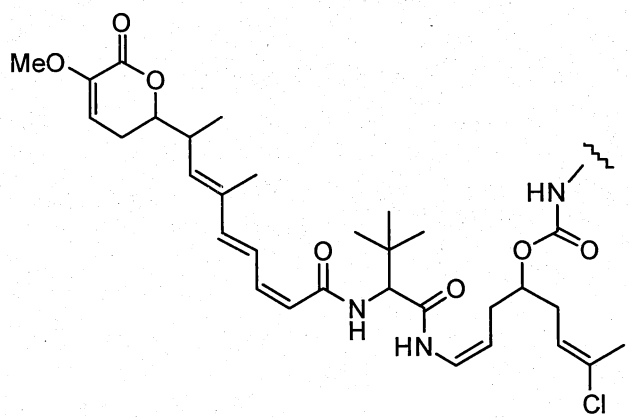
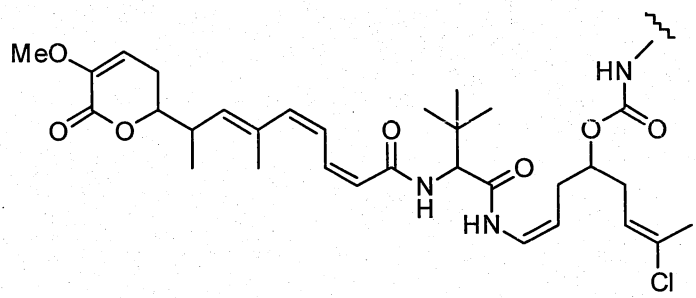


trong đó R_{22} là isopropyl, R_{23} là $-(CH_2)_3NHCONH_2$, trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải);

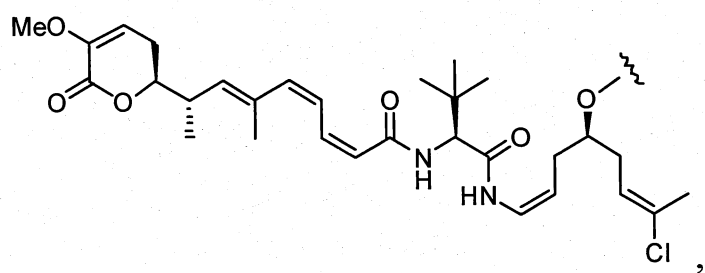
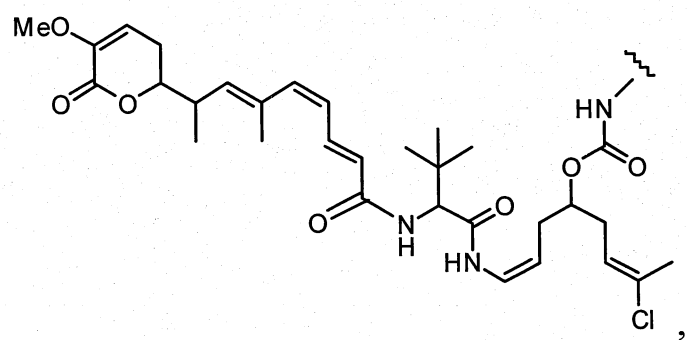
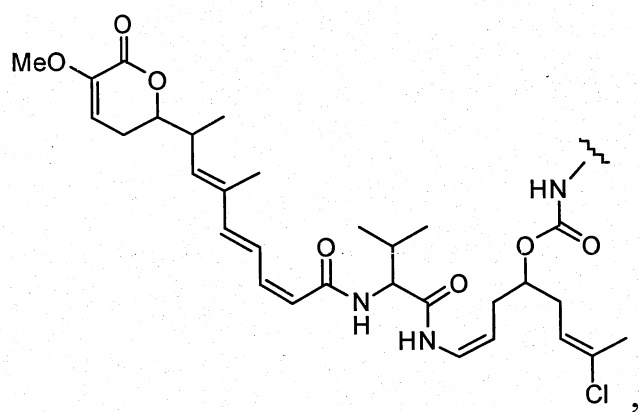
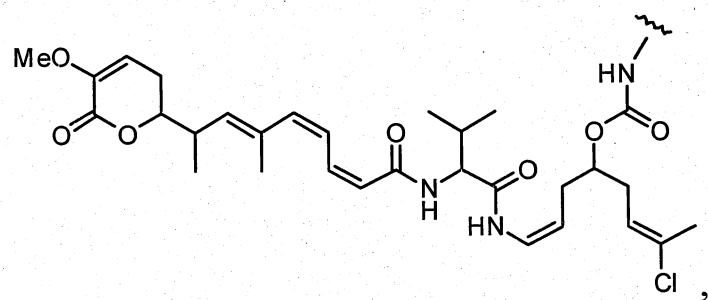
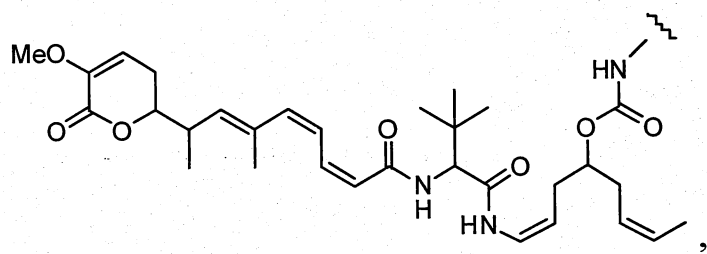
X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CONH}-(C_2-C_4 \text{ alkylen})\text{NH}-$, $-\text{COO}-\text{CH}_2\text{-phenylen-NH}-$, trong đó nhóm phenylen này có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen,

nhóm nitro và nhóm xyano, $-\text{CONH}-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NH}-\text{COO}-\text{CH}_2-(\text{phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế } R_x \text{ được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano})-\text{NH}-$, $-\text{COCH}_2\text{NH}-\text{COCH}_2-\text{NH}-$, $-\text{CONH}-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{S}-$, $-\text{CONH}-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NHCO}(\text{C}_1-\text{C}_3 \text{ alkylen})\text{S}-$, $-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NHCO}(\text{C}_1-\text{C}_3 \text{ alkylen})\text{S}-$, $-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{S}-$, $-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NH}-$ và $-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NH}-\text{COO}-\text{CH}_2-(\text{phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế } R_x \text{ được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano})-\text{NH}-$;

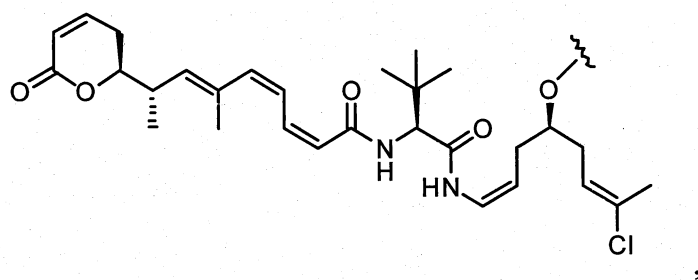
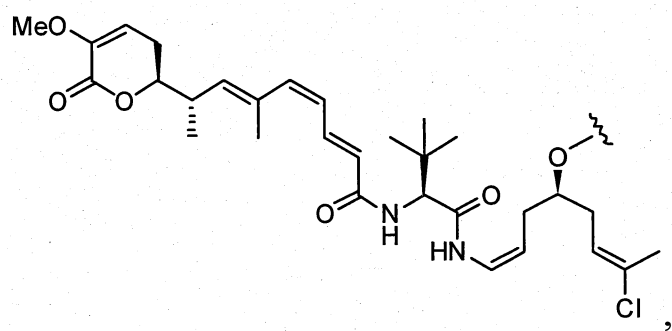
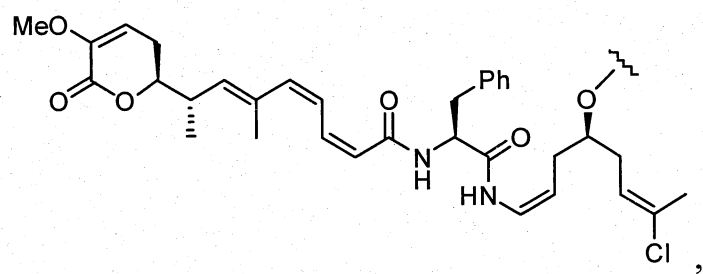
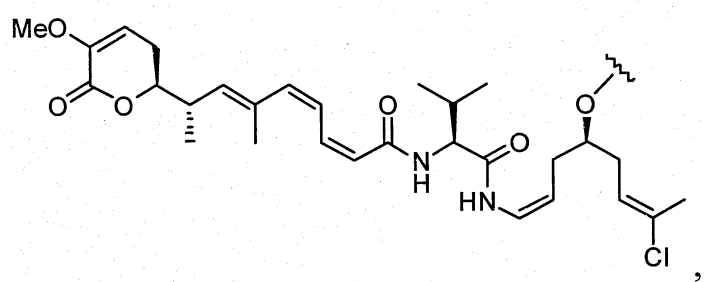
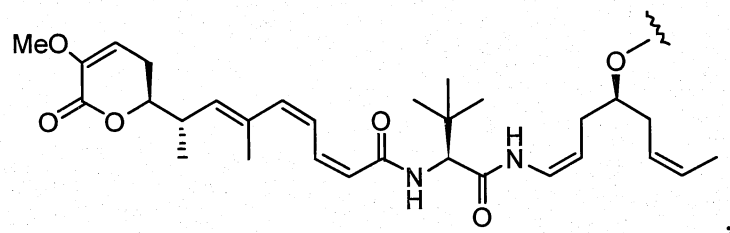
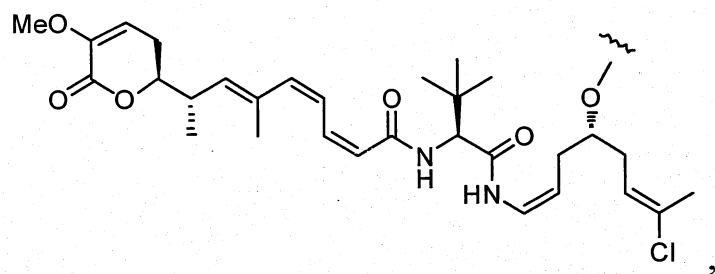
D là gốc dược chất có công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối dược dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng được chọn từ nhóm có các công thức sau:

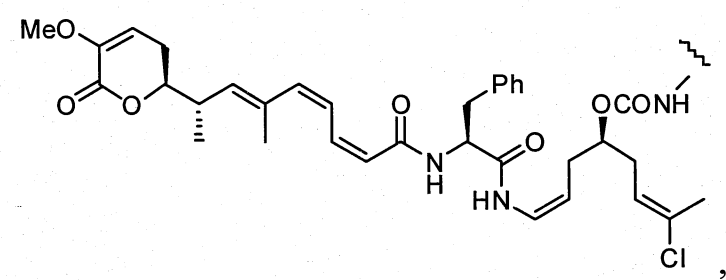
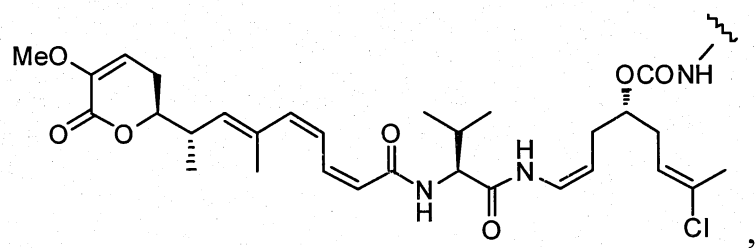
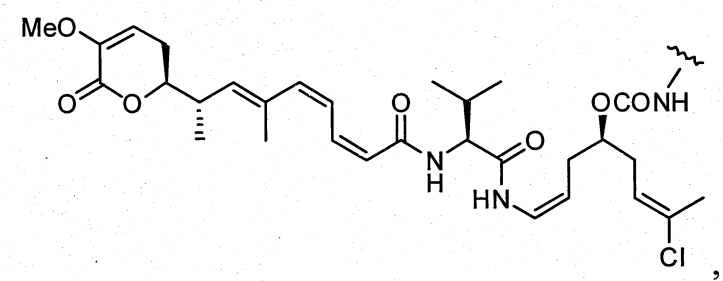
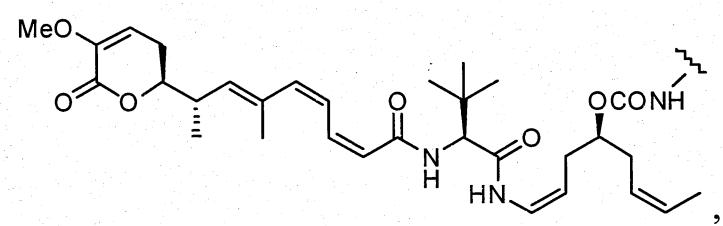
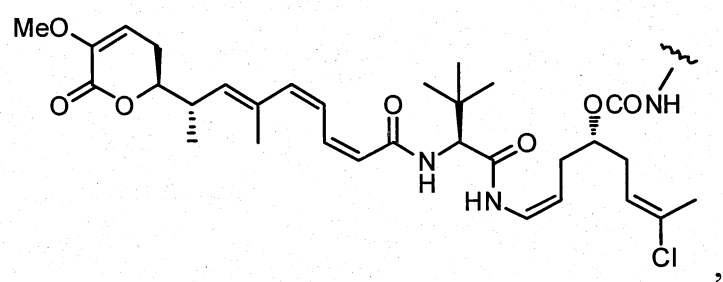
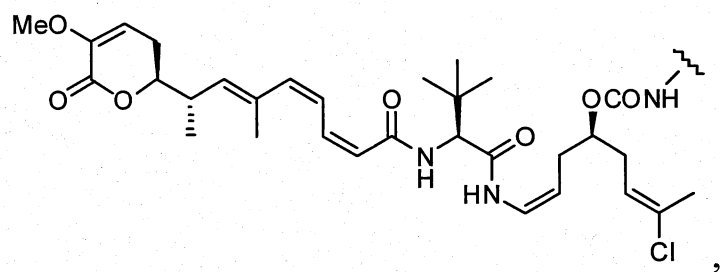


26474

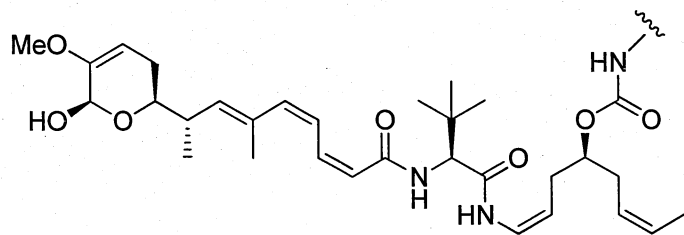
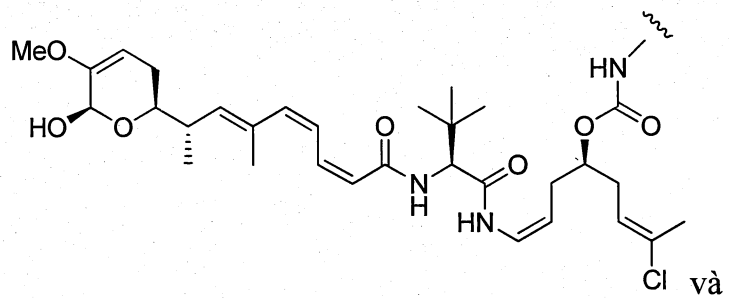
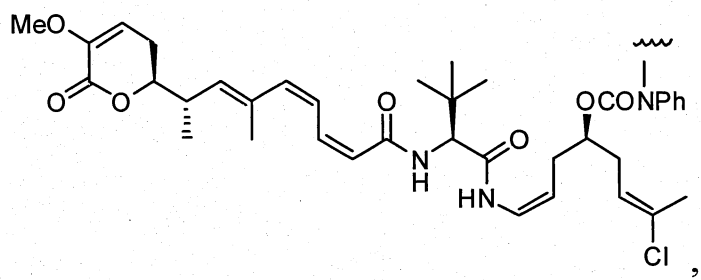
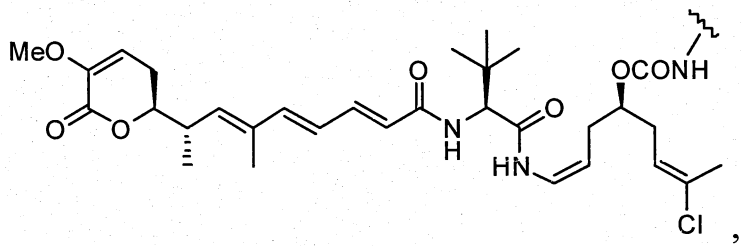
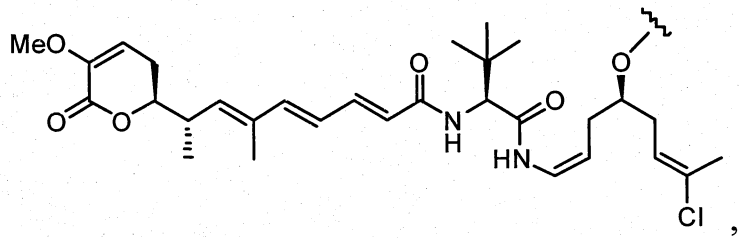
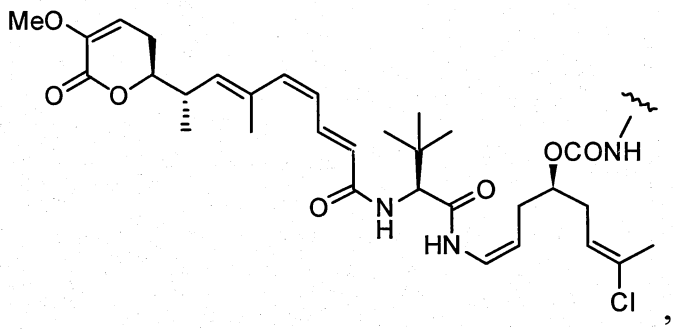


26474





26474



trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc $(AA)_w$ nếu có, hoặc nhóm liên kết L;

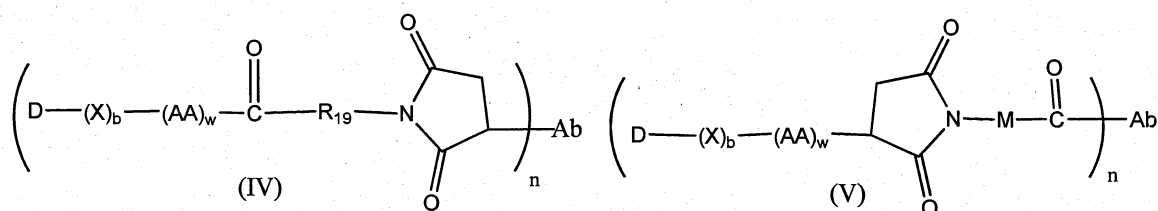
gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên được chọn từ Trastuzumab, Rituximab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phân có hoạt tính miễn dịch của chúng; và

n là tỷ lệ giữa nhóm $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]$ trong đó L là như được xác định trong các công thức (IV) hoặc công thức (V) với gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 3 đến 5.

6. Thẻ tiếp hợp được chất theo điểm 5, trong đó gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên được chọn từ Trastuzumab, Rituximab và kháng thể kháng CD4 hoặc phân có hoạt tính miễn dịch của chúng.

7. Thẻ tiếp hợp được chất theo điểm 5, trong đó gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên là Trastuzumab hoặc phân có hoạt tính miễn dịch của nó.

8. Thẻ tiếp hợp được chất theo điểm 1, trong đó thẻ tiếp hợp này được chọn từ thẻ tiếp hợp được chất có các công thức (IV) và công thức (V):

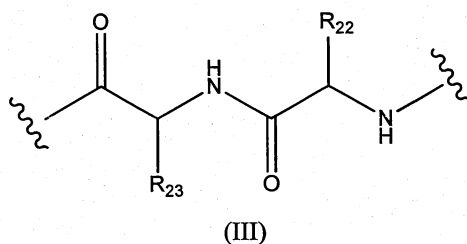


trong đó:

R_{19} là $-C_3-C_6$ alkylen-;

M là $-C_1-C_3$ alkylen- $(C_5-C_7$ carboxyclo)-;

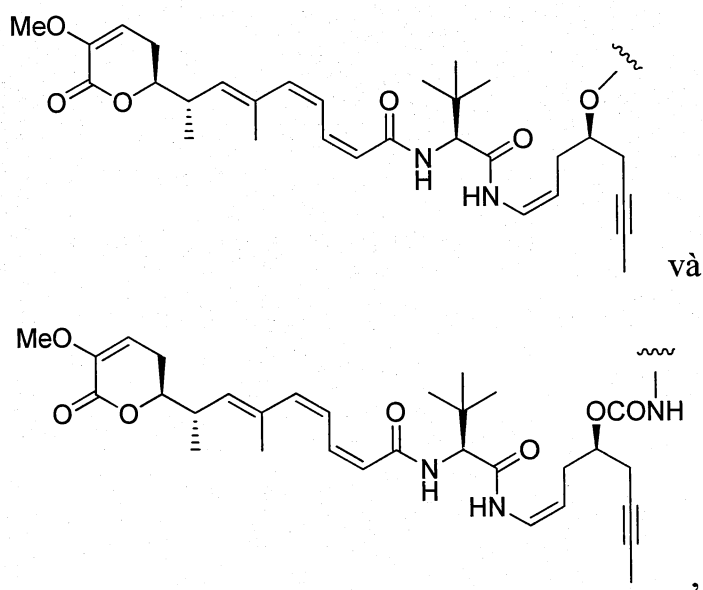
w bằng 0 hoặc 2, và khi w bằng 2 thì $(AA)_w$ có công thức (III):



trong đó R_{22} là isopropyl, R_{23} là $-(CH_2)_3NHCONH_2$, và các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải);

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ nhóm bao gồm $-CONH-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NH-$, $-COO-CH_2\text{-phenylen-NH-}$, trong đó nhóm phenylen này có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, $-CONH-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NH-COO-CH_2\text{-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế } R_x \text{ được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)-NH-}$, $-COCH_2NH-COCH_2-NH-$, $-CONH-(C_2-C_4 \text{ alkylen})S-$, $-CONH-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NHCO(C_1-C_3 \text{ alkylen})S-$, $-(C_2-C_4 \text{ alkylen})-NHCO(C_1-C_3 \text{ alkylen})S-$, $-(C_2-C_4 \text{ alkylen})S-$, $-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NH-$ và $-(C_2-C_4 \text{ alkylen})NH-COO-CH_2\text{-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế } R_x \text{ được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)-NH-}$;

D là gốc được chất có công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối được dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗ biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng được chọn từ các gốc có công thức:



trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc $(AA)_w$ nếu có, hoặc nhóm liên kết L;

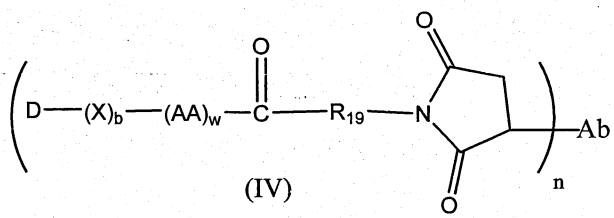
gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên được chọn từ Trastuzumab, Rituximab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phân có hoạt tính miễn dịch của chúng; và

n là tỷ lệ giữa nhóm $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]$ trong đó L là như được xác định trong các công thức (IV) hoặc công thức (V) với gốc chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 3 đến 5.

9. Thử tiếp hợp được chất theo điểm 4 hoặc 8, trong đó gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên được chọn từ Trastuzumab, Rituximab và kháng thể kháng CD4 hoặc phân hoạt tính miễn dịch của nó.

10. Thử tiếp hợp được chất theo điểm 4 hoặc 8, trong đó gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên là Trastuzumab hoặc phân hoạt tính miễn dịch của nó.

11. Thử tiếp hợp được chất theo điểm 1, trong đó thử tiếp hợp này có công thức (IV):

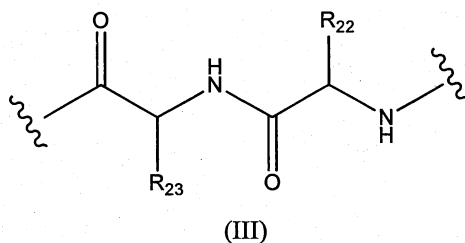


trong đó:

R_{19} là $-C_5$ alkylen-;

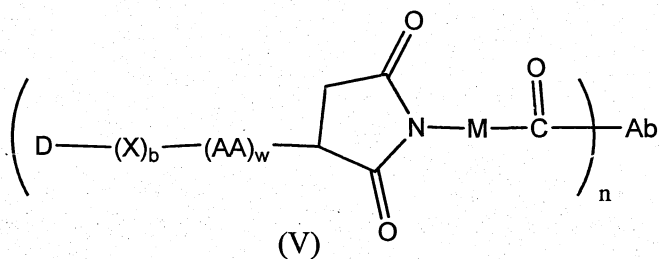
b bằng 1;

w bằng 0 hoặc 2, và khi w bằng 2 thì $(AA)_w$ có công thức (III):



trong đó R_{22} là isopropyl, R_{23} là $-(CH_2)_3NHCONH_2$, và các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải); và

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ $-CONH(CH_2)_3NHCOOCH_2$ -phenylen-NH- và $-CONH(CH_2)_3NH-$; hoặc nhóm có công thức (V),



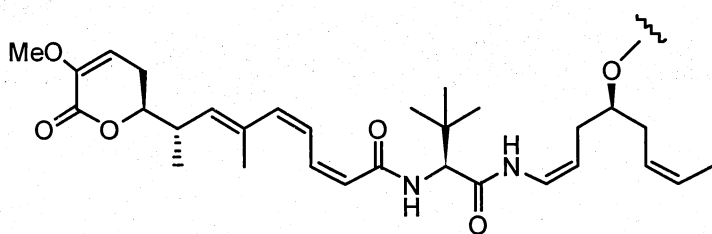
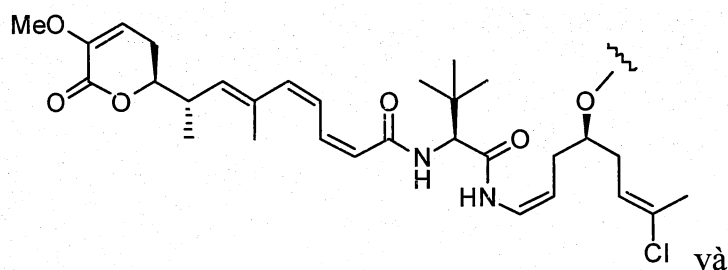
trong đó M là -metyl-xyclohexylen-;

b bằng 1;

w bằng 0; và

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ $-\text{CONH}(\text{CH}_2)_3-\text{S}-$ và $\text{CONH}(\text{CH}_2)_3\text{NHCO}-$
 $(\text{CH}_2)_2\text{S}-$;

D là gốc dược chất có công thức (Ia), hoặc muối dược dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn hợp hoặc chất đồng phân lập thể của nó được chọn từ các gốc có công thức:



trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(\text{X})_b$ nếu có, hoặc $(\text{AA})_w$ nếu có, hoặc nhóm liên kết L;

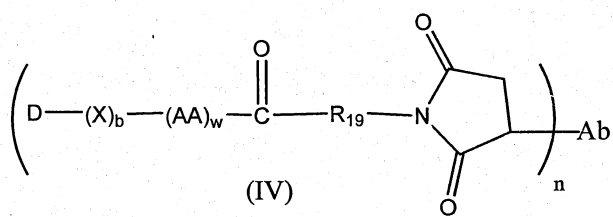
gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên được chọn từ Trastuzumab, Rituximab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phân có hoạt tính miễn dịch của chúng; và

n là tỷ lệ giữa nhóm $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]$ trong đó L là như được xác định trong các công thức (IV) hoặc công thức (V) với gốc chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 3 đến 5, và tốt hơn nếu bằng 4.

12. Thễ tiếp hợp được chất theo điểm 11, trong đó gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên được chọn từ Trastuzumab, Rituximab và kháng thể kháng CD4 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng.

13. Thễ tiếp hợp được chất theo điểm 11, trong đó gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên là Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó.

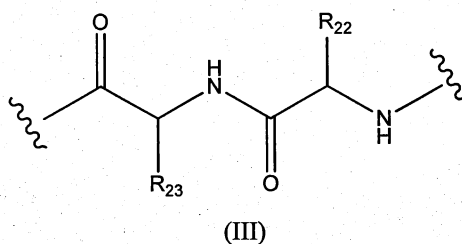
14. Thễ tiếp hợp được chất theo điểm 1, trong đó thễ tiếp hợp này có công thức (IV):



trong đó R_{19} là $-C_5$ alkylen-;

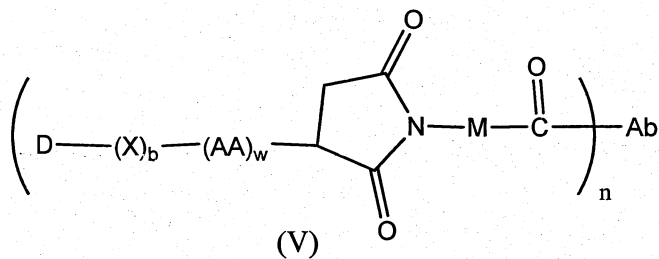
b bằng 1;

w bằng 0 hoặc 2, và khi w bằng 2 thì $(AA)_w$ có công thức (III):



trong đó R_{22} là isopropyl, R_{23} là $-(CH_2)_3NHCONH_2$, và các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc gốc được chất (đường lượn sóng sang trái) và với nhóm liên kết (đường lượn sóng sang phải); và

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ $-(CH_2)_3NHCOOCH_2$ -phenylen-NH-, và $-(CH_2)_3NH$ -; hoặc nhóm có công thức (V):



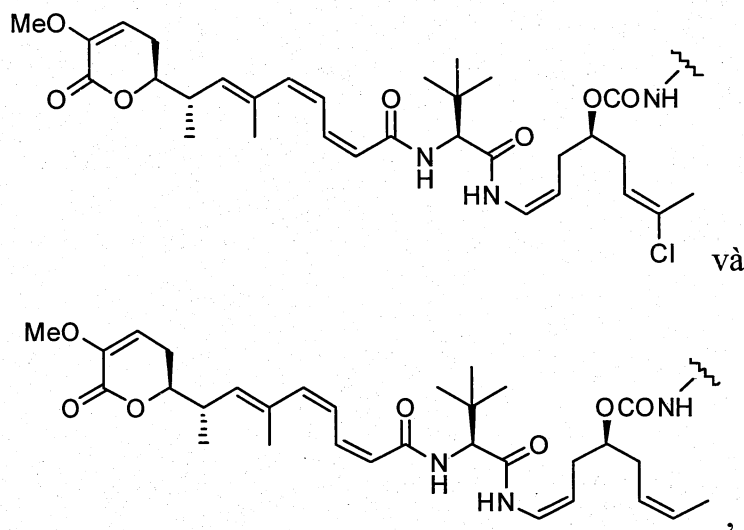
trong đó M là -metyl-xyclohexylen-;

b bằng 1;

w bằng 0; và

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ $-(CH_2)_3S-$ và $-(CH_2)_3NHCO(CH_2)_2S-$;

D là gốc dược chất có công thức (Ib), hoặc muối dược dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn hợp hoặc chất đồng phân lập thể của nó được chọn từ các gốc có công thức:



trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(X)_b$ nếu có, hoặc $(AA)_w$ nếu có, hoặc nhóm liên kết L;

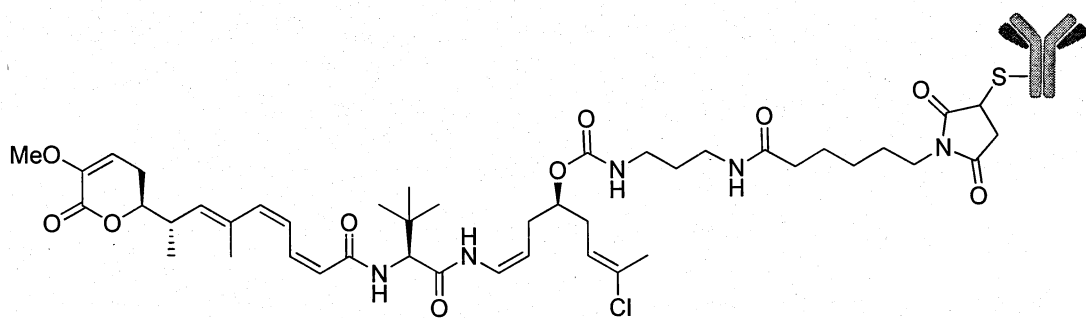
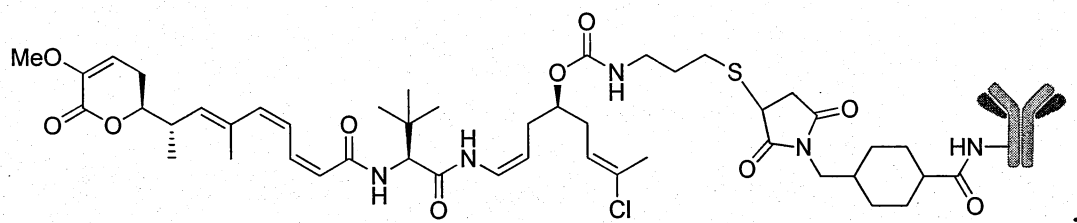
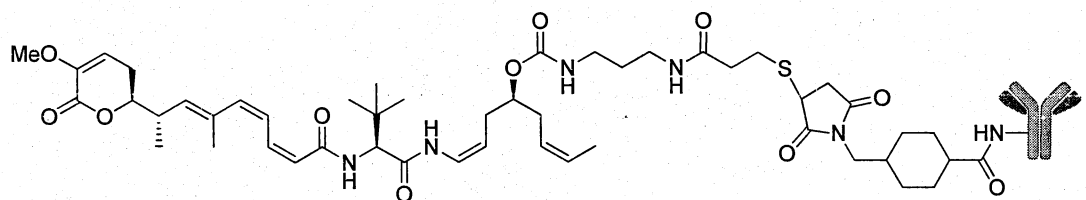
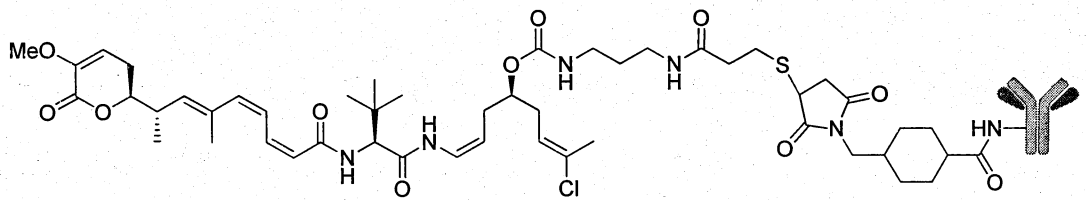
gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên được chọn từ Trastuzumab, Rituximab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng; và

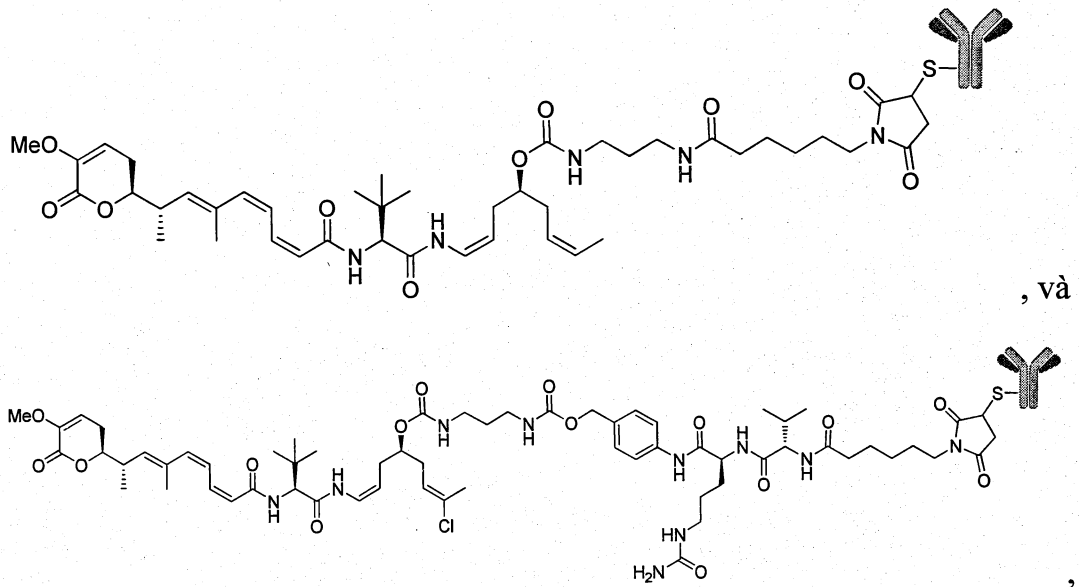
n là tỷ lệ giữa nhóm $[D-(X)_b-(AA)_w-(L)-]$ trong đó L là như được xác định trong (IV) hoặc (V) với gốc chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên và nằm trong khoảng từ 3 đến 5, và tốt hơn nếu bằng 4.

15. Thễ tiếp hợp được chất theo điểm 14, trong đó gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên được chọn từ Trastuzumab, Rituximab và kháng thể kháng CD4 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng.

16. Thễ tiếp hợp được chất theo điểm 14, trong đó gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên là Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó.

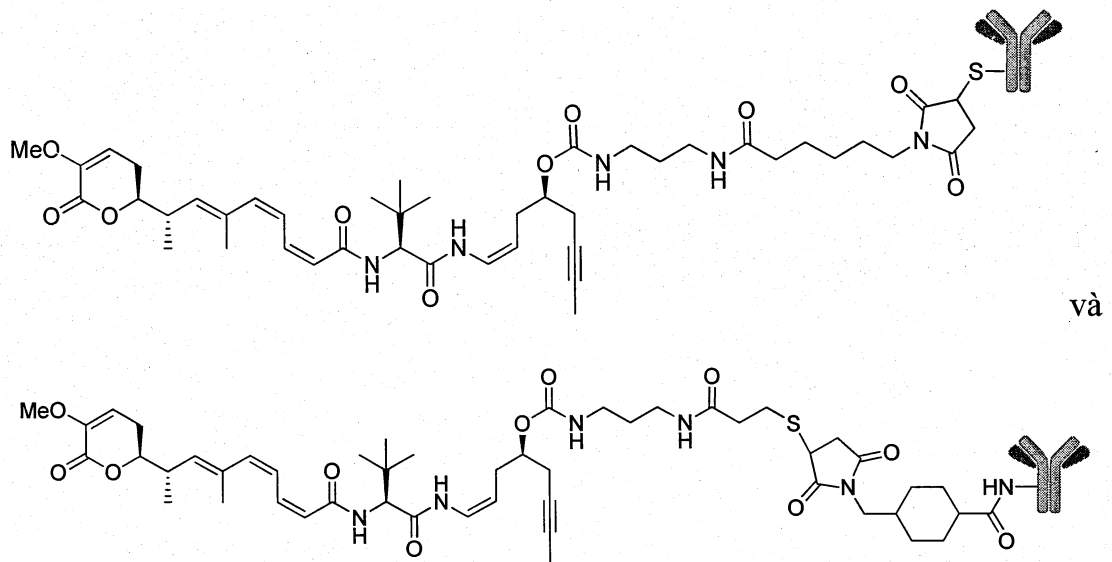
17. Thễ tiếp hợp được chất-kháng thể theo điểm 11, trong đó thễ tiếp hợp này được chọn từ nhóm bao gồm:





trong đó mỗi và được chọn từ Trastuzumab, Rituximab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng.

18. Thể tiếp hợp được chất theo điểm 8, trong đó thể tiếp hợp này được chọn từ nhóm bao gồm:



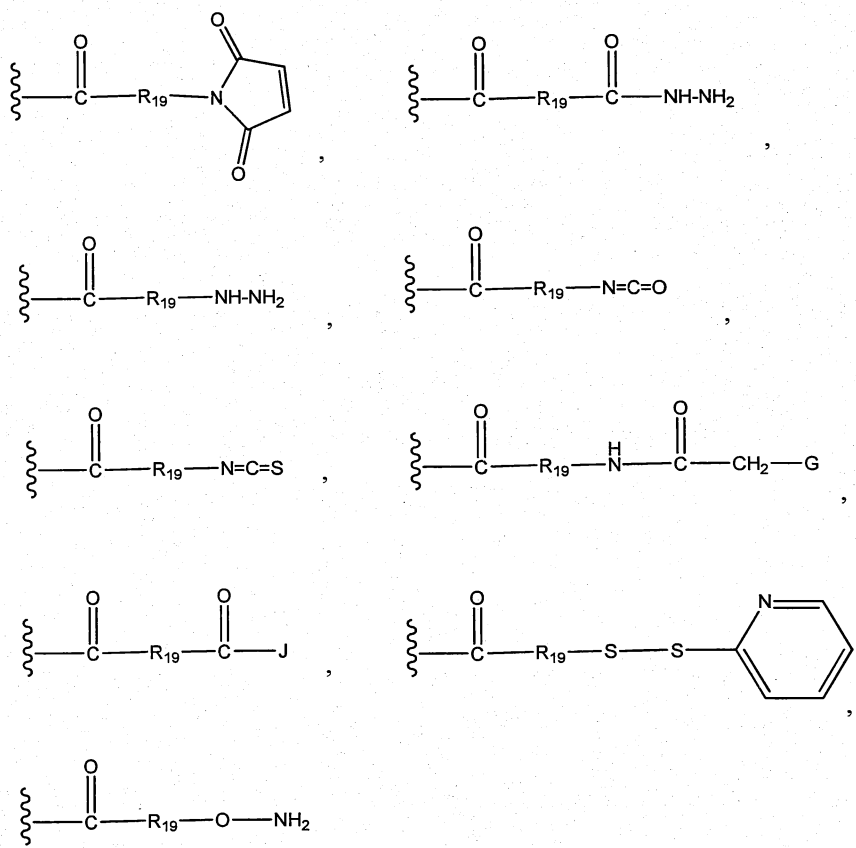
trong đó mỗi và được chọn từ Trastuzumab, Rituximab, kháng thể kháng CD4, kháng thể kháng CD5 và kháng thể kháng CD13 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng.

19. Thể tiếp hợp được chất theo điểm 17 hoặc 18, trong đó gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên được chọn từ Trastuzumab, Rituximab và kháng thể kháng CD4 hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của chúng.

20. Thể tiếp hợp được chất theo điểm 17 hoặc 18, trong đó gốc Ab chứa ít nhất một vị trí gắn kết kháng nguyên là Trastuzumab hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của nó.

21. Hợp chất có công thức $D-X-(AA)_w-L_1$ hoặc công thức $D-X-(AA)_w-H$, trong đó:

L_1 là nhóm liên kết được chọn từ nhóm các liên kết có công thức:



trong đó mỗi các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(AA)_w$ nếu có, hoặc với X;

G được chọn từ halogen, -O-mesyl và -O-tosyl;

J được chọn từ halogen, hydroxy, -N-succinimidoxy, -O-(4-nitrophenyl), -O-pentafluorophenyl, -O-tetrafluorophenyl và -O-C(O)-OR₂₀;

R₁₉ được chọn từ -C₁-C₁₂ alkylen-, -C₃-C₈ carboxyclo-, -O-(C₁-C₁₂ alkylen), -C₆-C₁₈ arylen trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -C₁-C₁₂ alkylen-C₆-C₁₈ arylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x, -C₆-C₁₈ arylen-C₁-

C_{12} alkylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_1-C_{12}$ alkylen- $(C_3-C_8$ carboxyclo)-, $-(C_3-C_8$ carboxyclo)- C_1-C_{12} alkylen-, $-C_5-C_{14}$ heteroxyclo-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm no hoặc không no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_1-C_{12}$ alkylen- $(C_5-C_{14}$ heteroxyclo)- trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm no hoặc không no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-(C_5-C_{14}$ heteroxyclo)- C_1-C_{12} alkylen-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm no hoặc không no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-(OCH_2CH_2)_r$ - và $-CH_2-(OCH_2CH_2)_r$ -, trong đó mỗi phần tử thế trong số các phần tử thế alkylen nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào gốc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

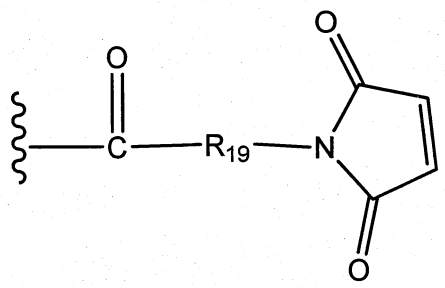
R_{20} là C_1-C_{12} alkyl hoặc nhóm aryl có từ 6 đến 18 nguyên tử cacbon trên một hoặc nhiều vòng thơm, nhóm aryl này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

r là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 10; và

mỗi D , X , AA và w là như được xác định trong điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 20.

22. Hợp chất có công thức $D-X-(AA)_w-L_1$ hoặc công thức $D-X-(AA)_w-H$ theo điểm 21, trong đó:

L_1 là nhóm liên kết có công thức:



trong đó:

đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(AA)_w$ nếu có, hoặc với X;

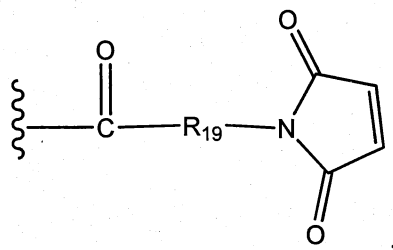
R_{19} được chọn từ $-C_1-C_{12}$ alkylen-, $-O-(C_1-C_{12}$ alkylen), $-C_6-C_{12}$ arylen trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_1-C_{12}$ alkylen- $-C_6-C_{12}$ arylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_6-C_{12}$ arylen- $-C_1-C_{12}$ alkylen-, trong đó nhóm arylen này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_5-C_{12}$ heteroxyclo-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm no hoặc không no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nito hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_1-C_{12}$ alkylen- $-(C_5-C_{12}$ heteroxyclo)-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm no hoặc không no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nito hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-(C_5-C_{12}$ heteroxyclo)- $-C_1-C_{12}$ alkylen-, trong đó nhóm heteroxyclo này có thể là nhóm no hoặc không no có một hoặc nhiều vòng và có ít nhất một nguyên tử oxy, nito hoặc lưu huỳnh trên các vòng này, nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-(OCH_2CH_2)_r$ - và $-CH_2-(OCH_2CH_2)_r$ -, trong đó mỗi phần tử thế trong số các phần tử thế alkylen nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào gốc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

r là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 6; và

mỗi D, X, AA và w là như được xác định trong điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 20.

23. Hợp chất có công thức $D-X-(AA)_w-L_1$ hoặc công thức $D-X-(AA)_w-H$ theo điểm 21, trong đó:

L_1 là nhóm liên kết có công thức:

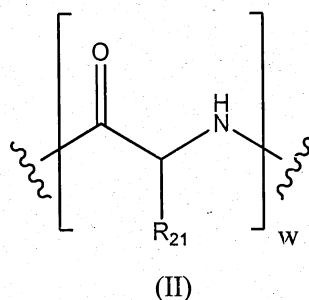


trong đó:

đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(AA)_w$ nếu có, hoặc với X;

R_{19} được chọn từ $-C_1-C_8$ alkyl-, $-O-(C_1-C_8$ alkyl-), $-C_1-C_8$ alkyl- C_6-C_{12} aryl-, trong đó nhóm aryl này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , $-C_6-C_{12}$ aryl- C_1-C_8 alkyl-, trong đó nhóm aryl này nằm trên một hoặc nhiều vòng có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x , trong đó mỗi phần tử thế trong số các phần tử thế alkyl nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào gốc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

$(AA)_w$ có công thức (II):



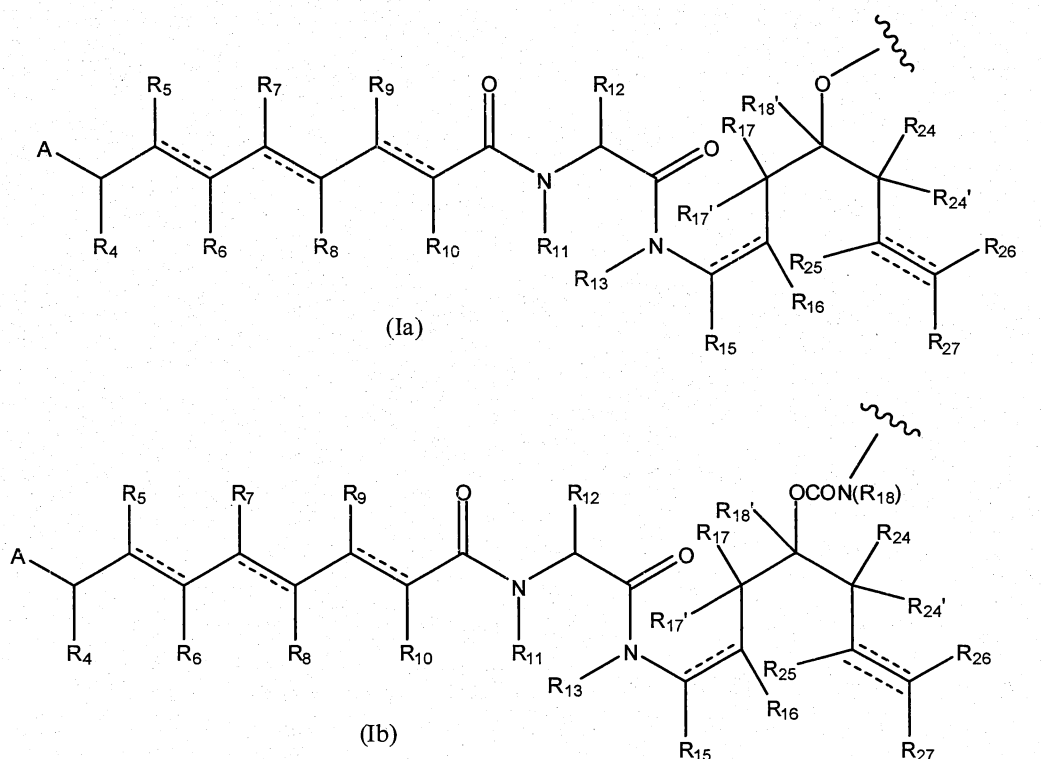
trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với X (đường lượn sóng sang trái) và với L_1 hoặc với nguyên tử hydro (đường lượn sóng sang phải);

trong đó R_{21} được chọn, mỗi khi có mặt, từ nhóm bao gồm hydro, methyl, isopropyl, *sec*-butyl, benzyl, indolylmethyl, $-(CH_2)_3NHCONH_2$, $-(CH_2)_4NH_2$, $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ và $-(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$, và w là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 6;

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ nhóm bao gồm $-CONH-(C_2-C_4$ alkyl-)NH-, $-COO-CH_2$ -phenyl-NH, trong đó nhóm phenyl này có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xiano, $-CONH-(C_2-C_4$ alkyl-)NH- $COO-CH_2$ -(phenyl có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xiano)-NH-, $-COCH_2NH-COCH_2-NH$ -, $-CONH-(C_2-C_4$ alkyl-)S-, $-CONH-(C_2-C_4$ alkyl-)NHCO(C_1-C_3 alkyl-)S-, $-(C_2-C_4$

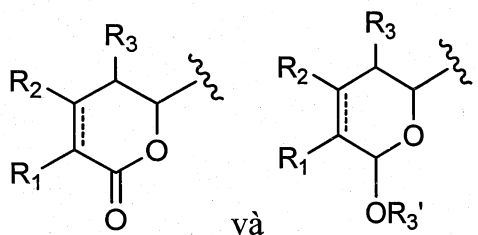
alkylen)NHCO(C₁-C₃ alkylen)S-, -(C₂-C₄ alkylen)S-, -(C₂-C₄ alkylen)NH- và -(C₂-C₄ alkylen)NH-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)-NH-; và

D là gốc dược chất có công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối dược dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng:



trong đó các đường lượn sóng của gốc dược chất có công thức (Ia) và công thức (Ib) thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với X;

A được chọn từ các gốc có công thức:



trong đó các đường lượn sóng của gốc A thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với phần còn lại của gốc dược chất;

R_1 được chọn từ hydro, OR_a và $OCOR_a$, trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_2 và R_3 độc lập được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_3 được chọn từ hydro, COR_a , và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó R_a là C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} và R_{12} độc lập được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế và không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_{11} và R_{13} độc lập được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

mỗi R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, R_{18} , R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} và R_{26} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm:

hydro và nhóm C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm hydroxyl, nhóm oxo, nguyên tử halogen, $OCOR_y$, $OCOOR_y$, COR_y , $COOR_y$, $CONR_yR_z$, $CONR_yR_z$, NR_yR_z , NR_yCOR_z , trong đó mỗi R_y và R_z được chọn từ nguyên tử hydro và nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon;

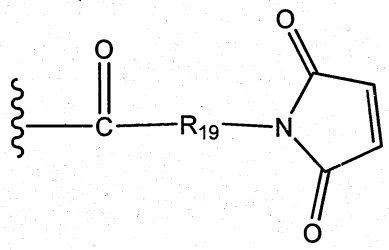
R_{18} được chọn từ hydro, nhóm C_1-C_6 alkyl có thể tùy ý được thế bằng ít nhất một nhóm R_x , và nhóm phenyl tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

R_{27} được chọn từ hydro, halogen và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, trong đó các phần tử thế tùy ý này là một hoặc nhiều phần tử thế R_x ;

và mỗi đường chấm chấm thể hiện liên kết bổ sung tùy ý, nhưng khi liên kết ba có mặt giữa nguyên tử C liên kết với R_{25} và nguyên tử C liên kết với R_{26} và R_{27} , thì R_{25} và R_{26} hoặc R_{27} là không có mặt.

24. Hợp chất có công thức $D-X-(AA)_w-L_1$ hoặc công thức $D-X-(AA)_w-H$ theo điểm 21, trong đó:

L_1 là nhóm có công thức:

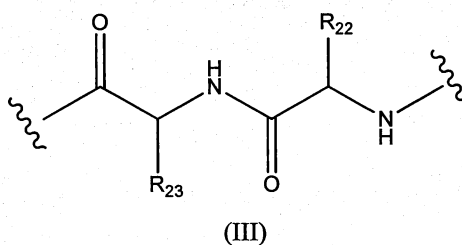


trong đó:

đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(AA)_w$ nếu có, hoặc với X;

R_{19} được chọn từ $-C_1-C_6$ alkylen-, phenylen- $-C_1-C_6$ alkylen-, trong đó nhóm phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, trong đó mỗi phần tử thế trong số các phần tử thế alkylen nêu trên ở dạng riêng rẽ hoặc được gắn vào gốc khác trên mạch cacbon có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm aryl có từ 6 đến 12 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, và tốt hơn nếu R_{19} là nhóm C_1-C_6 alkylen;

w bằng 0 hoặc 2, và khi w bằng 2 thì $(AA)_w$ có công thức (III):



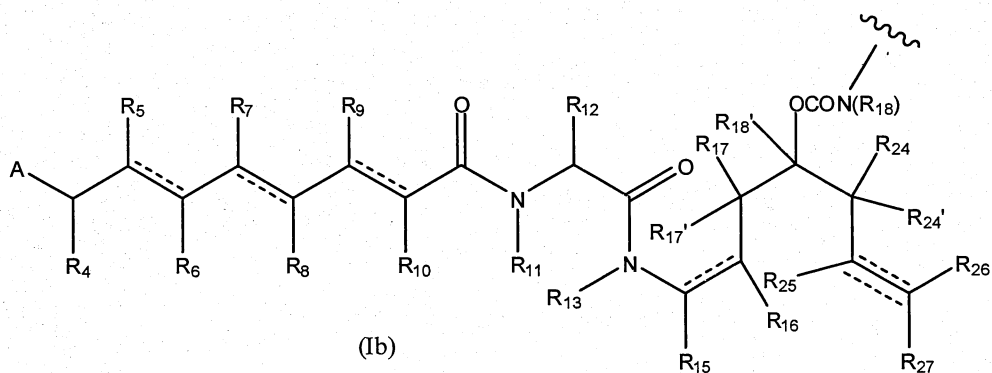
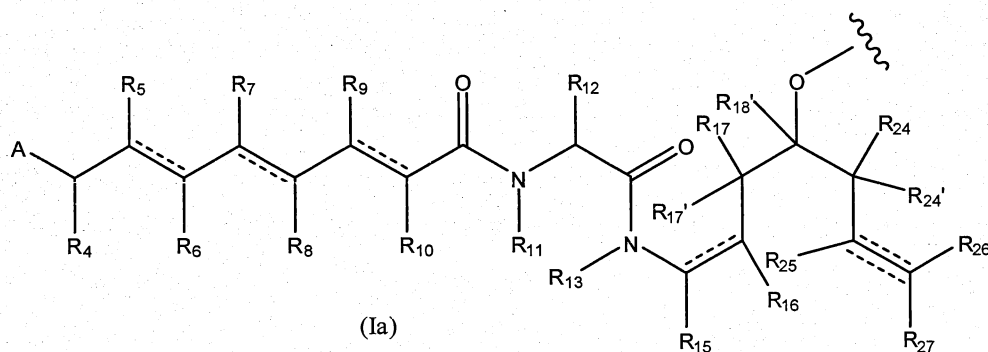
trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với X (đường lượn sóng sang trái) và với L_1 hoặc với nguyên tử hydro (đường lượn sóng sang phải);

R_{22} được chọn từ metyl, benzyl, isopropyl, *sec*-butyl và indolylmetyl;

R_{23} được chọn từ metyl, $-(CH_2)_4NH_2$, $-(CH_2)_3NHCONH_2$ và $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$;

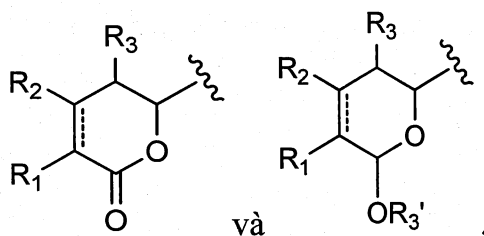
X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ $-\text{CONH}-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NH}-$, $-\text{CONH}(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NHCOO}-\text{CH}_2-(\text{phenylen có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế } R_x \text{ được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano})-$, $-\text{CONH}-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{S}-$, $-\text{CONH}-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NHCO}-(\text{C}_1-\text{C}_3 \text{ alkylen})\text{S}-$, $-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NHCO}(\text{C}_1-\text{C}_3 \text{ alkylen})\text{S}-$, $-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{S}-$, $-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NH}-$ và $-(\text{C}_2-\text{C}_4 \text{ alkylen})\text{NH}-\text{COO}-\text{CH}_2-(\text{phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế } R_x \text{ được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano})-\text{NH}-$; và

D là gốc dược chất có công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối dược dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng:



trong đó các đường lượn sóng trong các công thức (Ia) và công thức (Ib) thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với X;

A được chọn từ các gốc có công thức:



trong đó các đường lượn sóng của gốc A thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với phần còn lại của gốc được chất;

R_1 là hydro hoặc metoxy;

mỗi R_2 và R_3 là hydro;

$R_{3'}$ là hydro;

mỗi R_5 , R_7 , R_8 , R_9 và R_{10} là hydro;

mỗi R_4 và R_6 là methyl;

R_{12} là isopropyl, tert-butyl hoặc benzyl;

mỗi R_{11} và R_{13} là hydro;

mỗi R_{15} , R_{16} , R_{17} , $R_{17'}$, $R_{18'}$, R_{24} , $R_{24'}$, R_{25} và R_{26} độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro và nhóm C_1 - C_6 alkyl, tốt hơn nếu hydro và methyl;

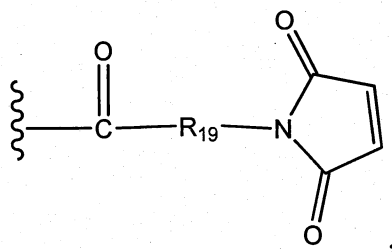
R_{18} được chọn từ hydro và phenyl, và tốt hơn nếu hydro;

R_{27} là hydro hoặc halogen;

và mỗi đường chấm chấm thể hiện liên kết bổ sung tùy ý, nhưng khi liên kết ba có mặt giữa nguyên tử C liên kết với R_{25} và nguyên tử C liên kết với R_{26} và R_{27} , thì R_{25} và R_{26} hoặc R_{27} là không có mặt.

25. Hợp chất có công thức $D-X-(AA)_w-L_1$ hoặc công thức $D-X-(AA)_w-H$ theo điểm 21, trong đó:

L_1 là nhóm liên kết có công thức:

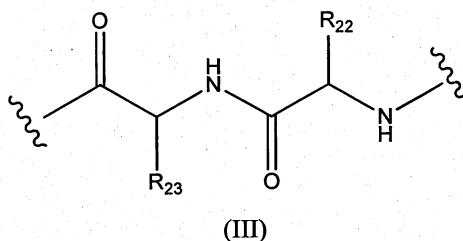


trong đó:

đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(AA)_w$ nếu có, hoặc với X;

R_{19} là $-C_3$ - C_6 alkylen-;

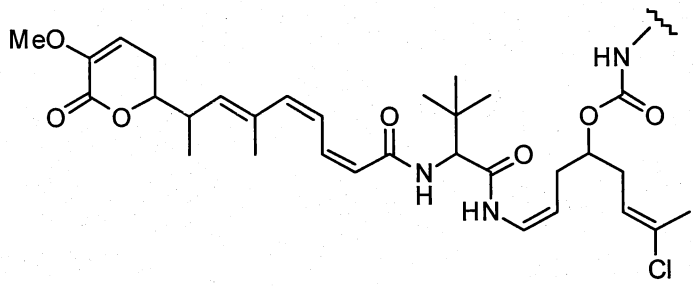
w bằng 0 hoặc 2, và khi w bằng 2 thì (AA)_w có công thức (III):

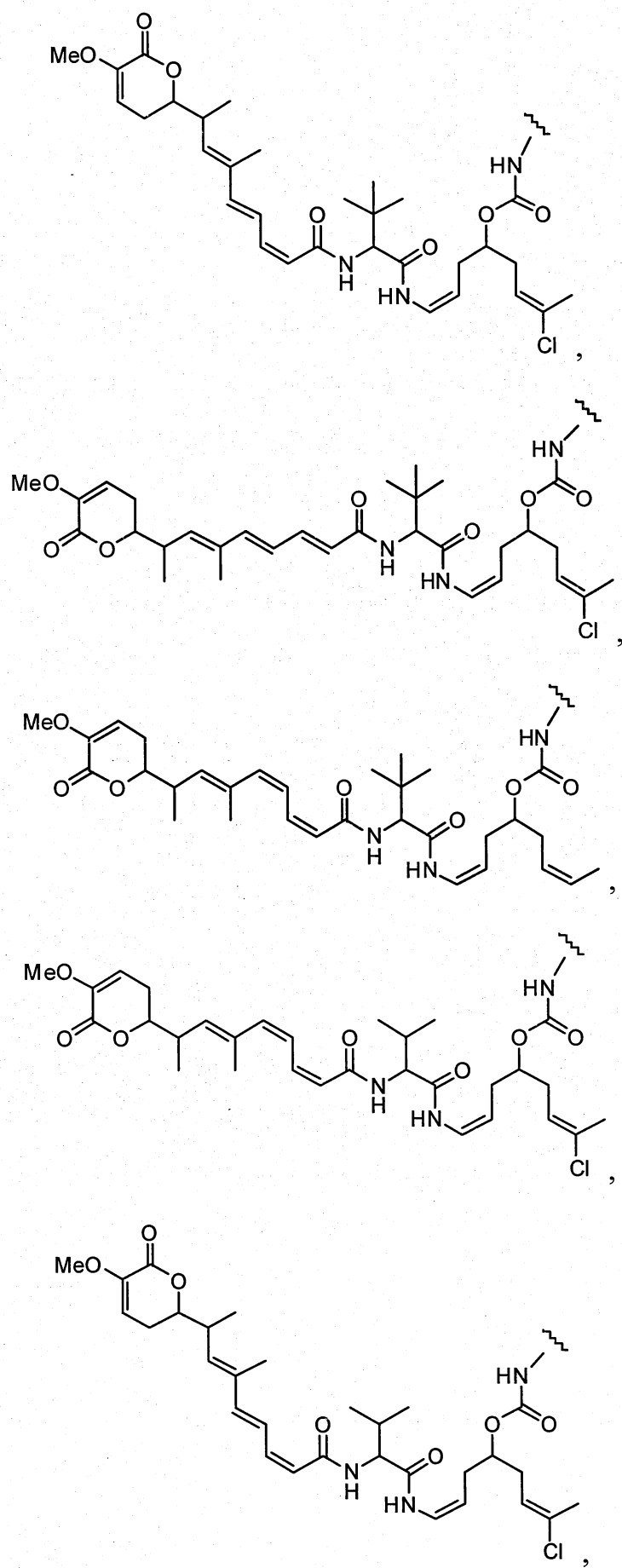


R₂₂ là isopropyl, R₂₃ là -(CH₂)₃NHCONH₂, trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với X (đường lượn sóng sang trái) và với L₁ hoặc với nguyên tử hydro (đường lượn sóng sang phải);

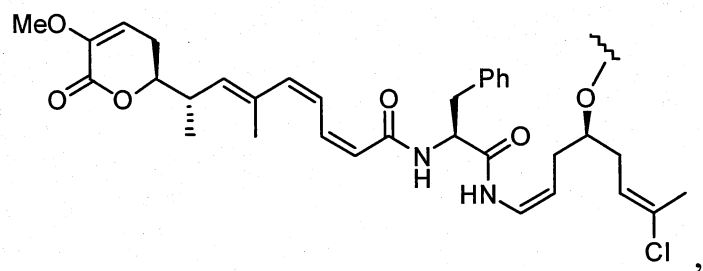
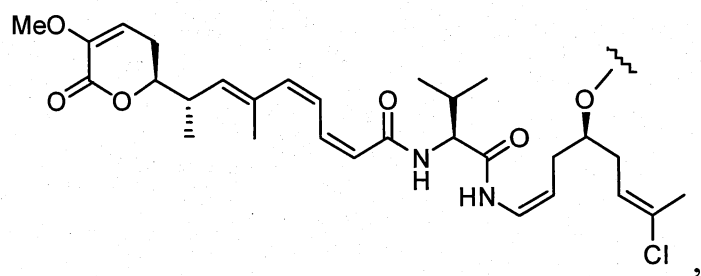
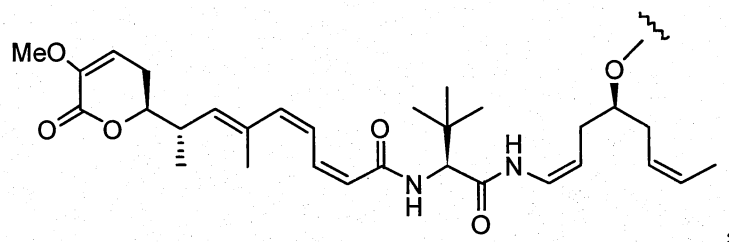
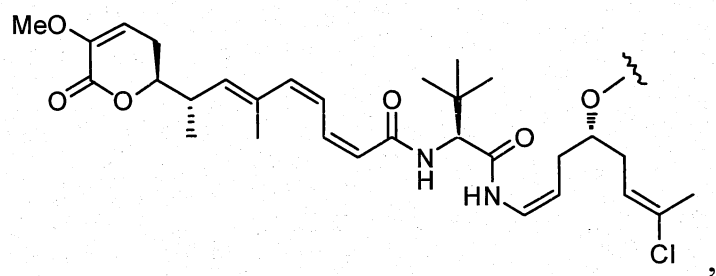
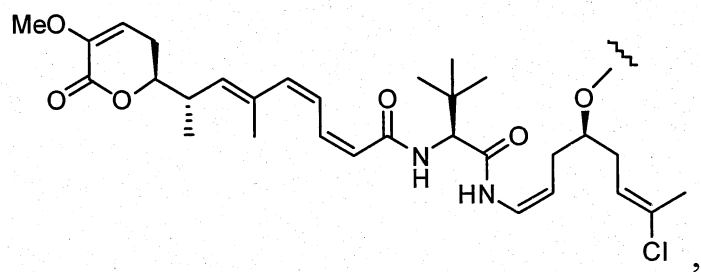
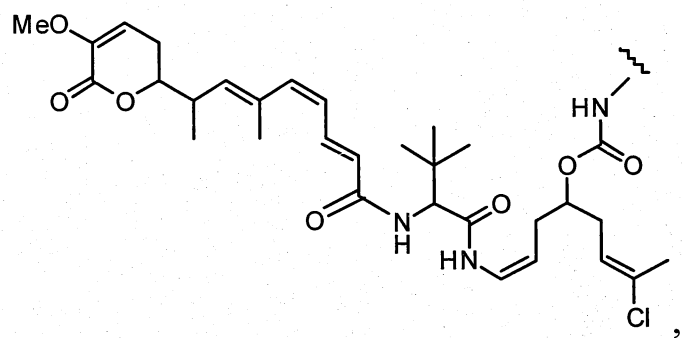
X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ nhóm bao gồm -CONH-(C₂-C₄ alkylen)NH-, -COO-CH₂-phenylen-NH-, trong đó nhóm phenylen này có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano, -CONH-(C₂-C₄ alkylen)NH-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)-NH-, -CONH-(C₂-C₄ alkylen)S-, -CONH-(C₂-C₄ alkylen)NHCO(C₁-C₃ alkylen)S-, -(C₂-C₄ alkylen)NHCO(C₁-C₃ alkylen)S-, -(C₂-C₄ alkylen)S-, -(C₂-C₄ alkylen)NH- và -(C₂-C₄ alkylen)NH-COO-CH₂-(phenylen có thể tùy ý được thế bằng một đến bốn phần tử thế R_x được chọn từ nhóm bao gồm nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nhóm alkoxy có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, nguyên tử halogen, nhóm nitro và nhóm xyano)-NH-; và

D là gốc dược chất có công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), hoặc muối dược dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn biến hoặc chất đồng phân lập thể của chúng được chọn từ nhóm có các công thức sau:

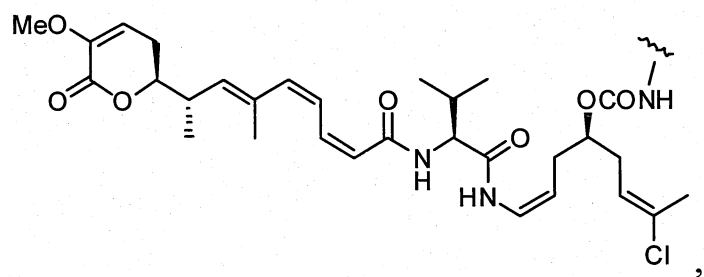
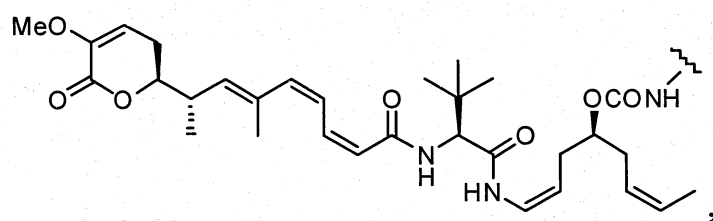
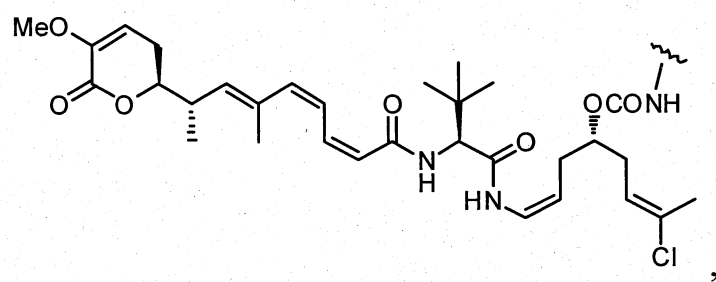
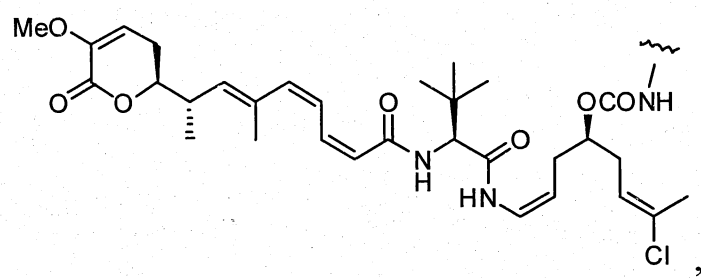
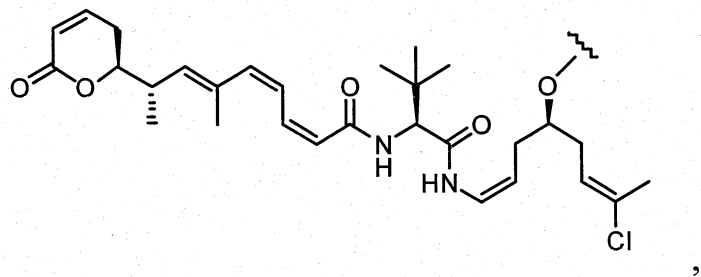
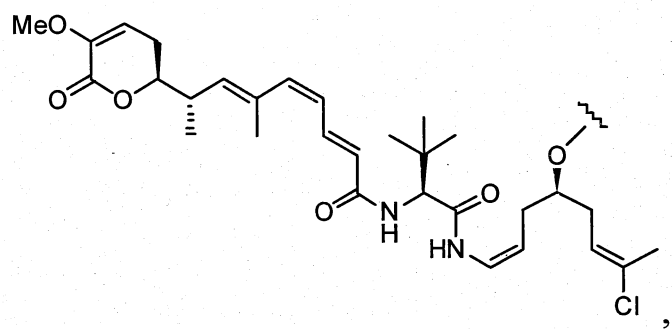


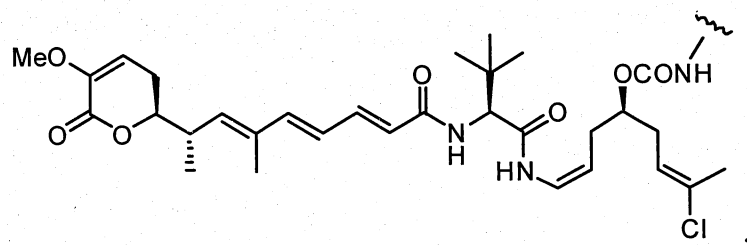
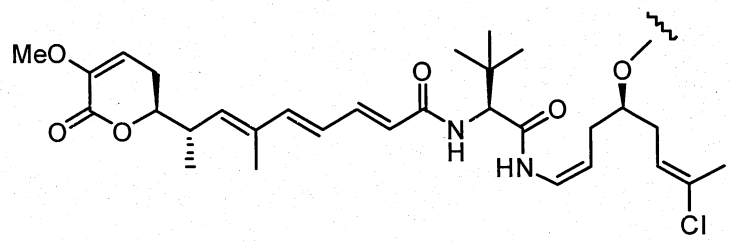
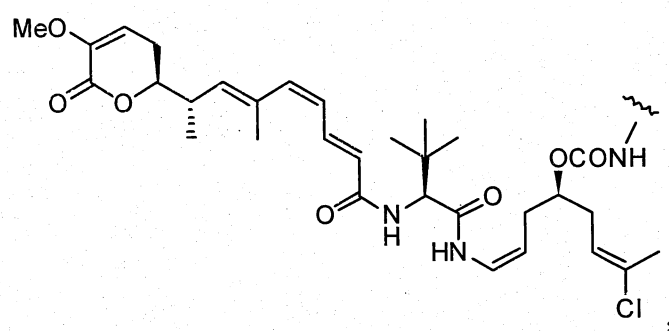
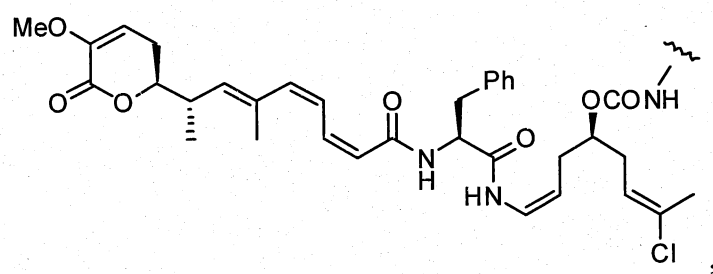
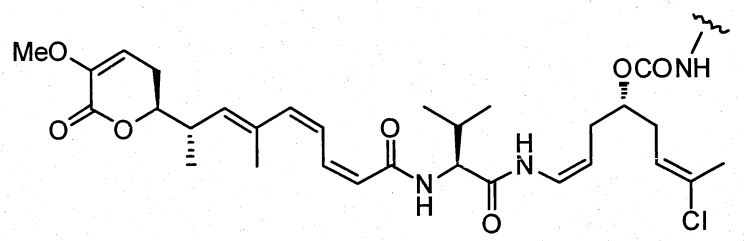


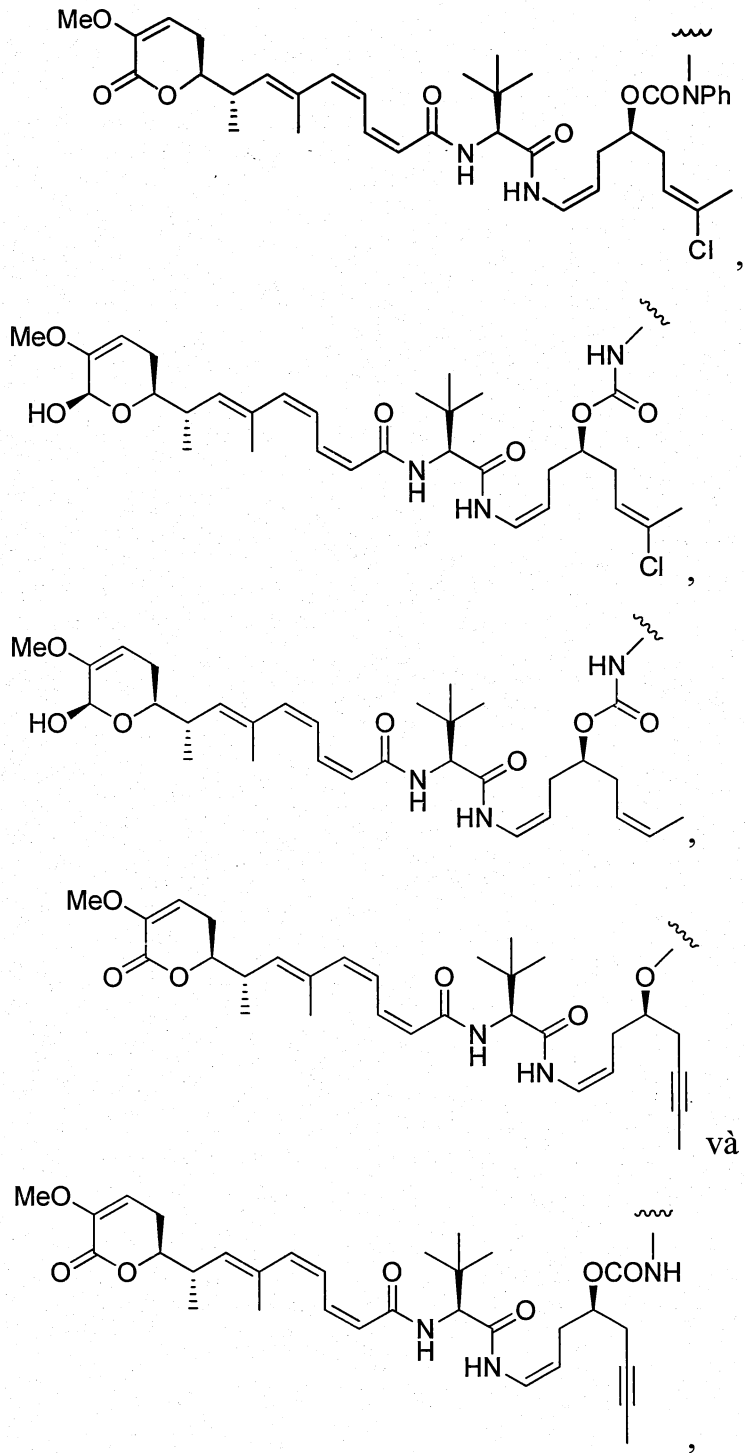
26474



26474



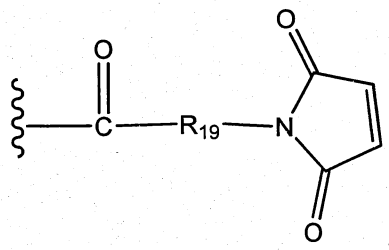




trong đó đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với X.

26. Hợp chất có công thức D-X-(AA)_w-L₁ hoặc công thức D-X-(AA)_w-H theo điểm 21, trong đó:

L_1 là nhóm có công thức:

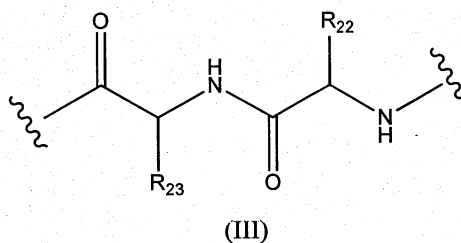


trong đó:

đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với $(AA)_w$ nếu có, hoặc với X;

R_{19} là $-C_5$ alkylen-;

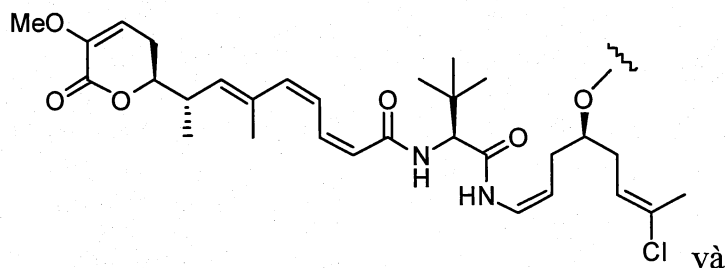
w bằng 0 hoặc 2, và khi w bằng 2 thì $(AA)_w$ có công thức (III):

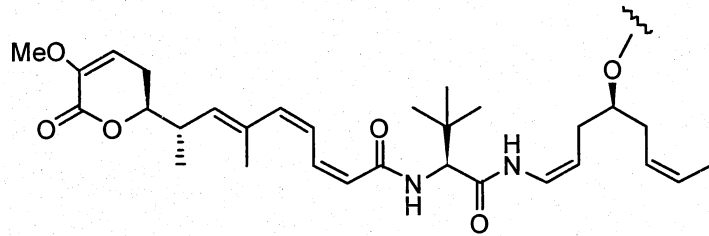


trong đó R_{22} là isopropyl, R_{23} là $-(CH_2)_3NHCONH_2$, trong đó các đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với X (đường lượn sóng sang trái) và với L_1 hoặc với nguyên tử hydro (đường lượn sóng sang phải);

X là nhóm kéo dài mạch được chọn từ $-CONH(CH_2)_3NHCOOCH_2$ -phenylen- $NH-$, $-CONH(CH_2)_3NH-$, $-CONH(CH_2)_3S-$ và $-CONH(CH_2)_3NHCO(CH_2)_2S-$; và

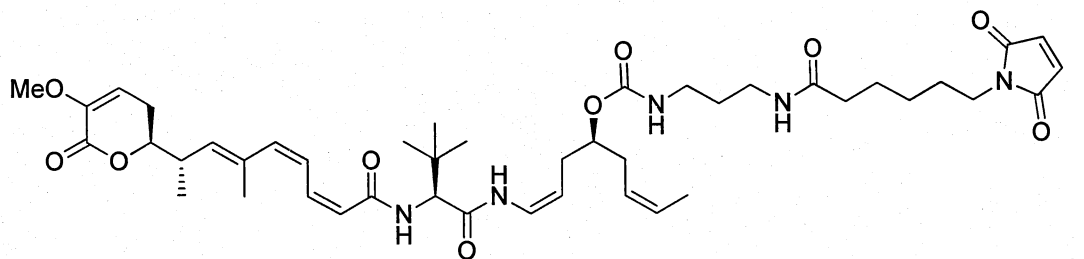
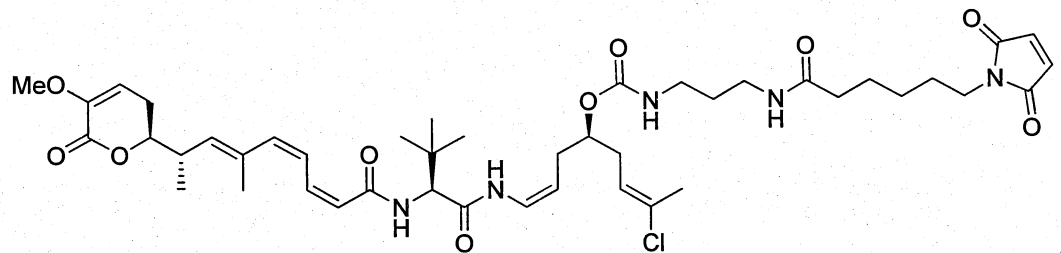
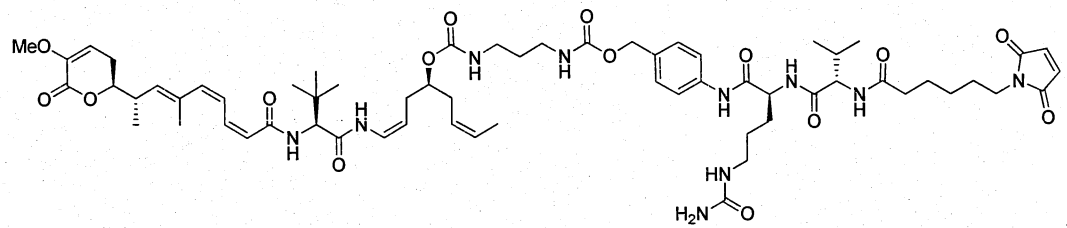
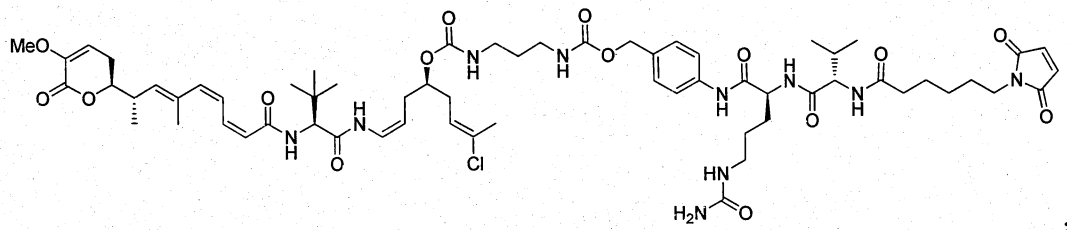
D là gốc dược chất có công thức (Ia), hoặc muối dược dụng, este, solvat, chất đồng phân hỗn hợp hoặc chất đồng phân lập thể của chúng được chọn từ các gốc có công thức:



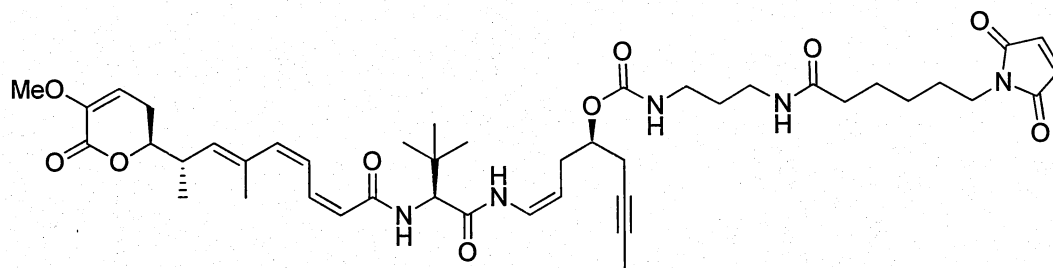


trong đó đường lượn sóng thể hiện điểm liên kết cộng hóa trị với X.

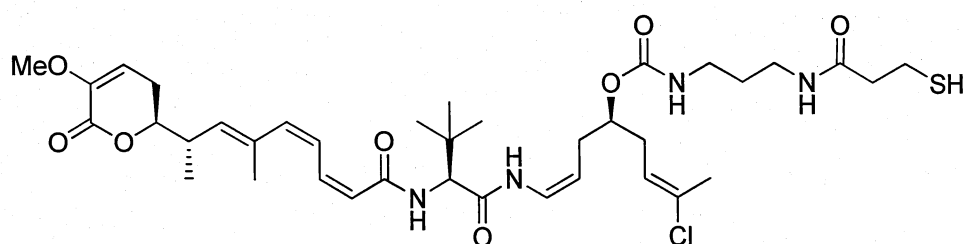
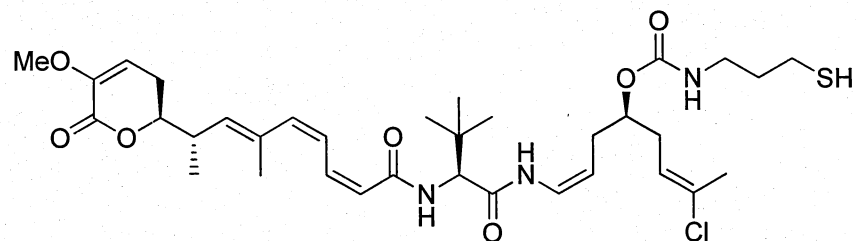
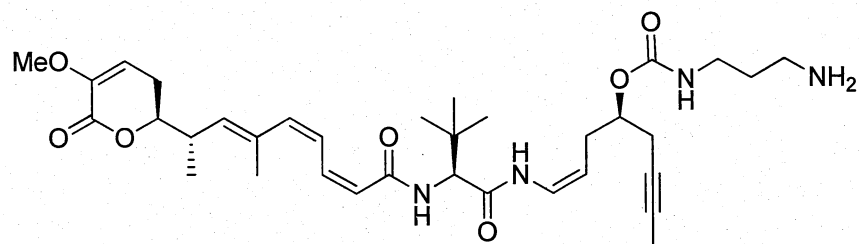
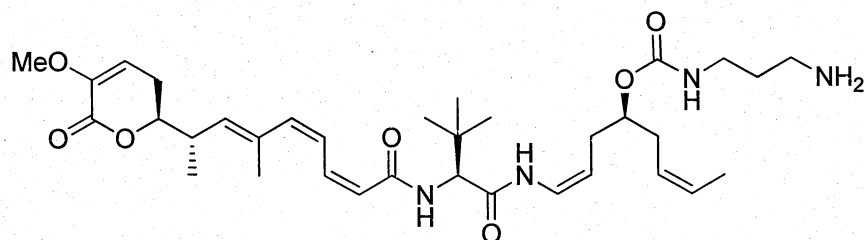
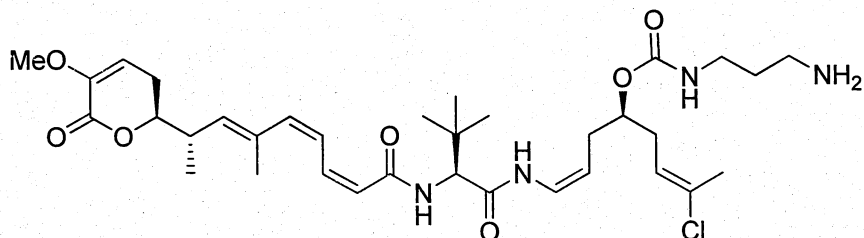
27. Hợp chất có công thức D-X-(AA)_w-L₁ theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 21 đến 26, trong đó hợp chất này được chọn từ các hợp chất có công thức:

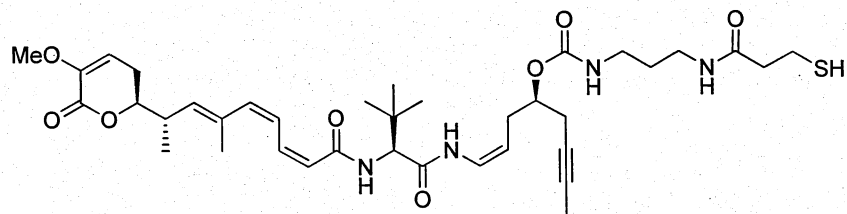
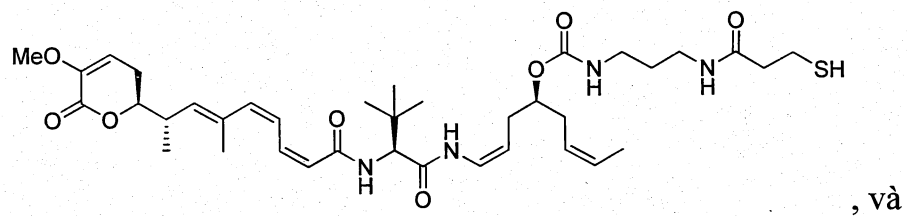


, và



28. Hợp chất có công thức D-X-(AA)_w-H theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 21 đến 26, trong đó hợp chất này được chọn từ các hợp chất có công thức:





29. Dược phẩm chứa thể tiếp hợp được chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 20 và chất mang được dùng.

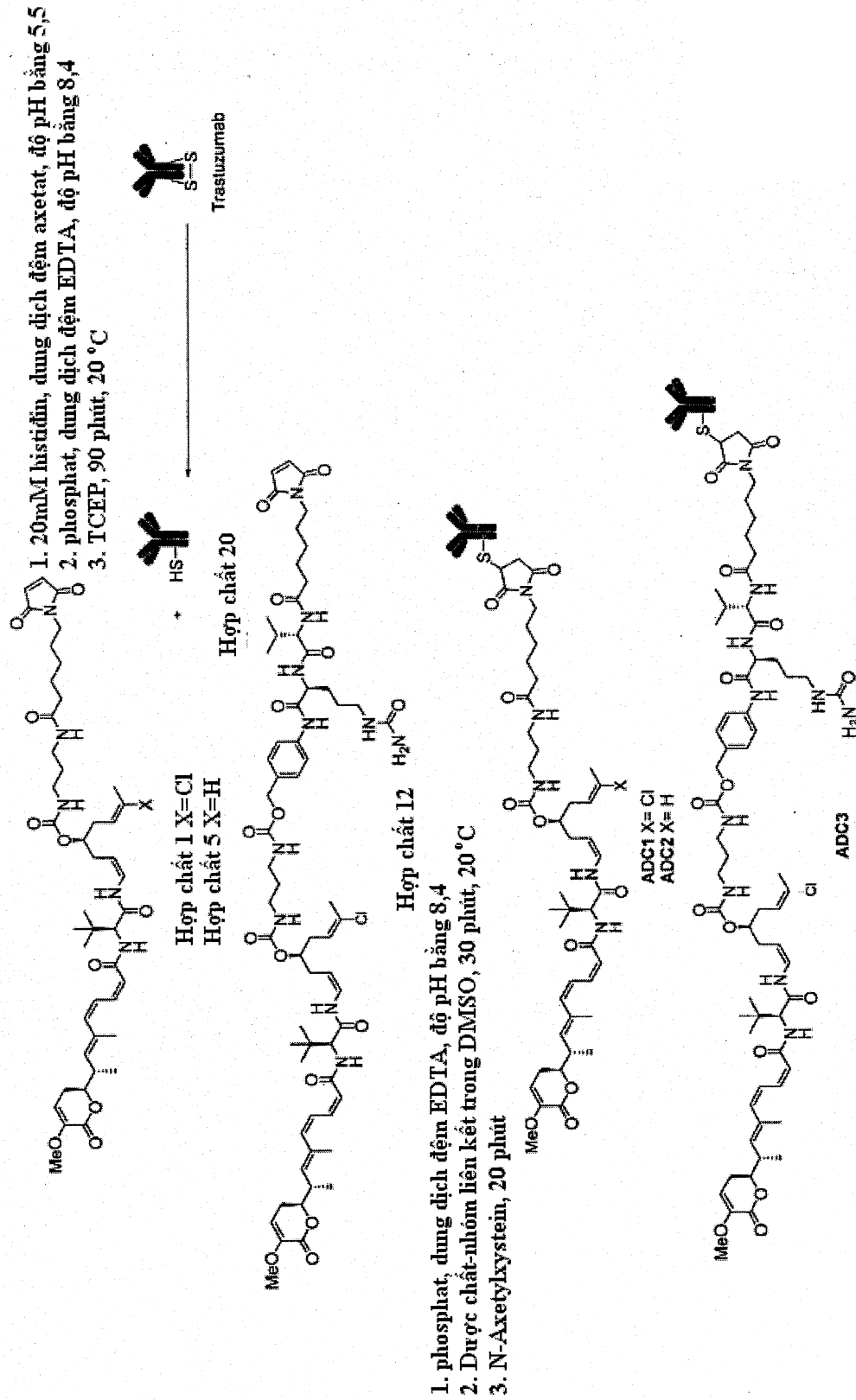


Fig.1

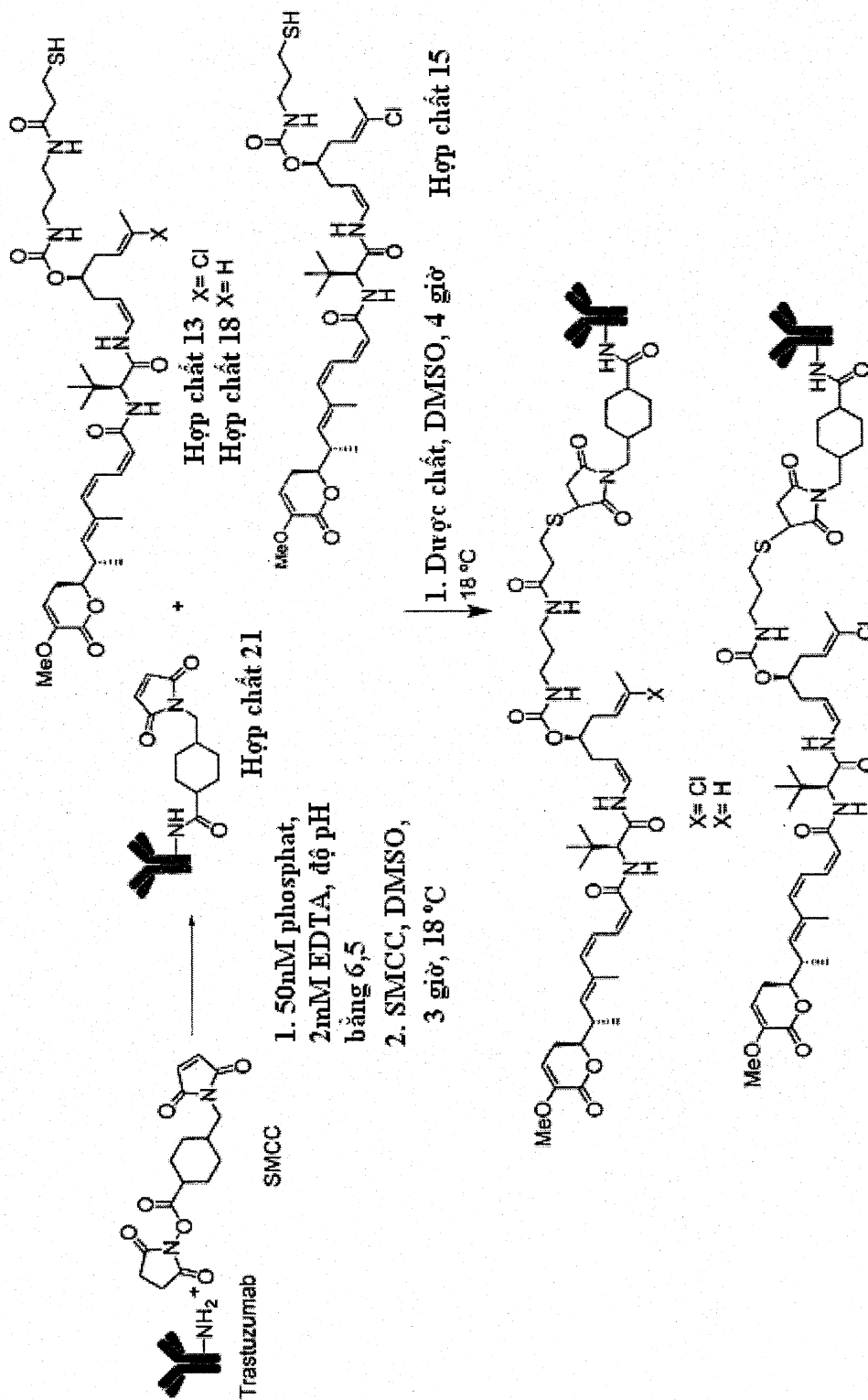


Fig.2

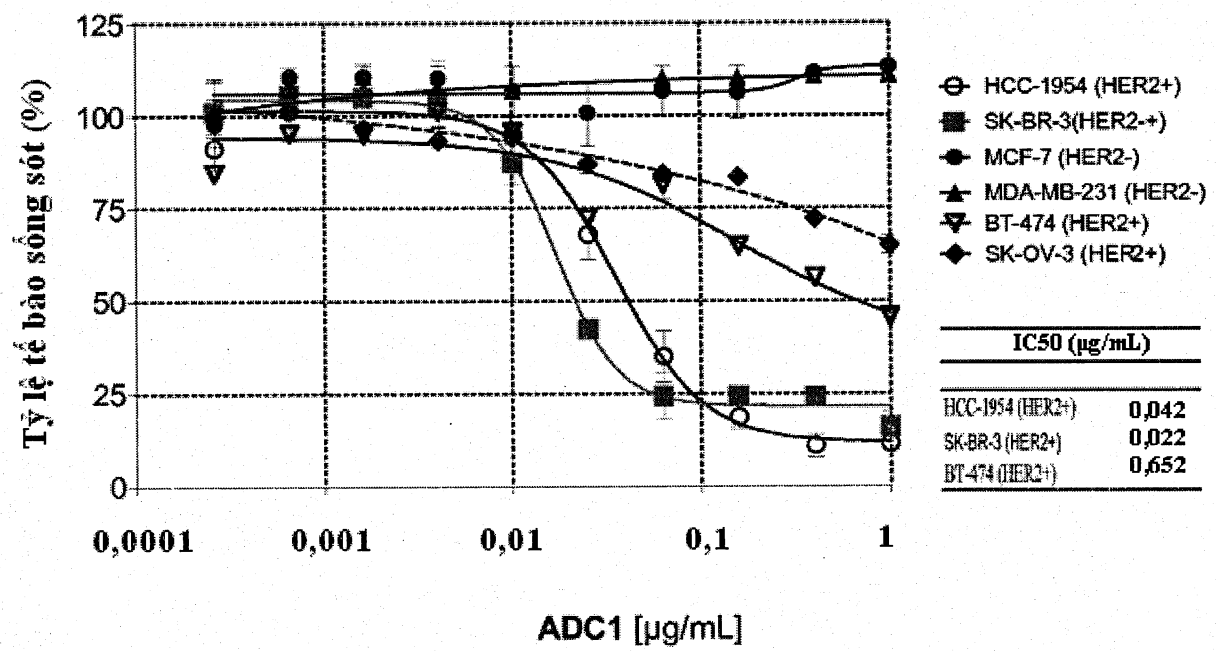
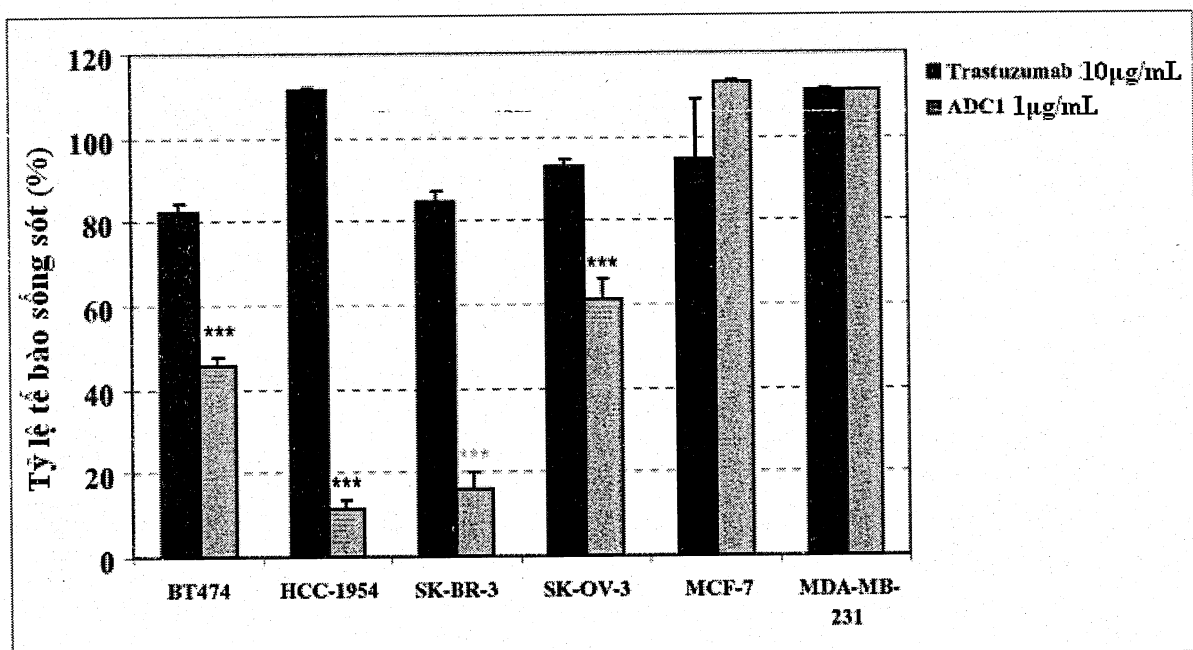
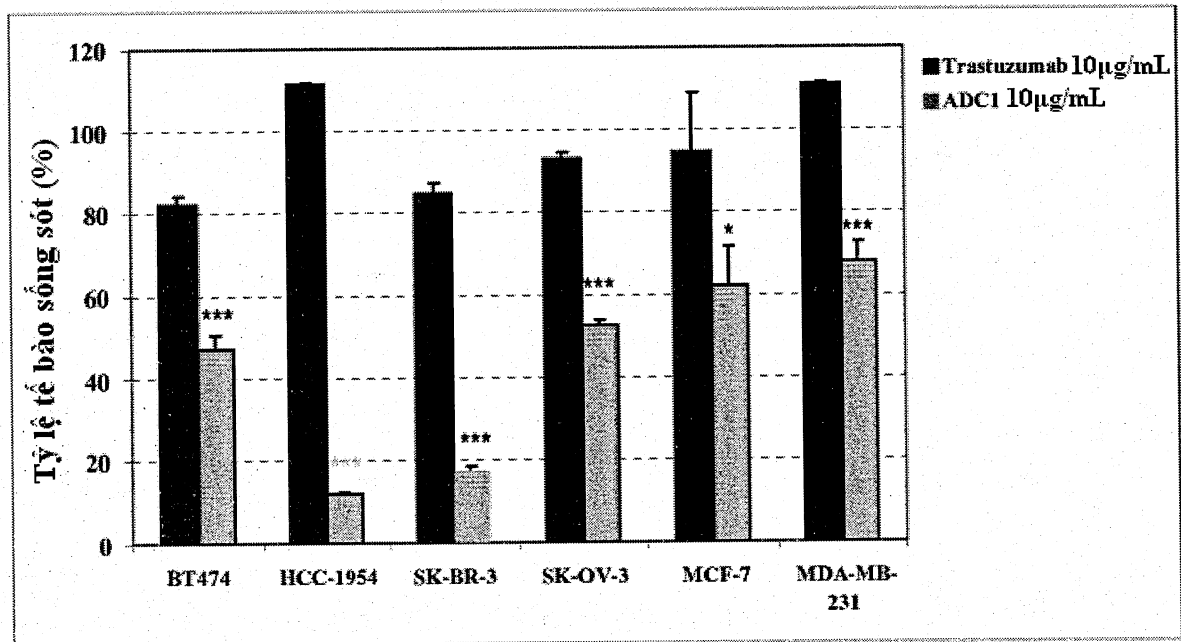


Fig.3



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Fig.4

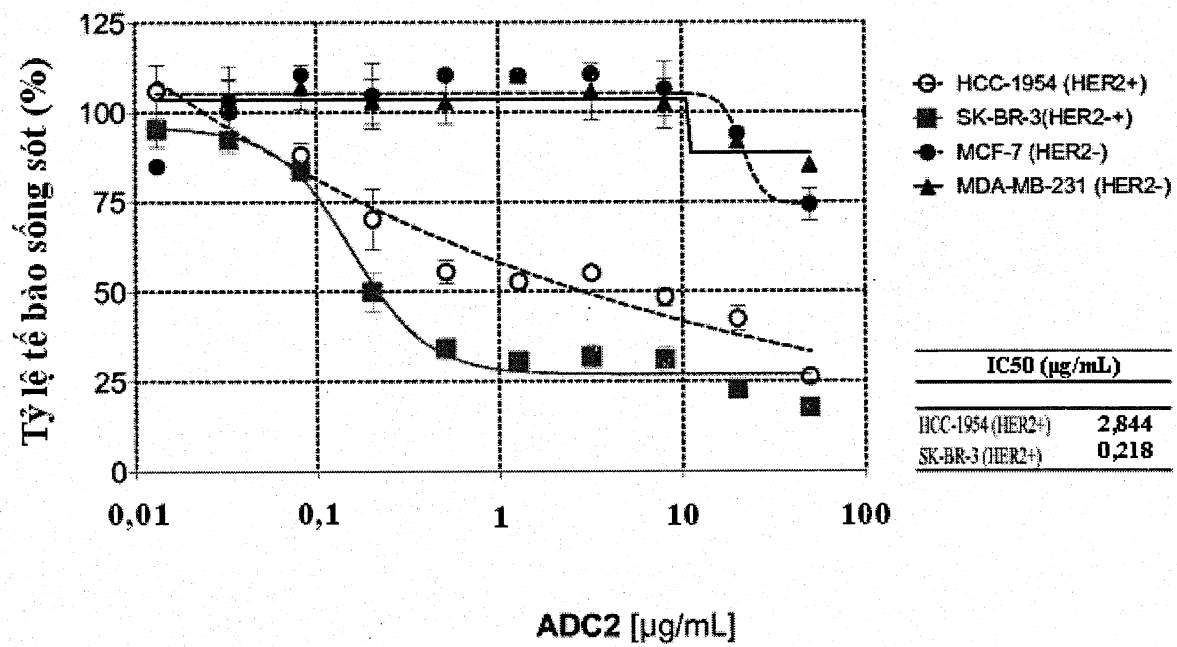
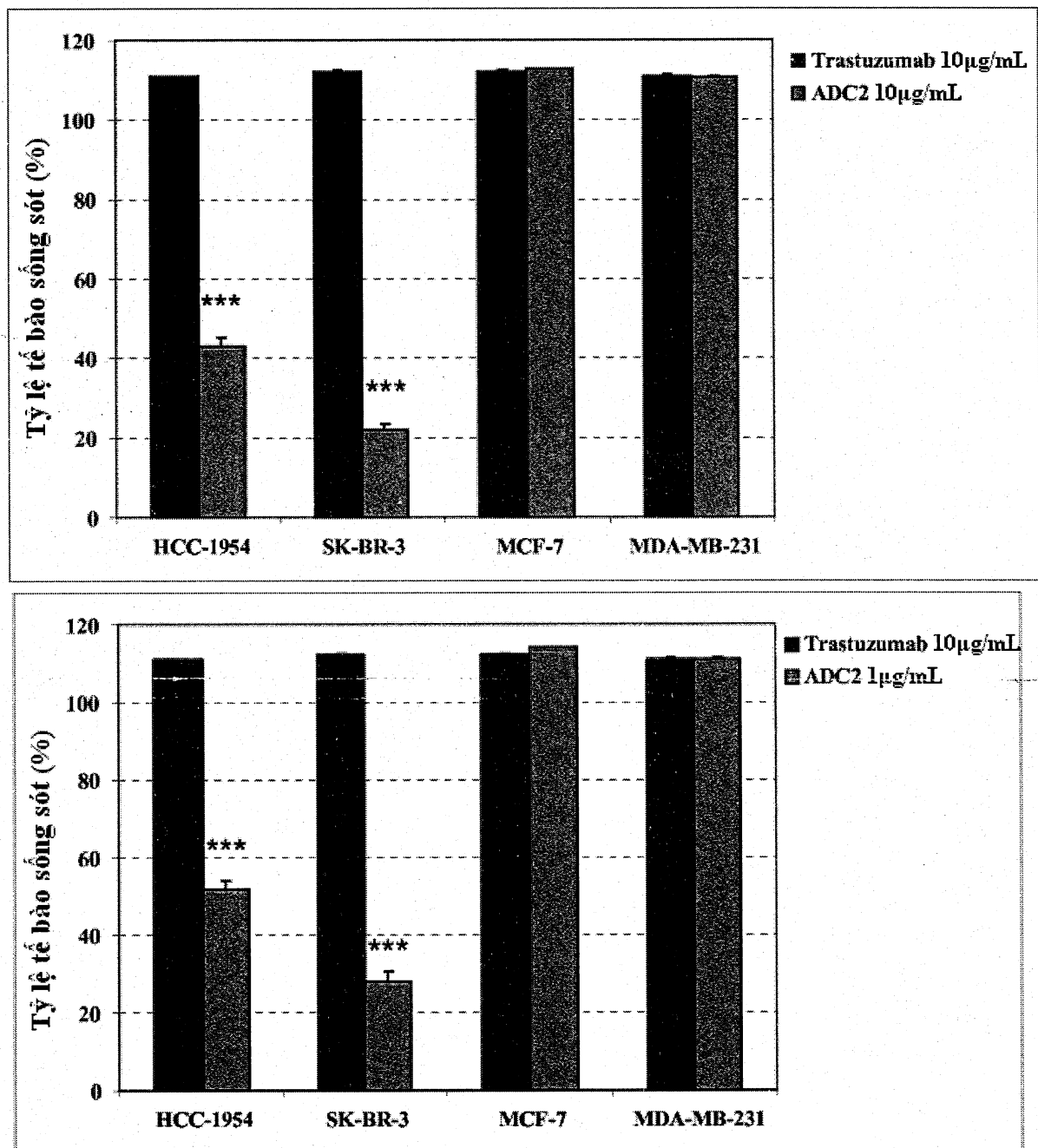


Fig.5



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Fig.6

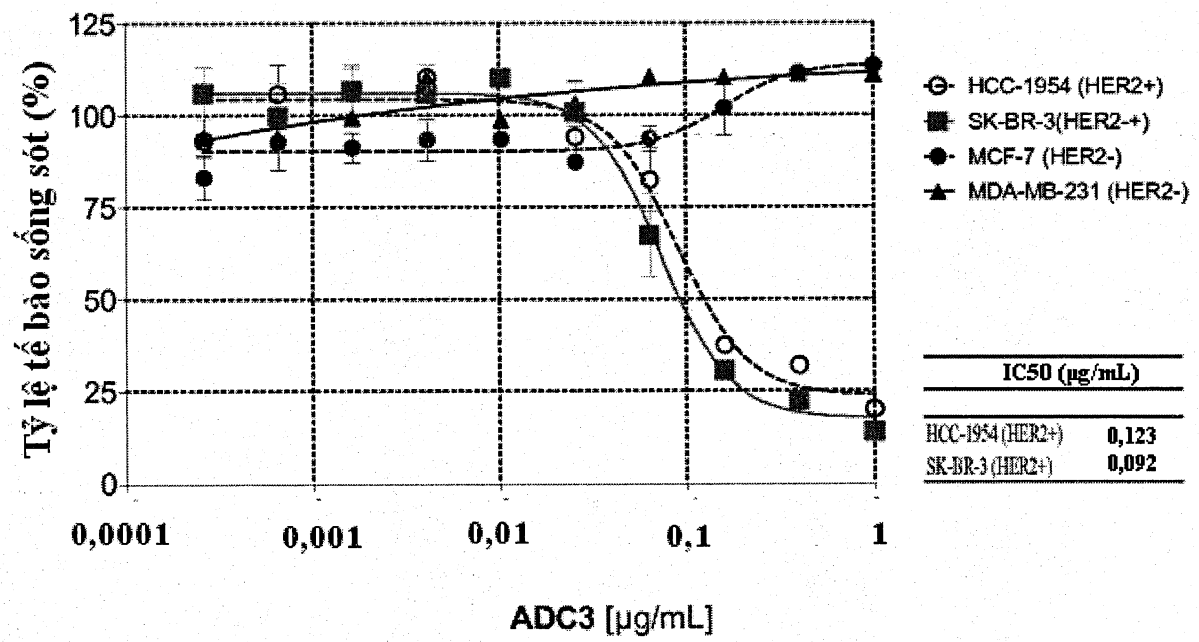
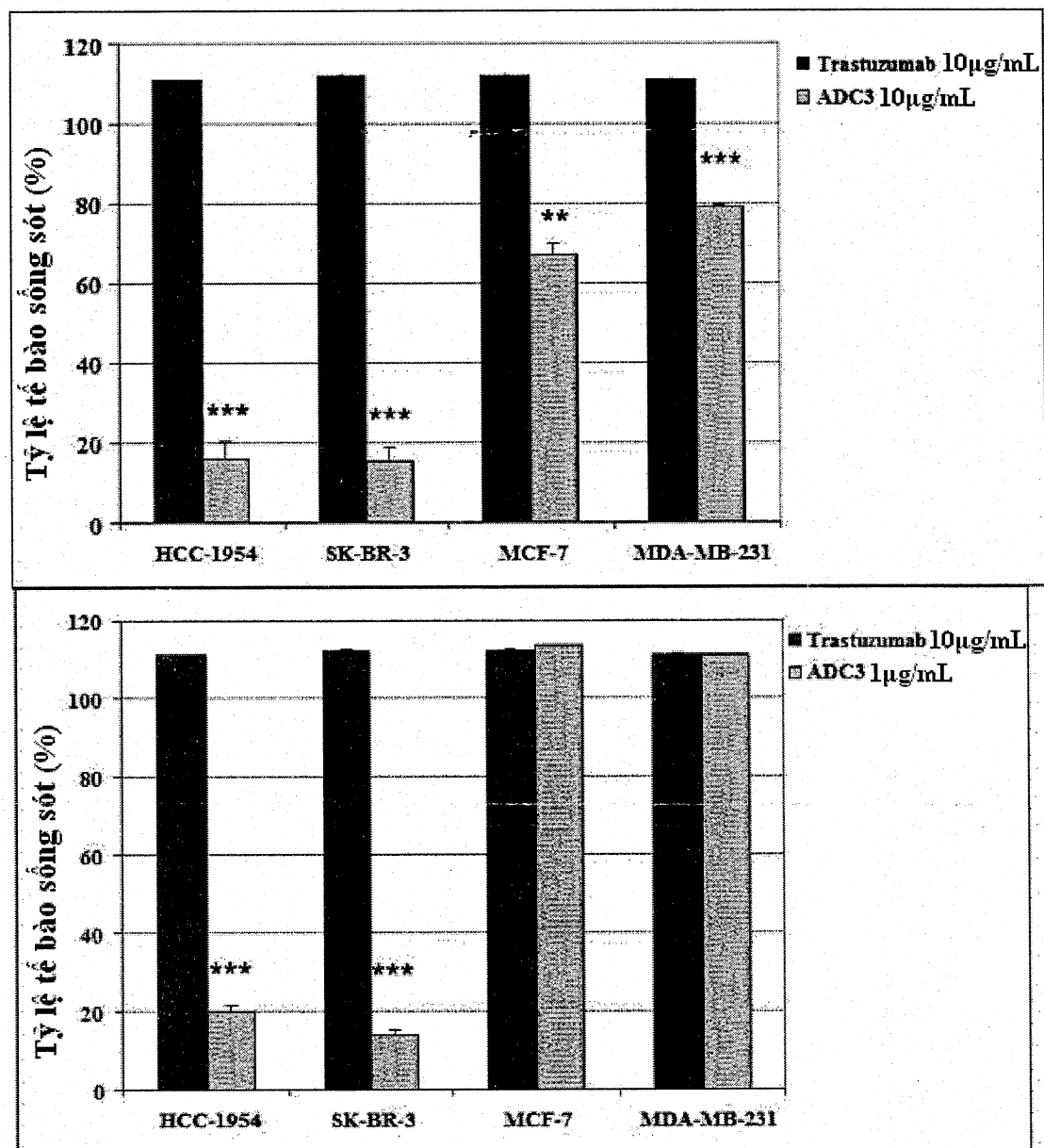


Fig.7



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Fig.8

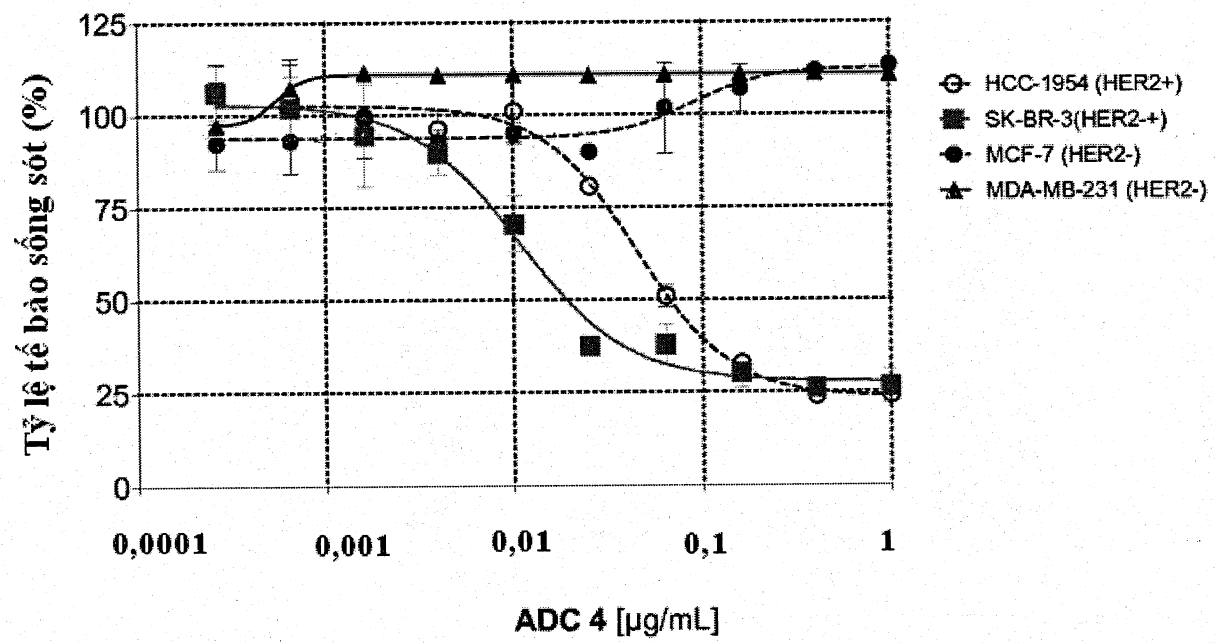
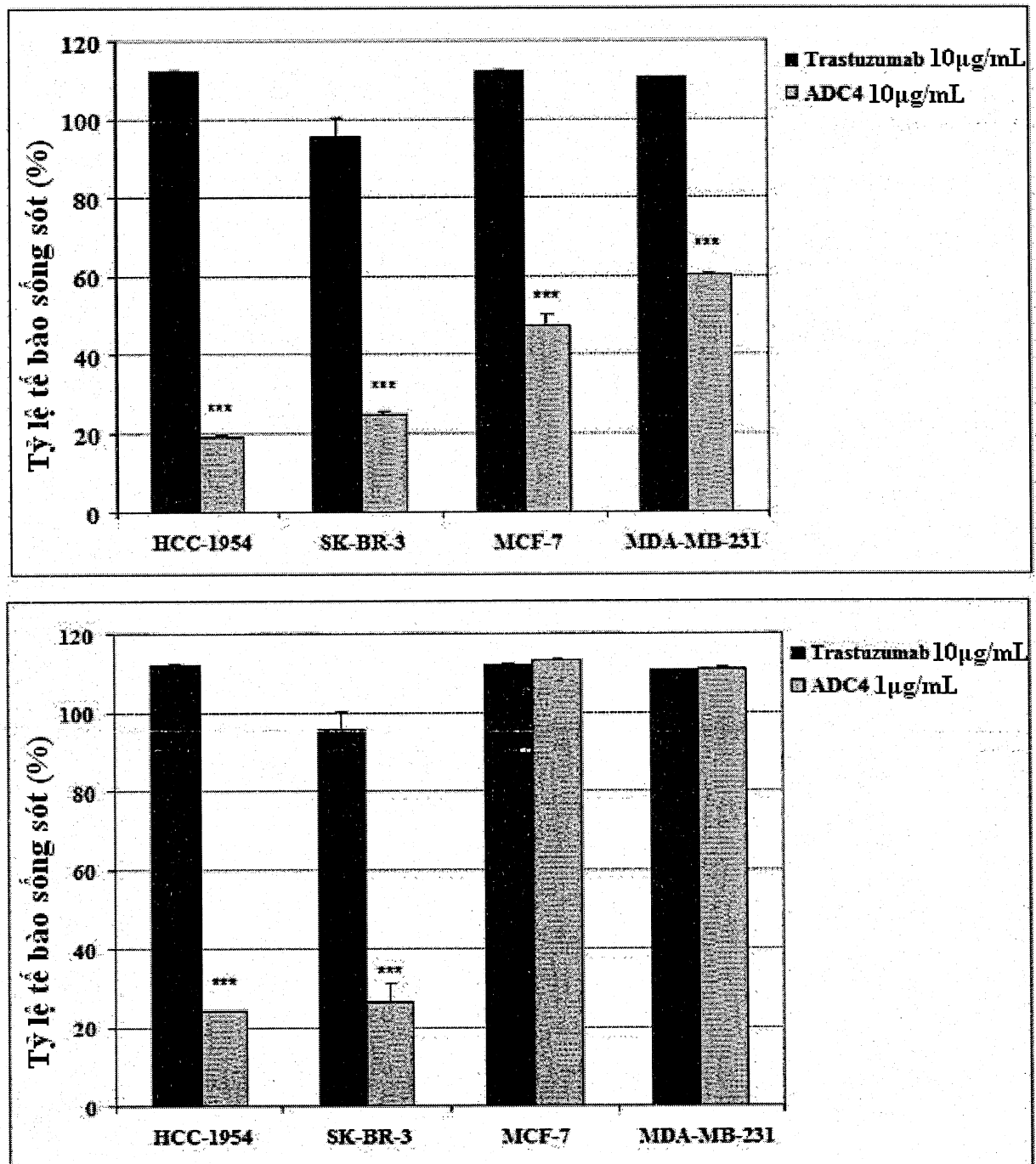


Fig.9



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): *** $p < 0,001$

Fig.10

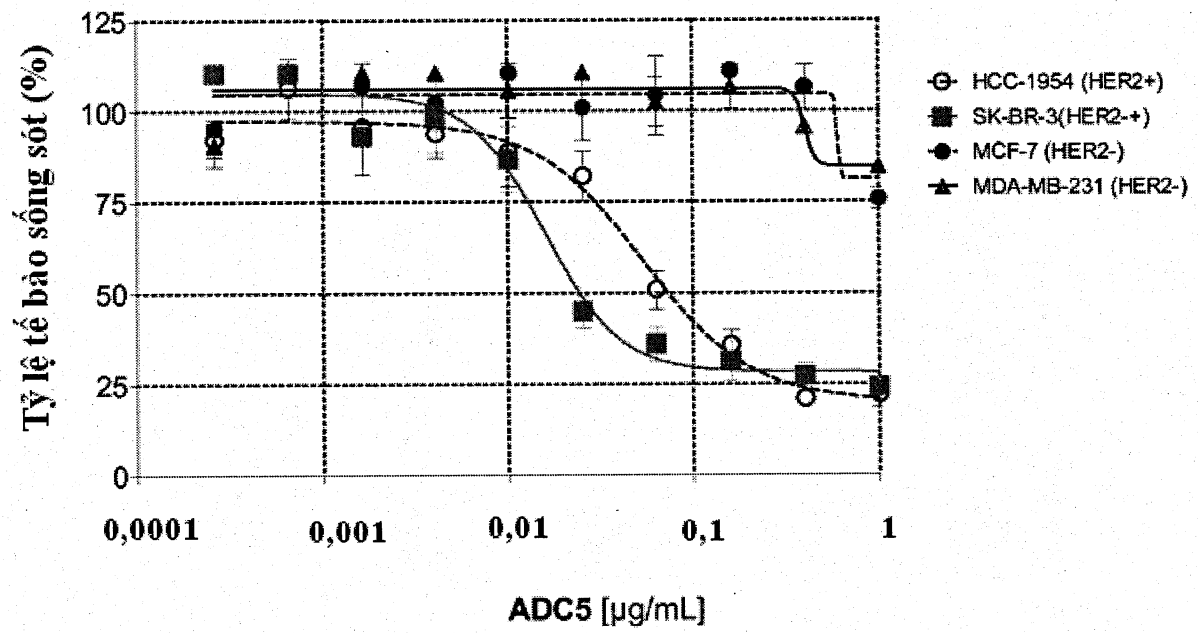
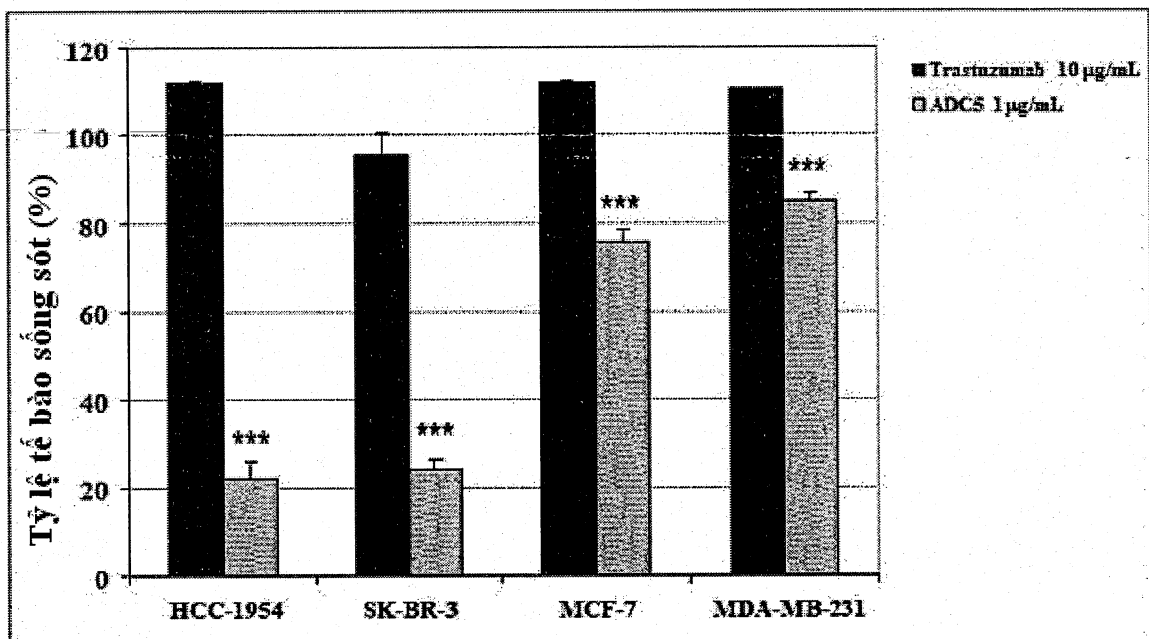
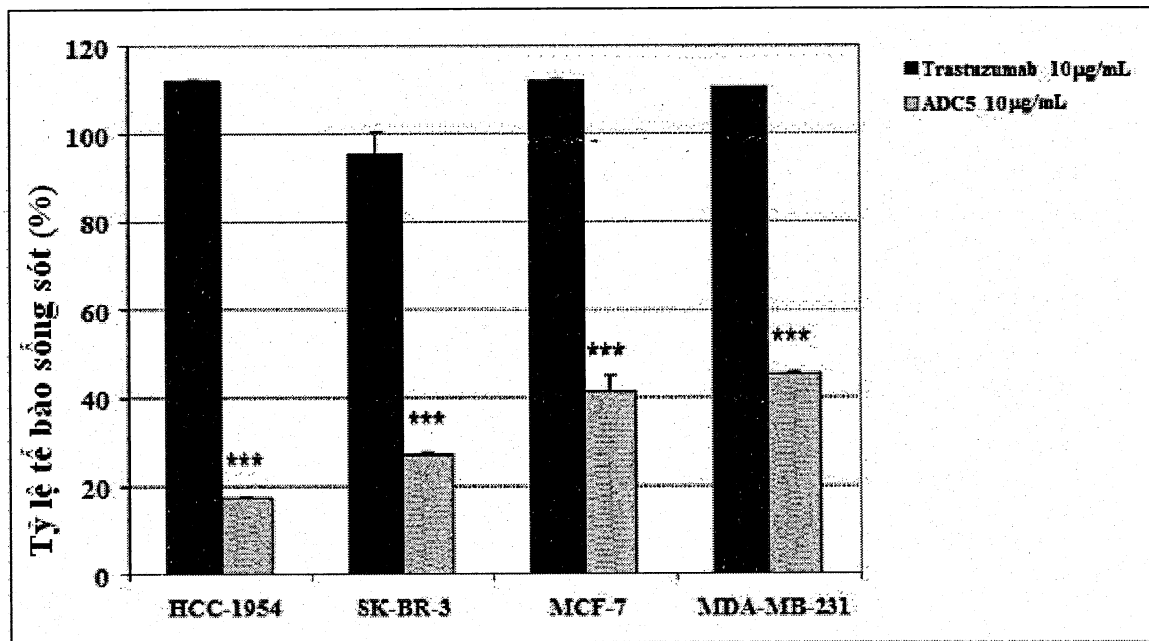


Fig.11



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): ***p<0,001

Fig.12

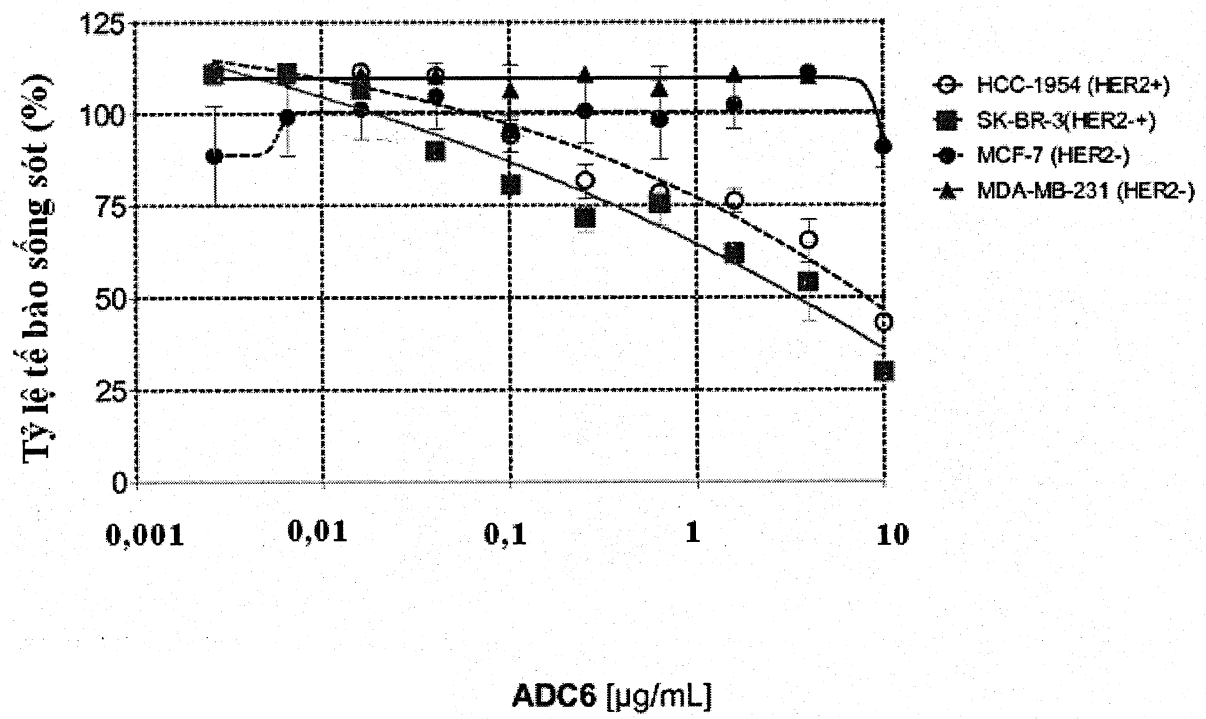
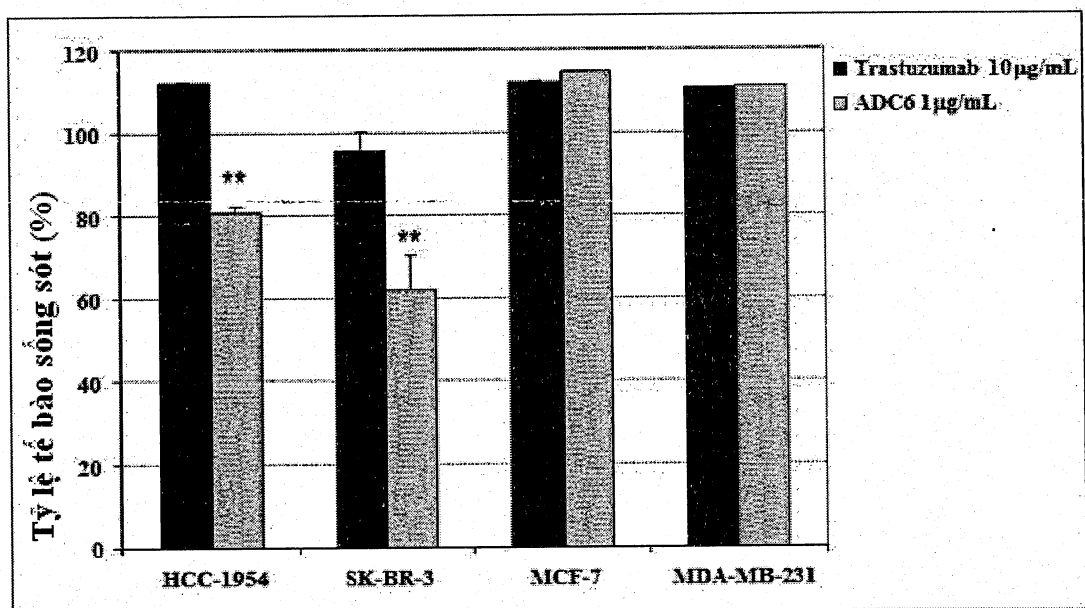
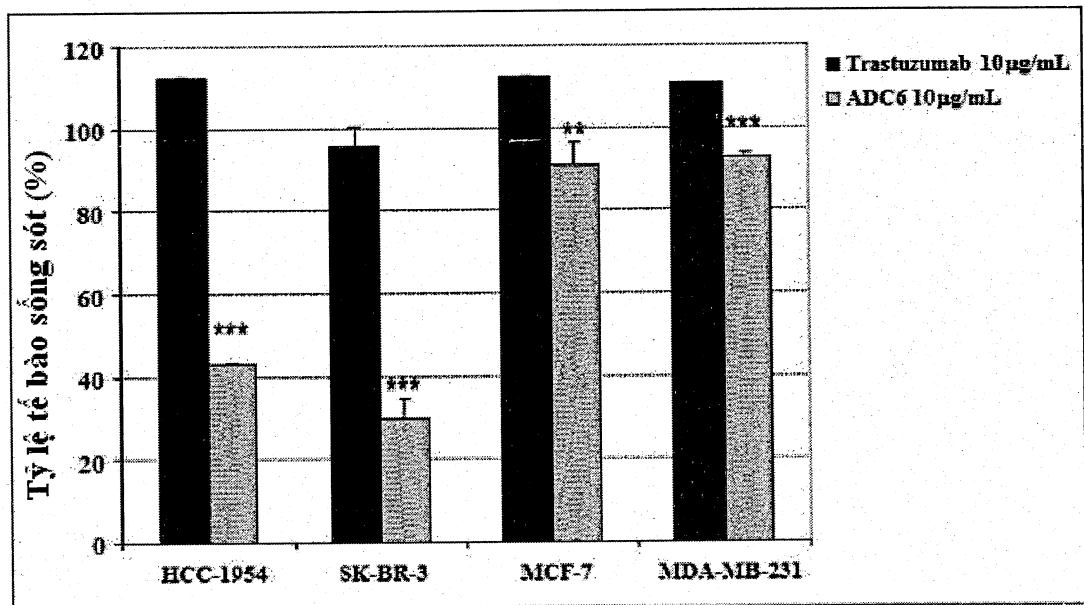


Fig.13



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Fig.14

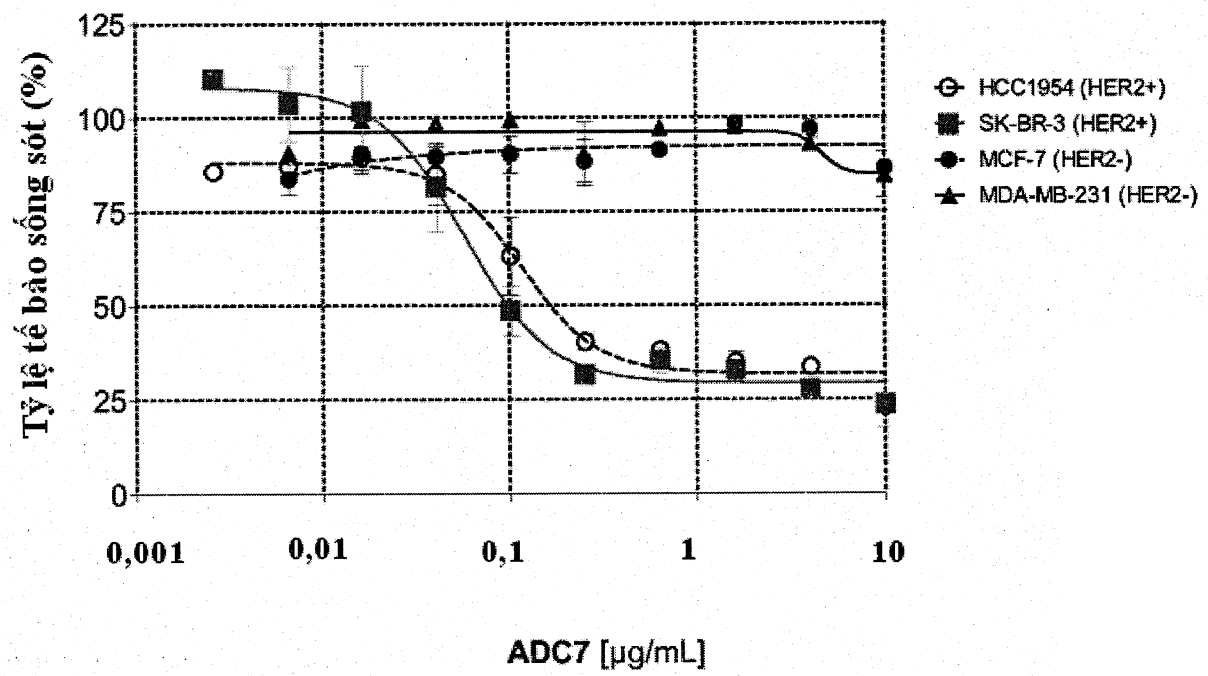
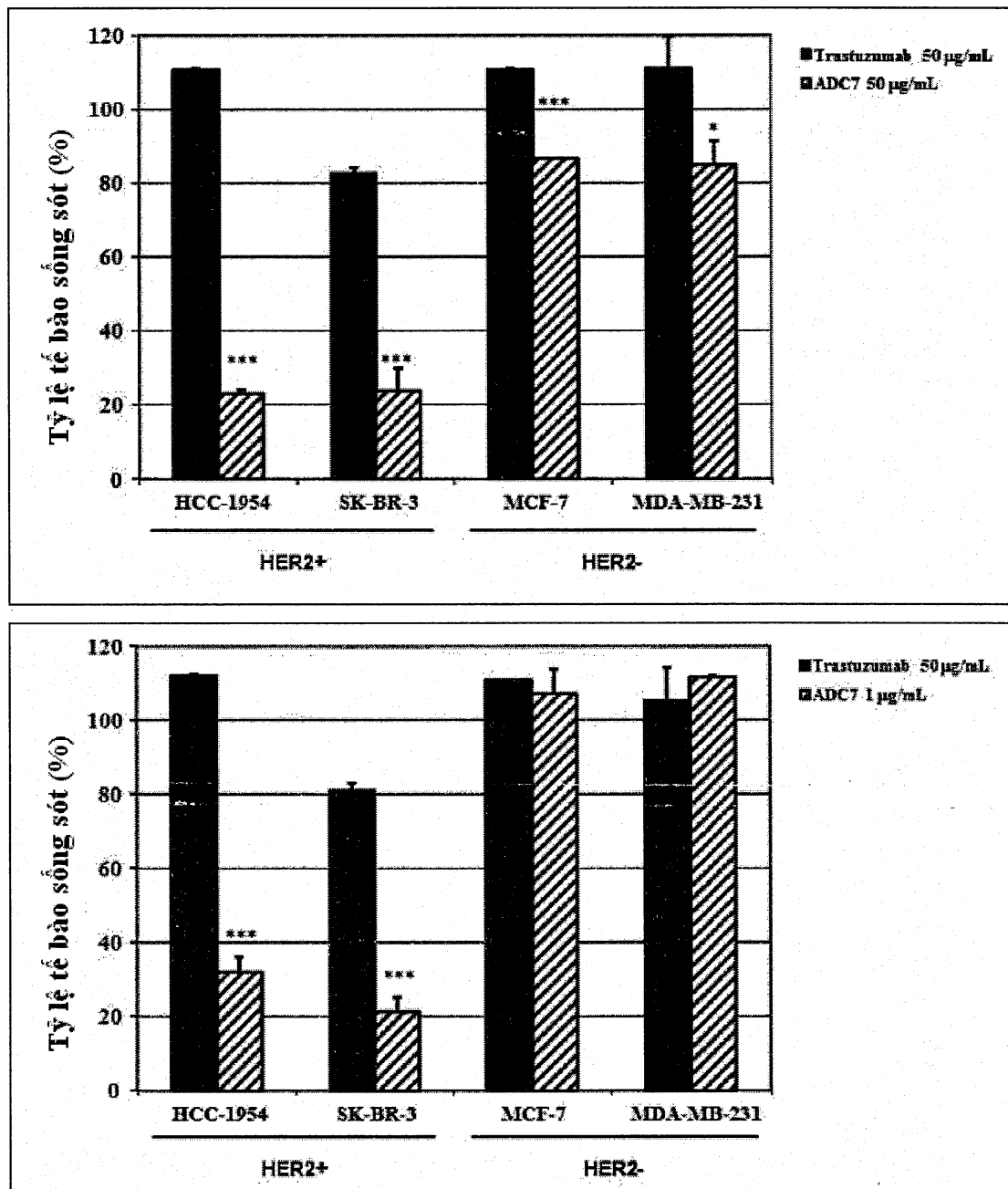


Fig.15



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001

Fig.16

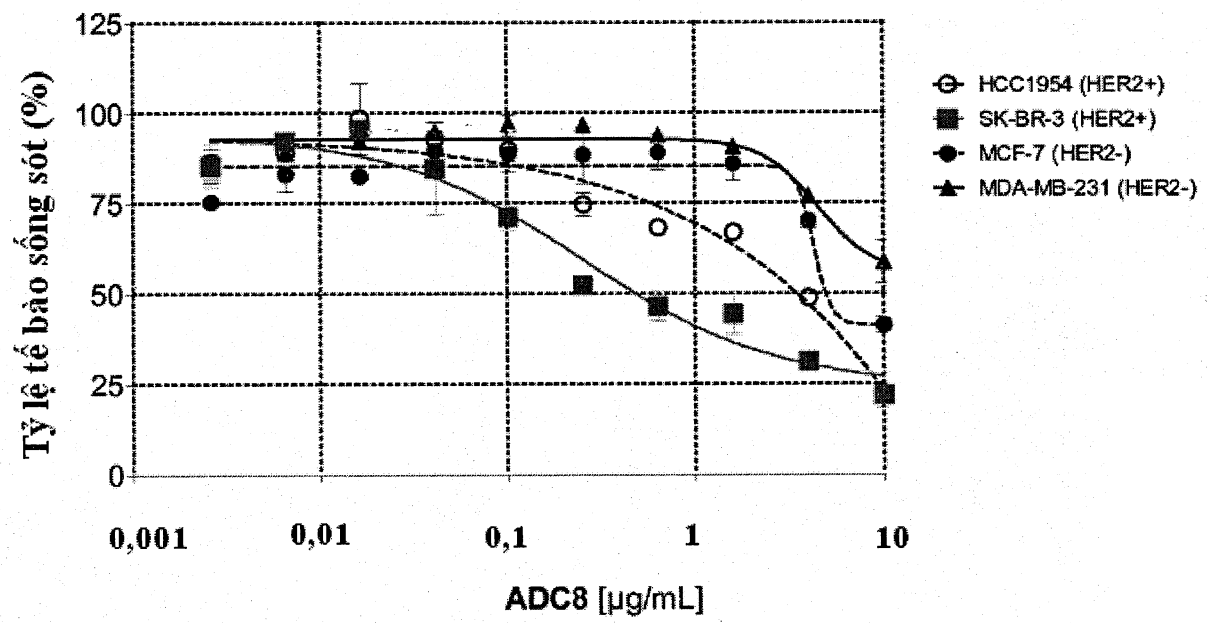
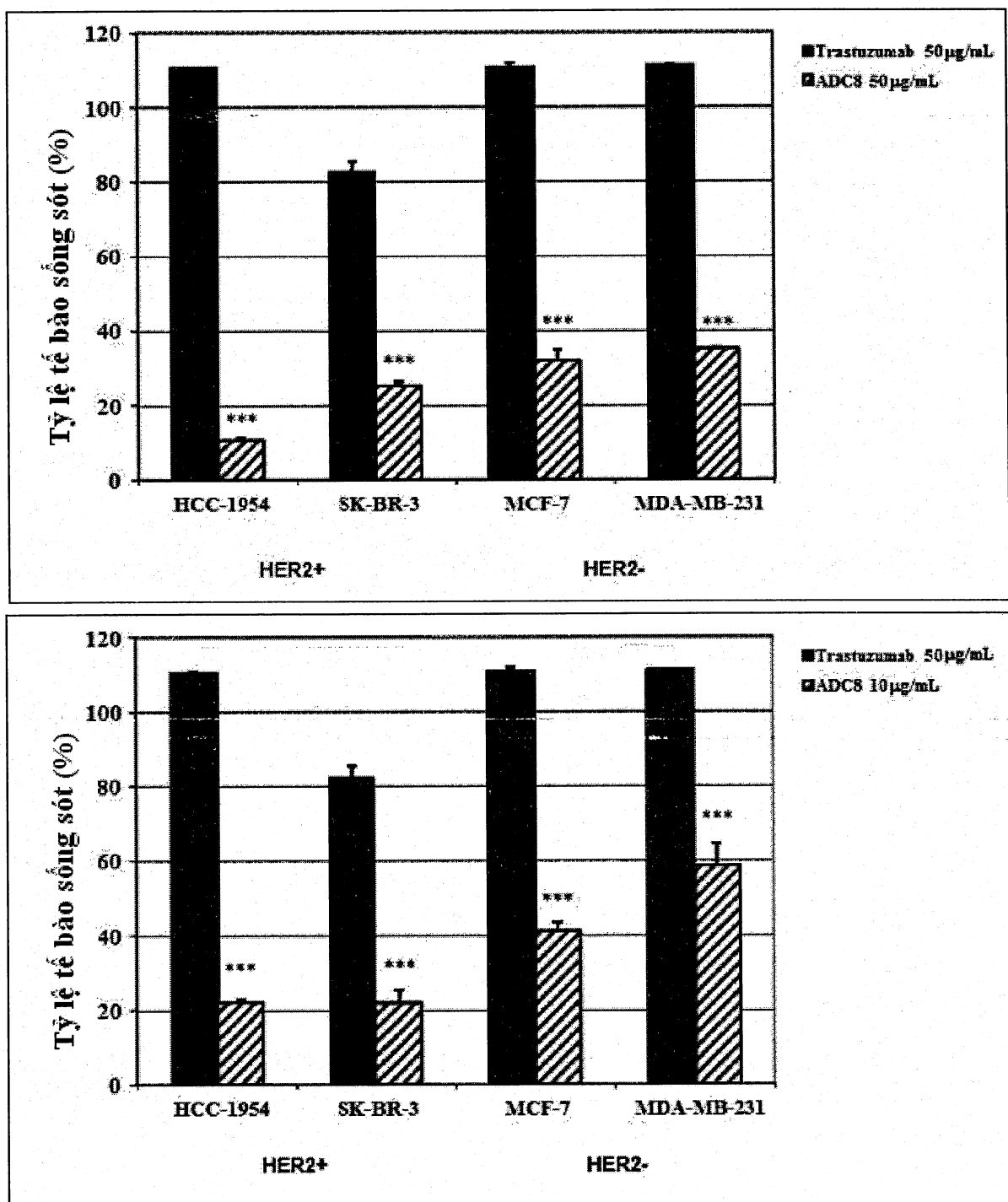
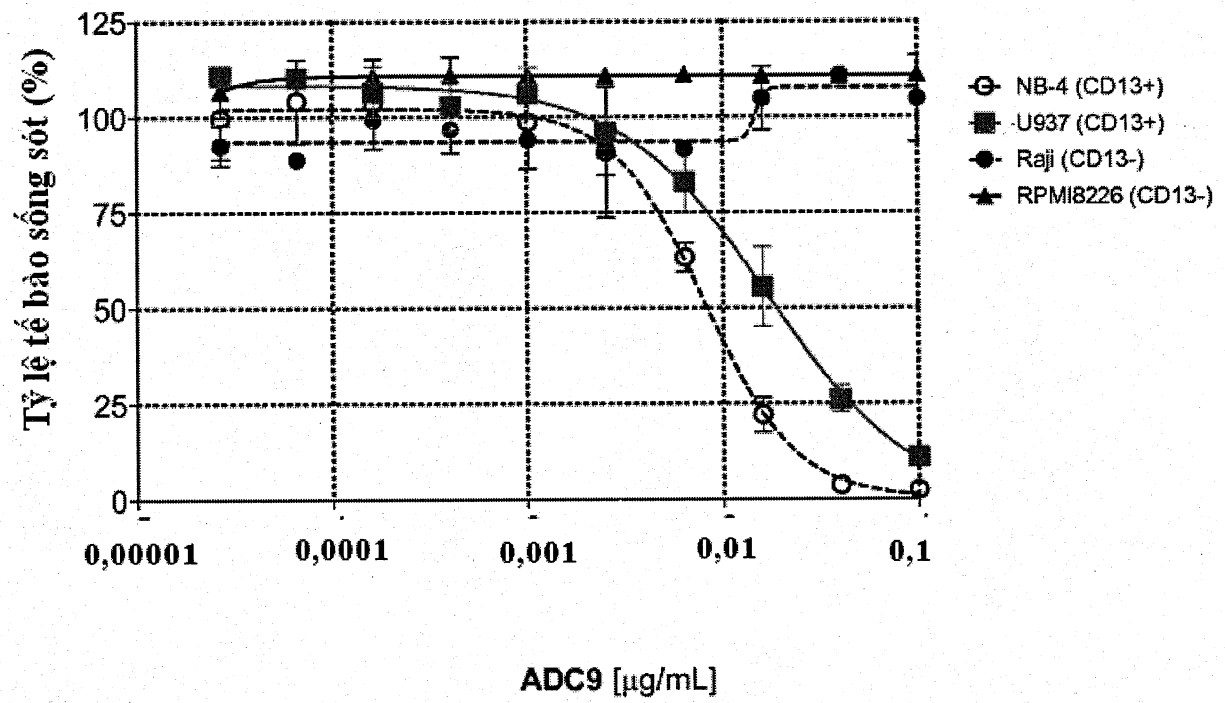


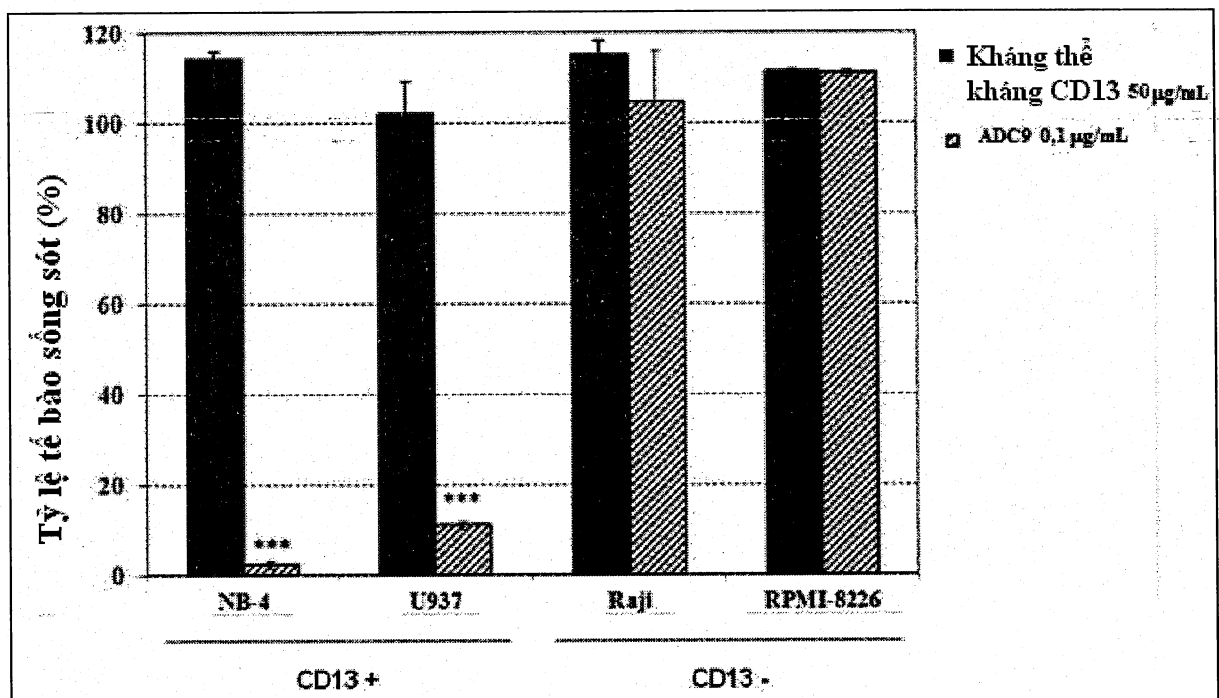
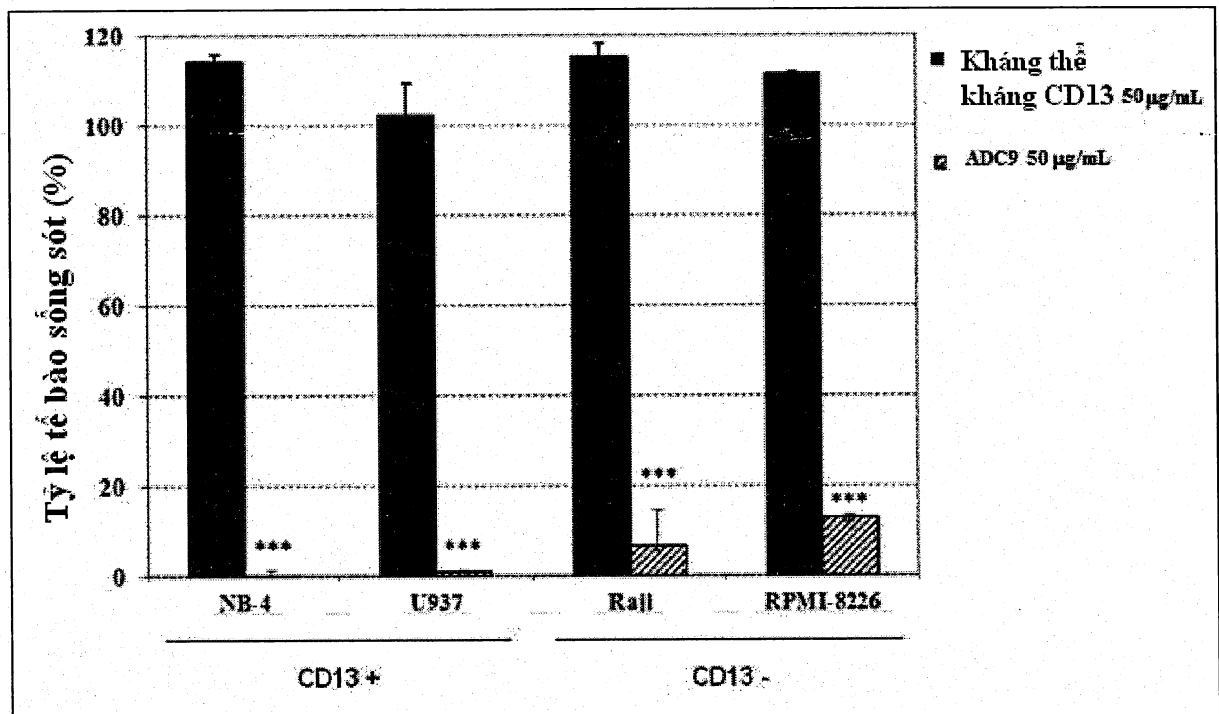
Fig.17



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): ***p<0,001

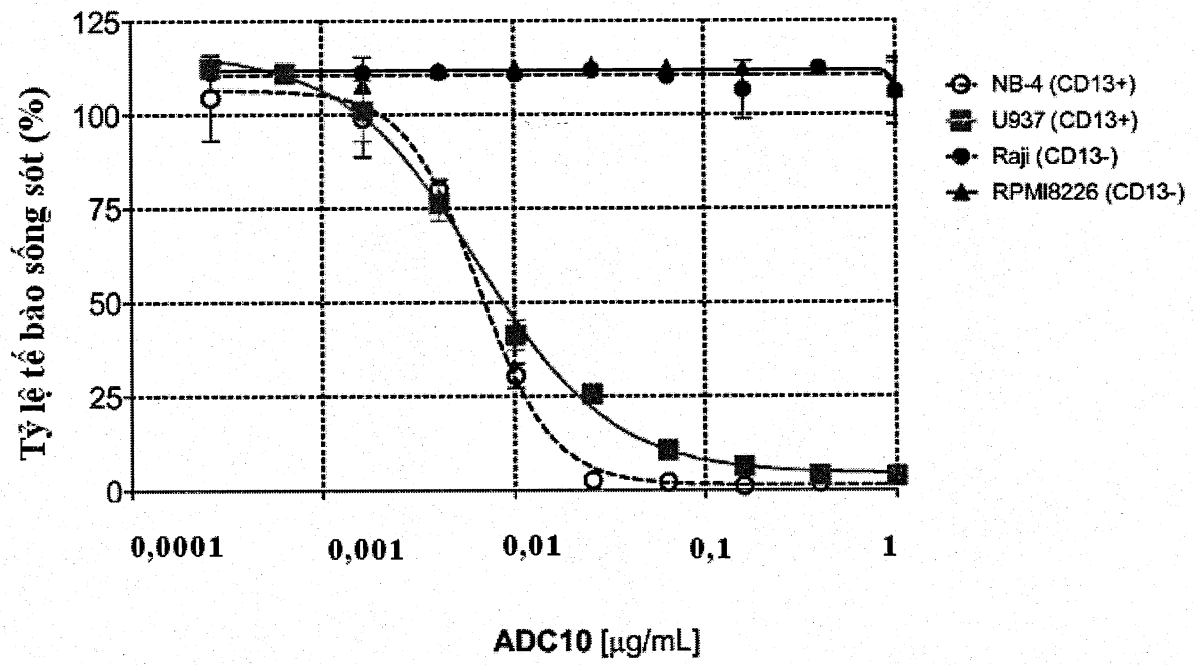
Fig.18

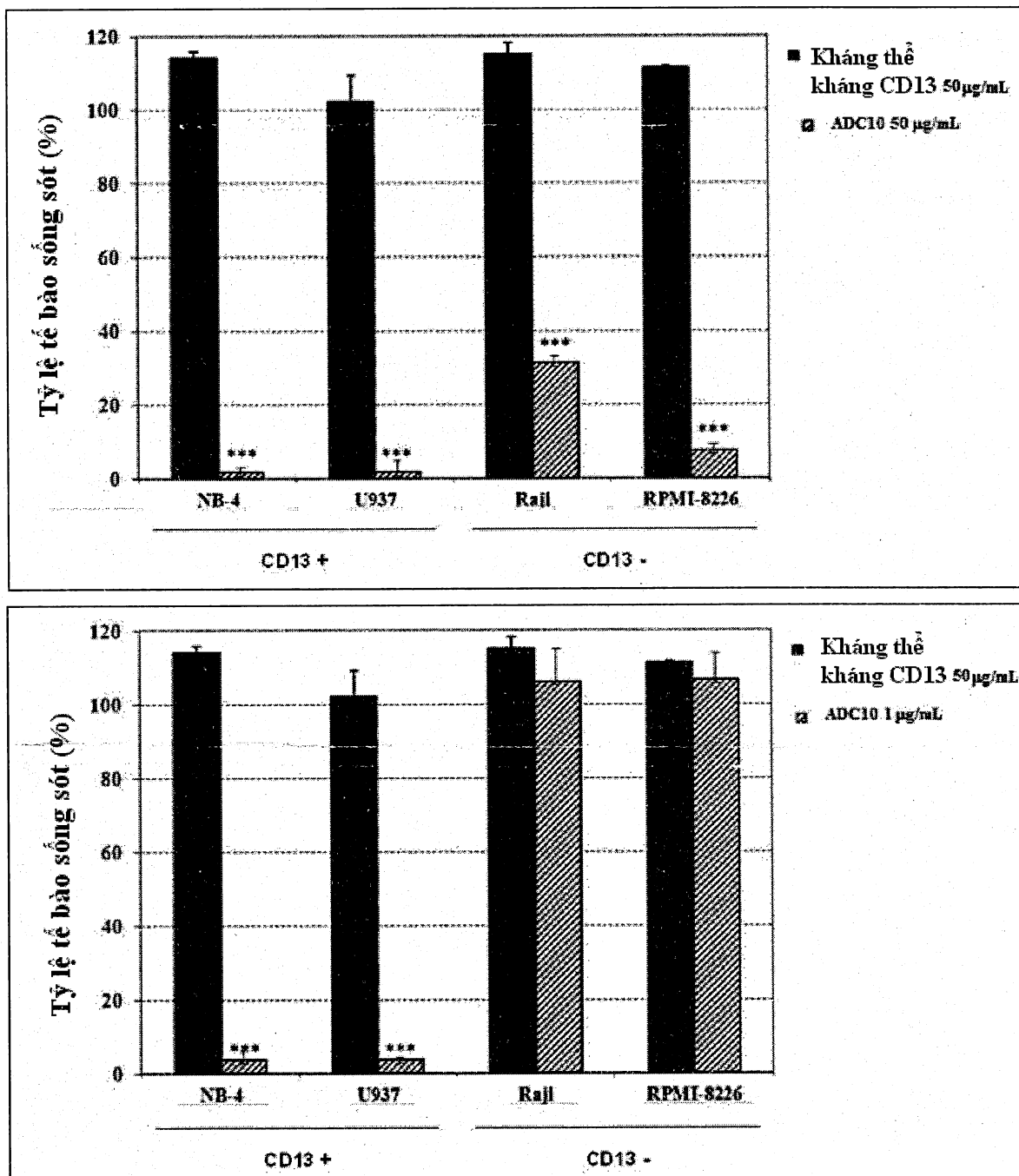
**Fig.19**



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): *** $p < 0,001$

Fig.20

**Fig.21**



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): *** $p < 0,001$

Fig.22

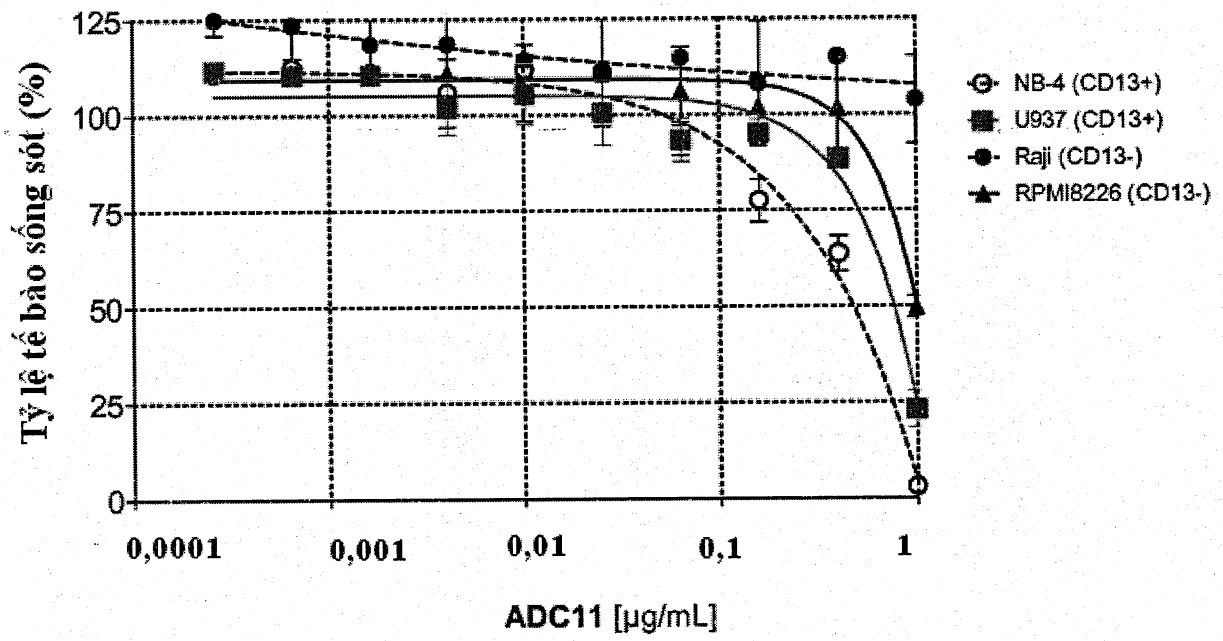
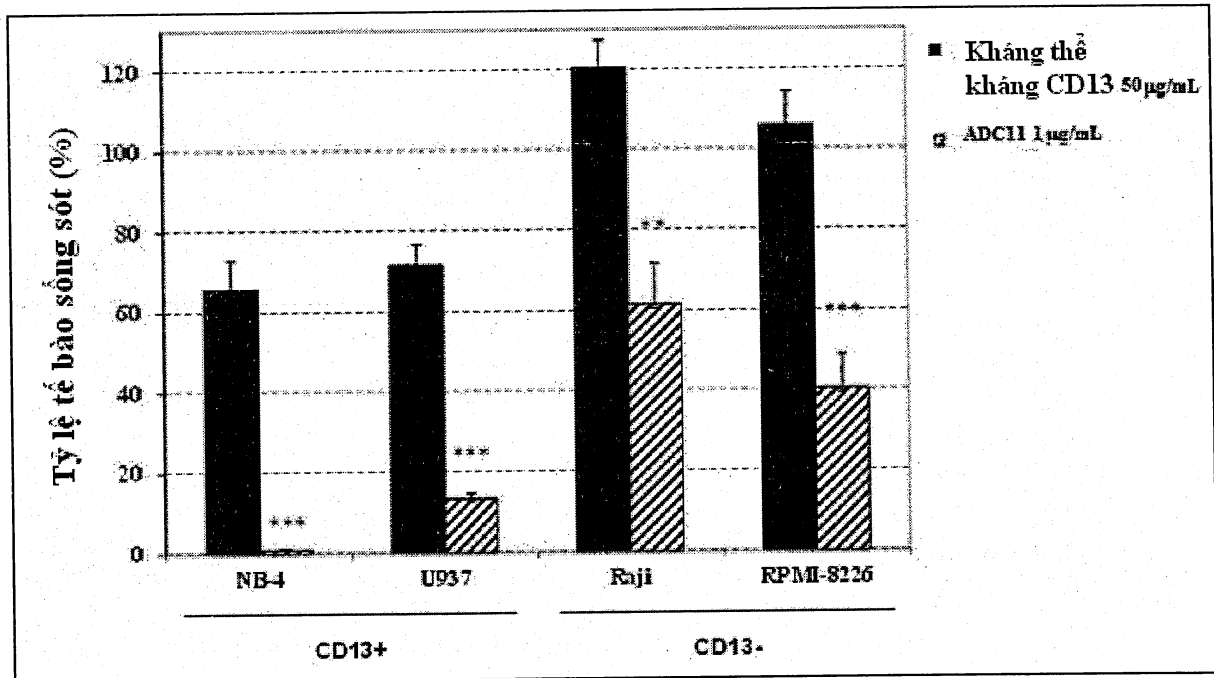
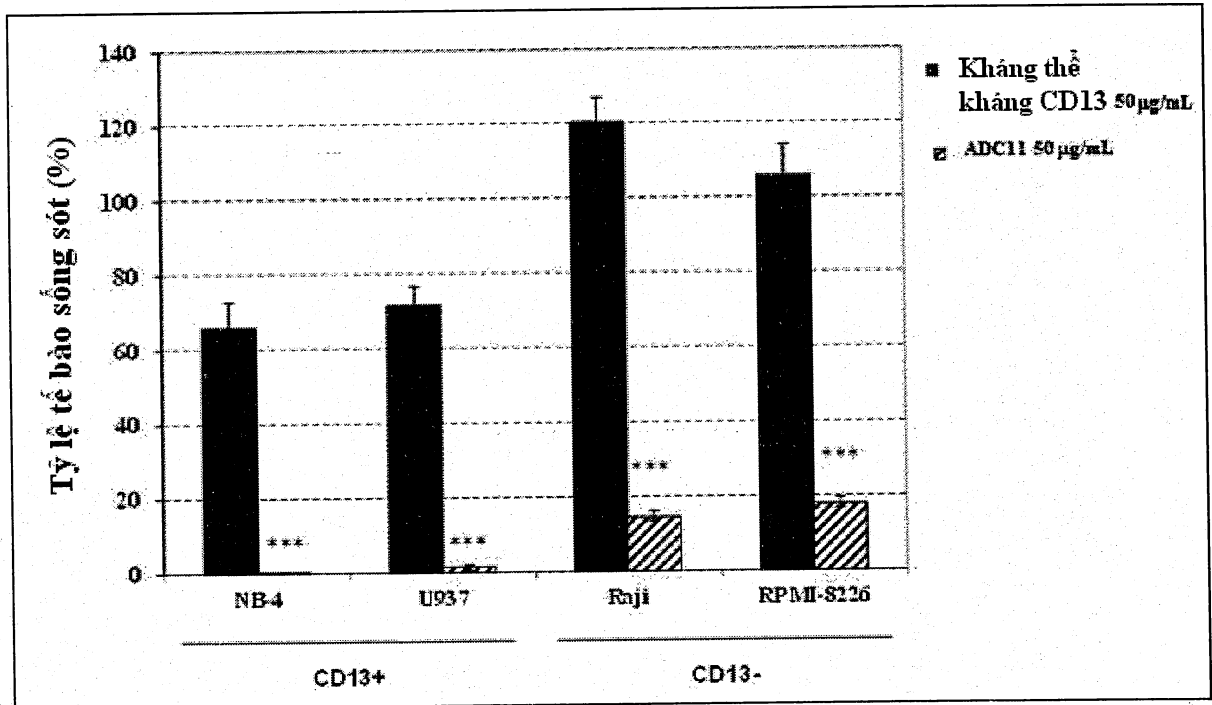
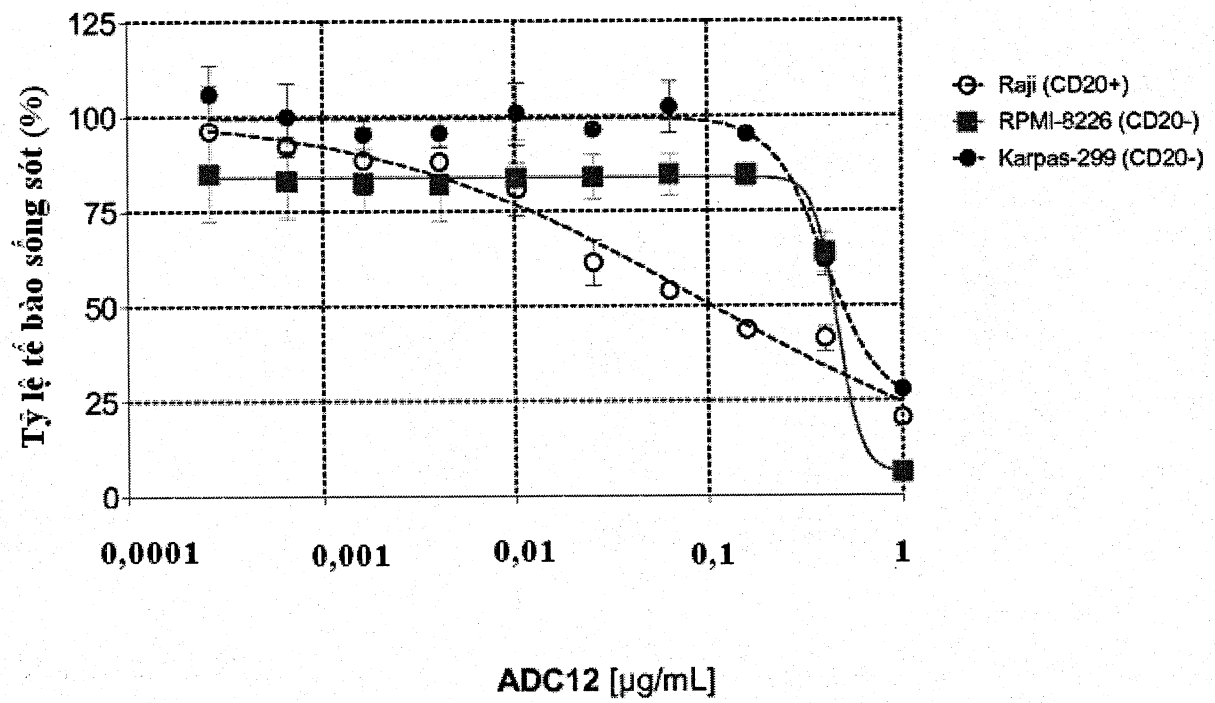


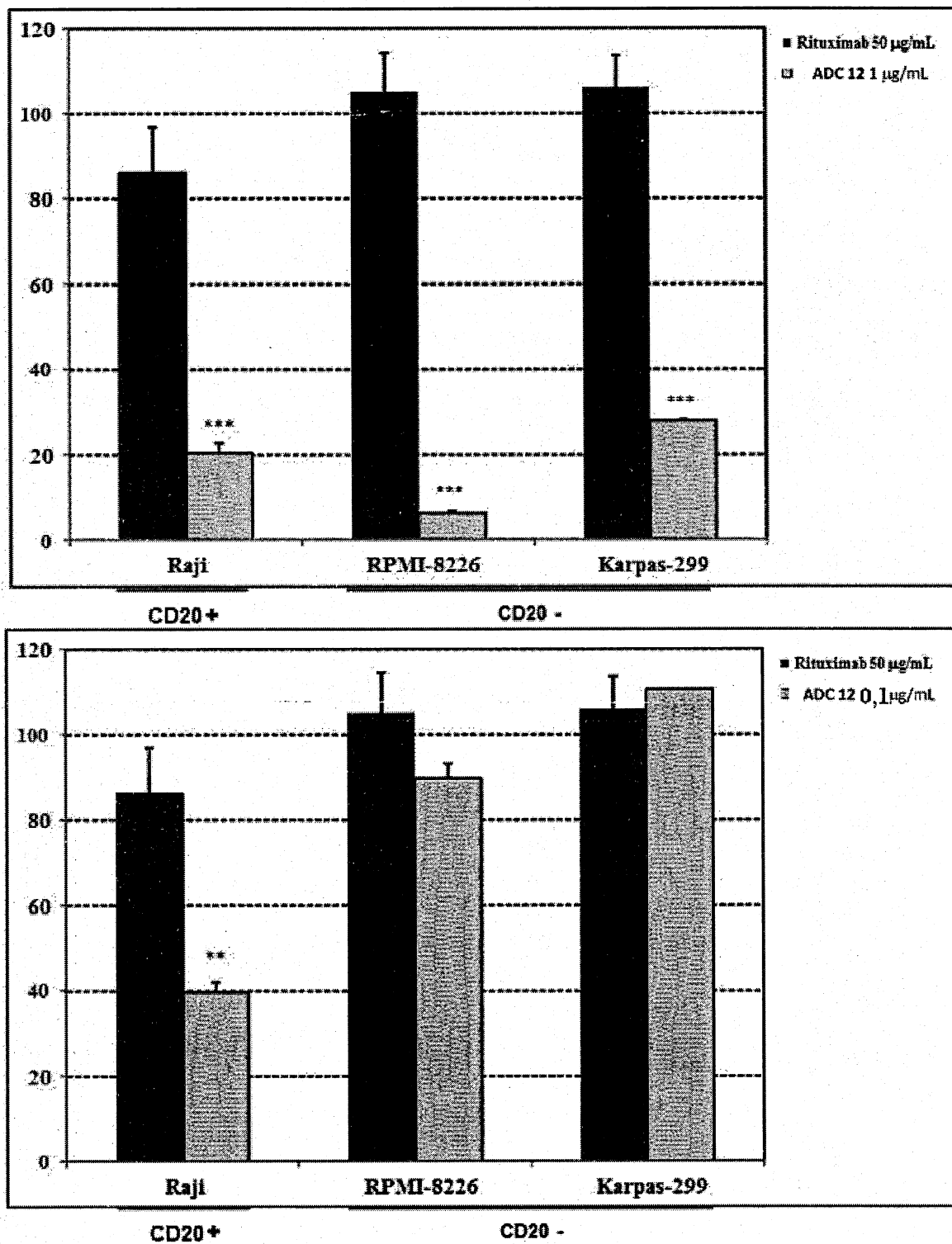
Fig.23



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

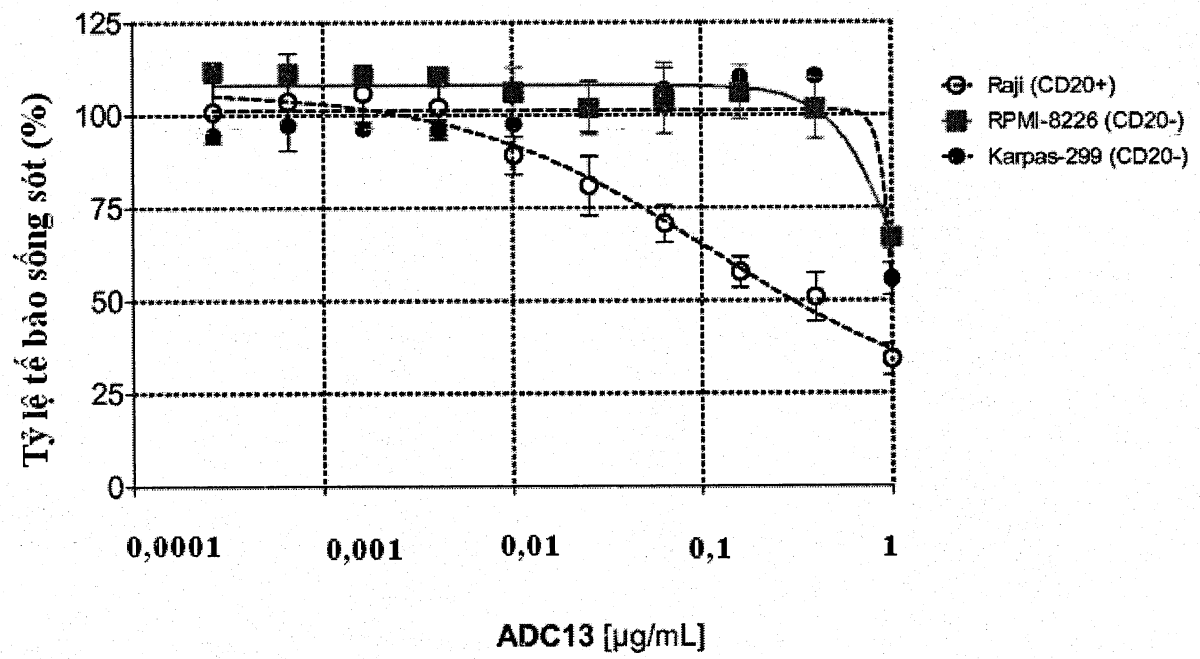
Fig.24

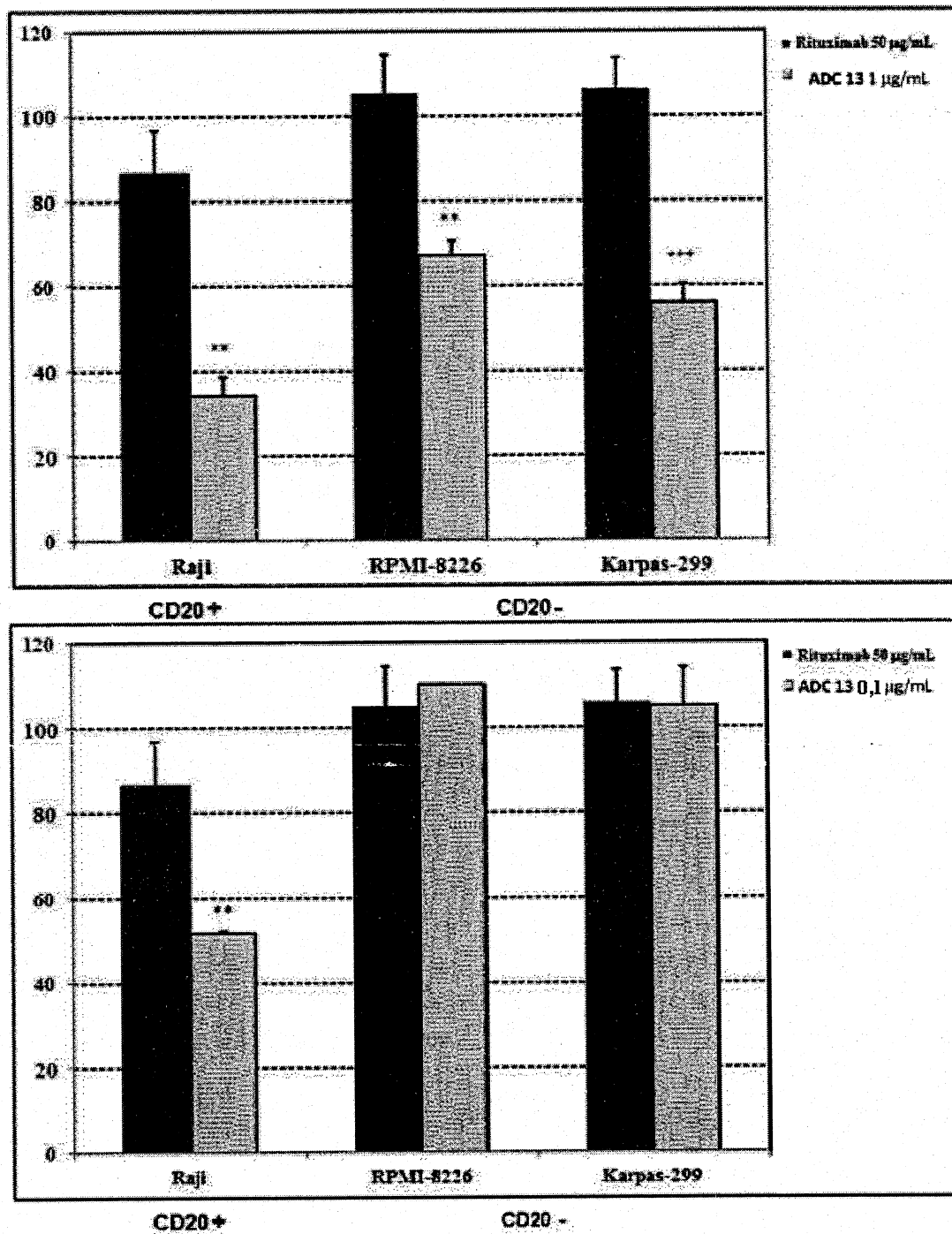
**Fig.25**



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Fig.26

**Fig.27**



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001

Fig.28

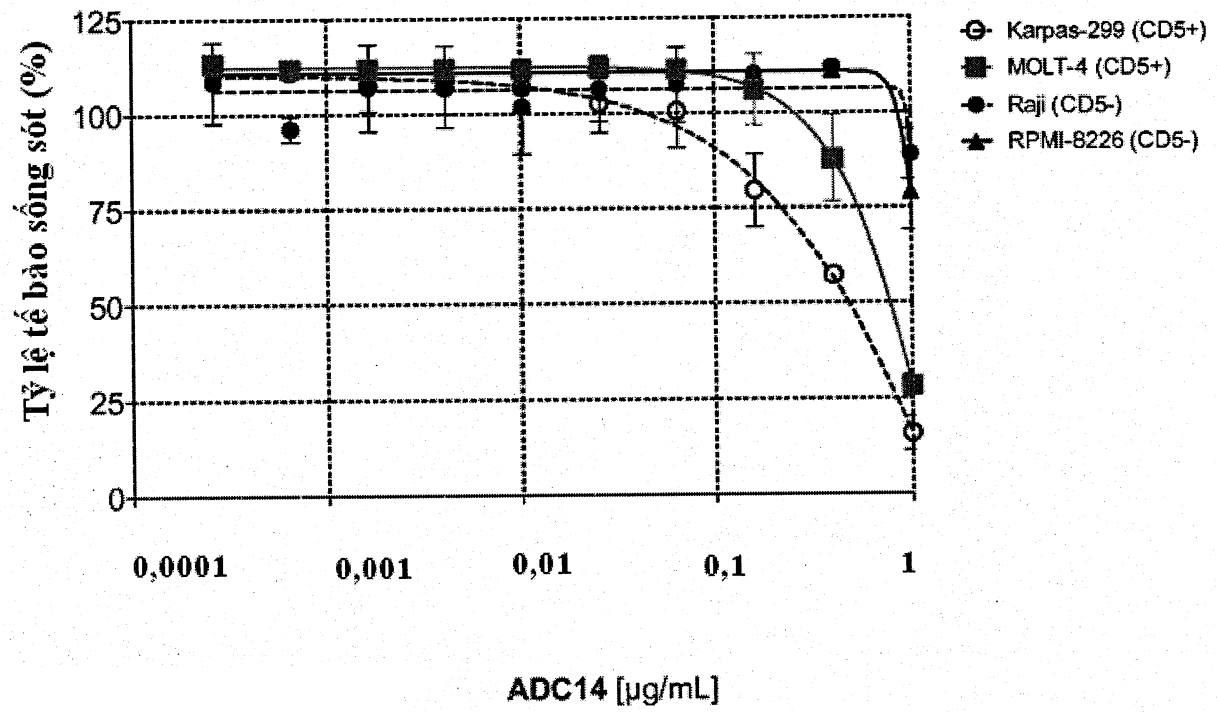
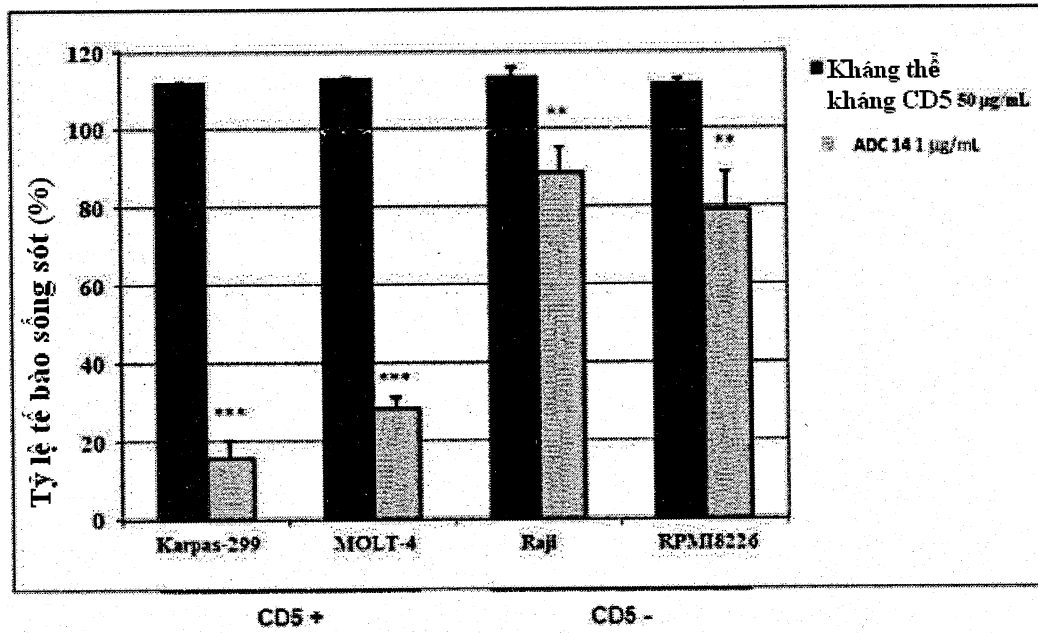
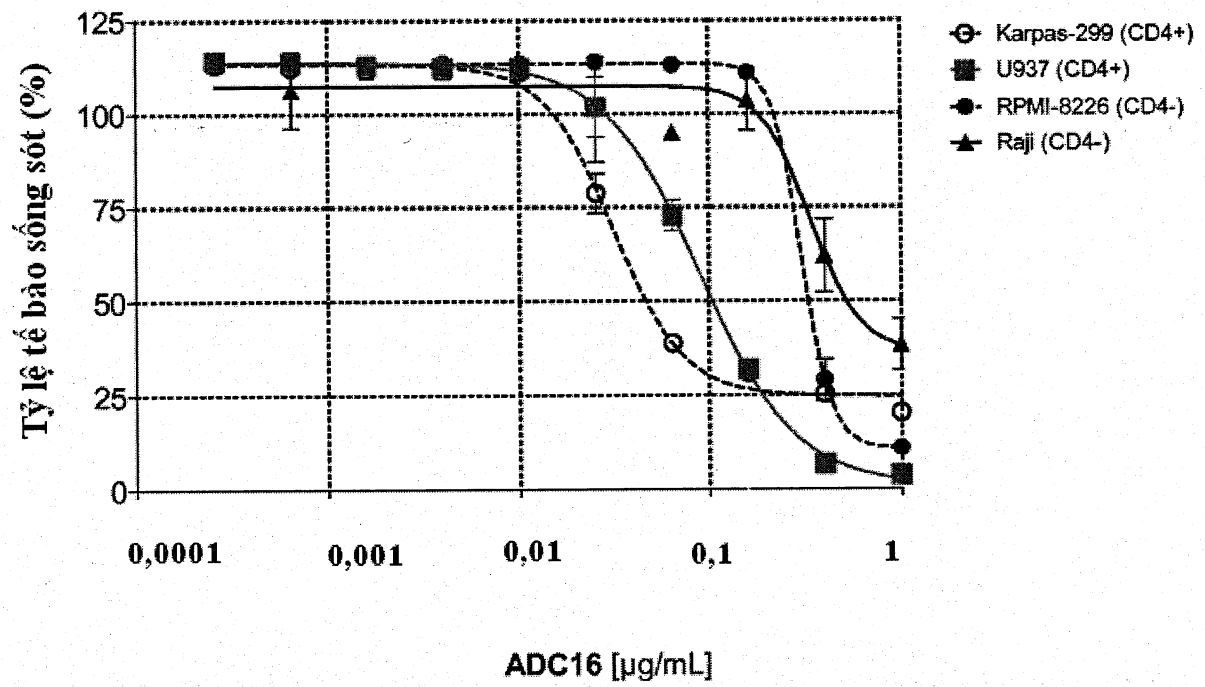


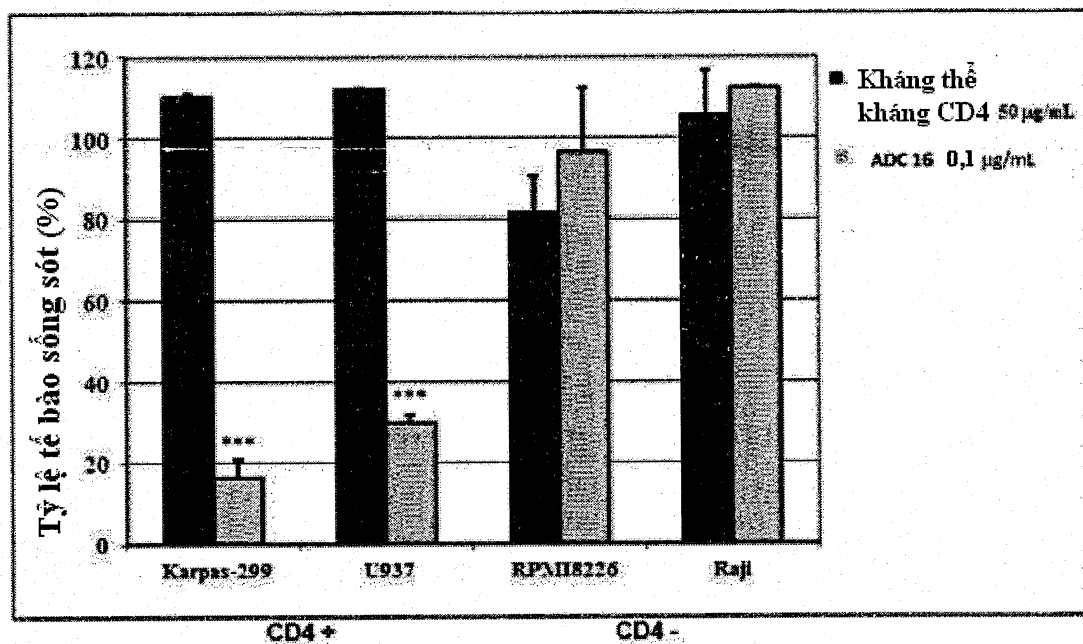
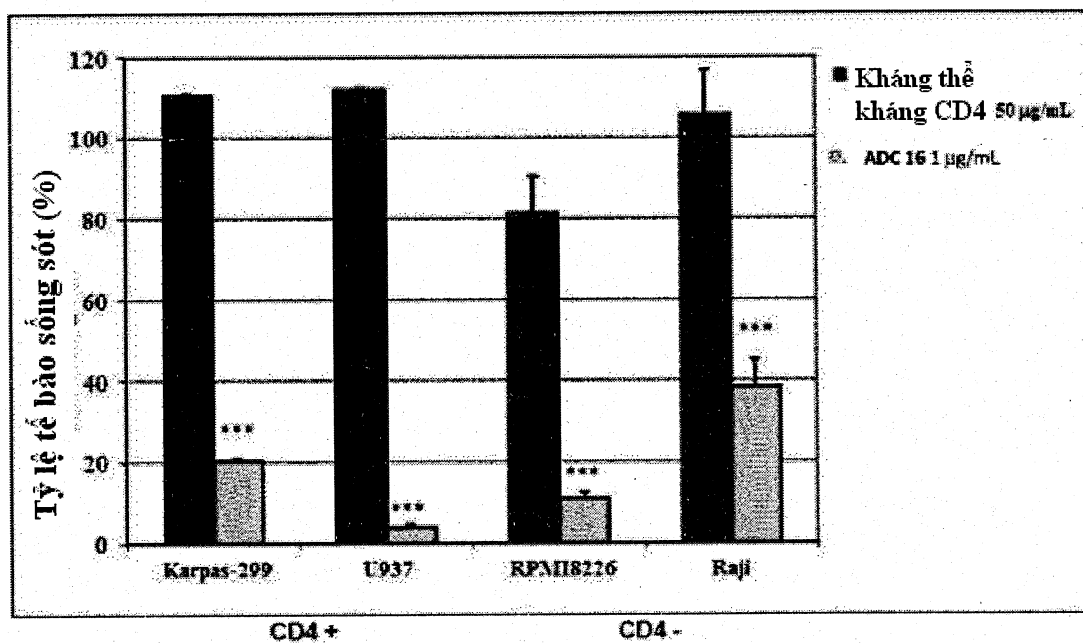
Fig.29



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

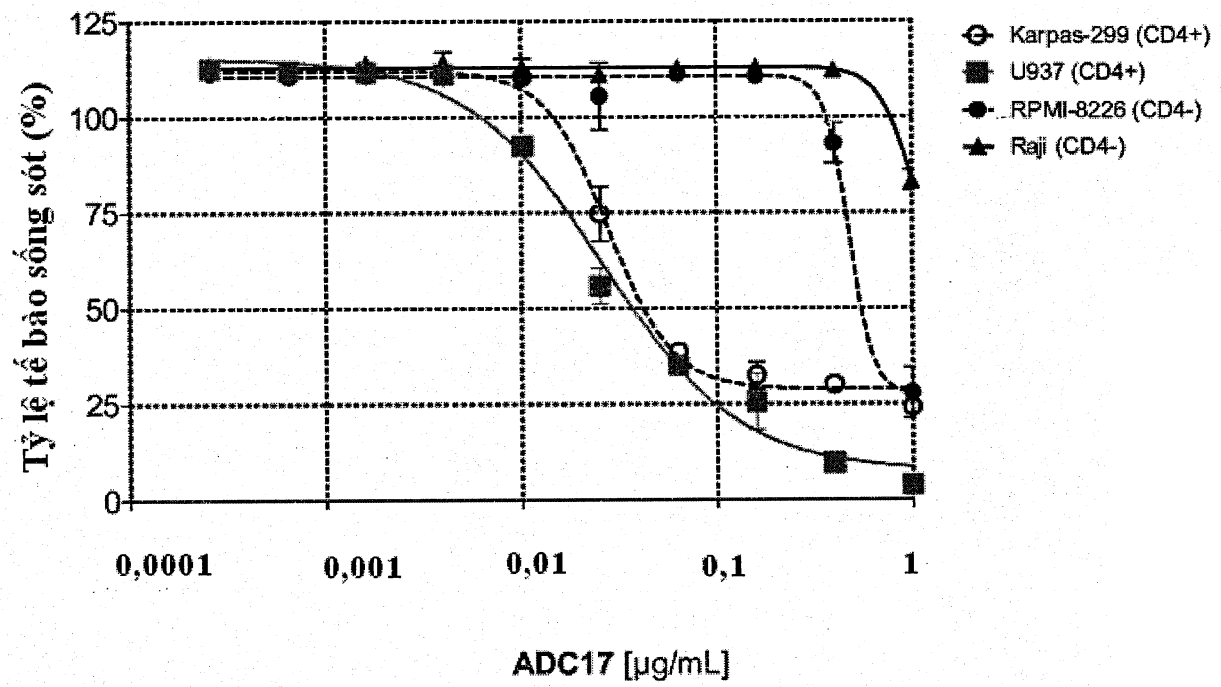
Fig.30

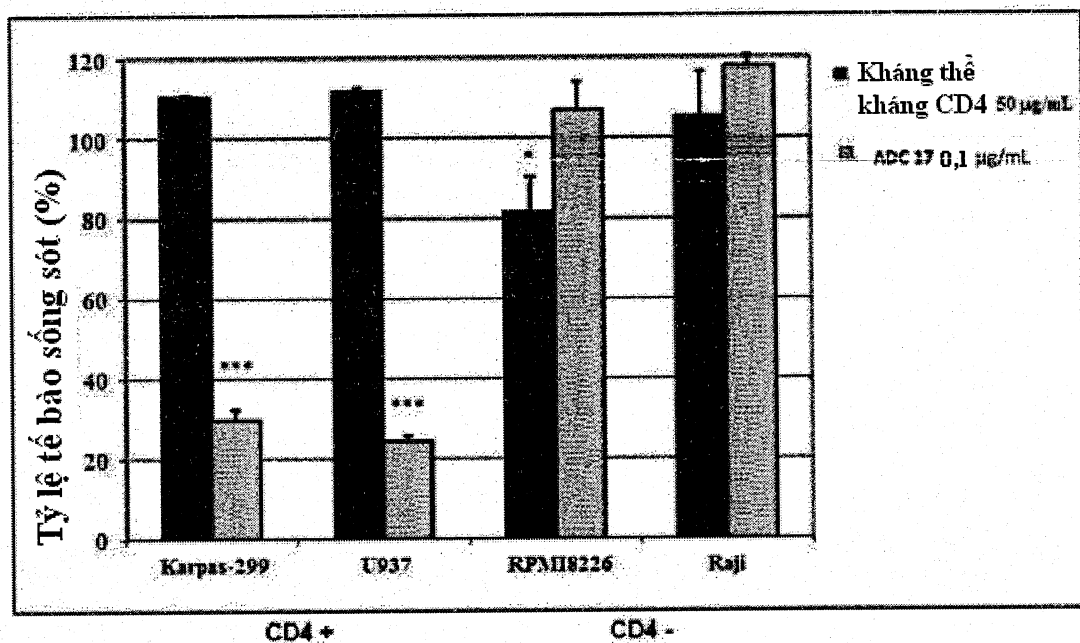
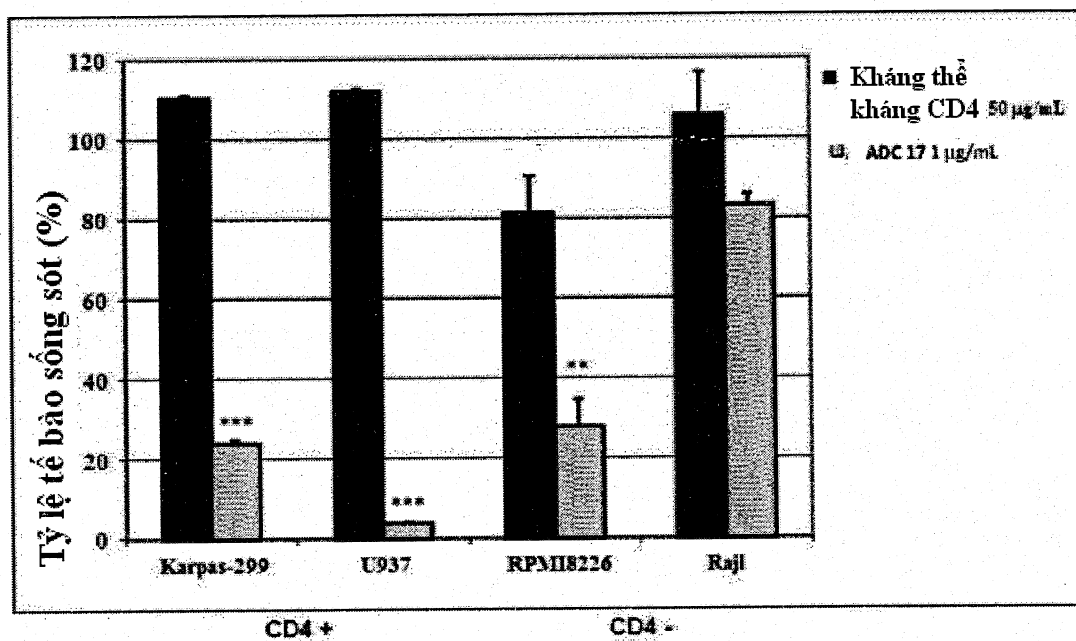
**Fig.31**



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

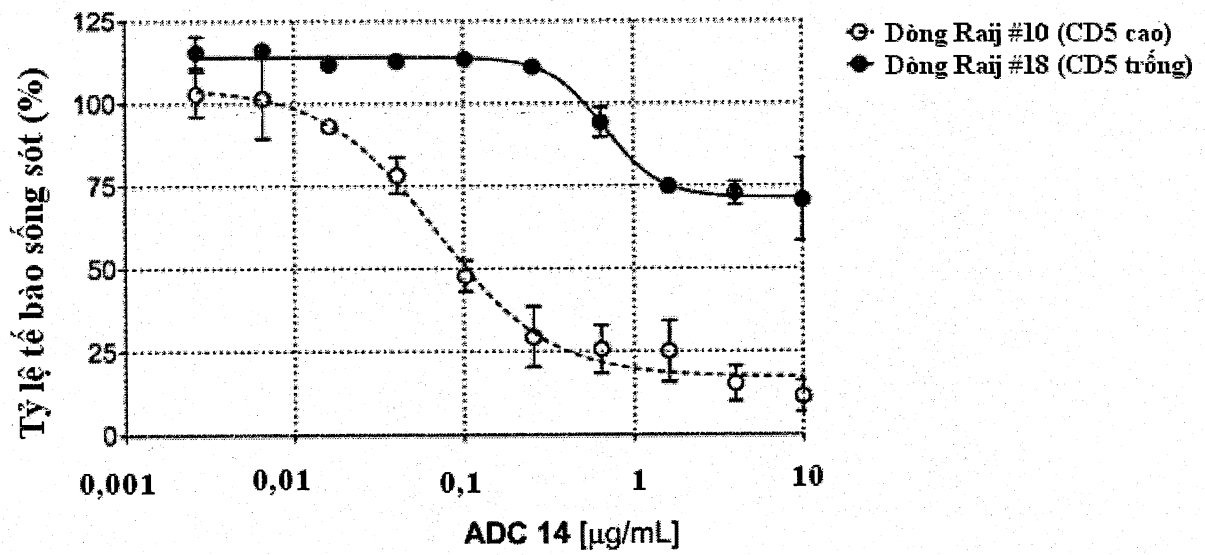
Fig.32

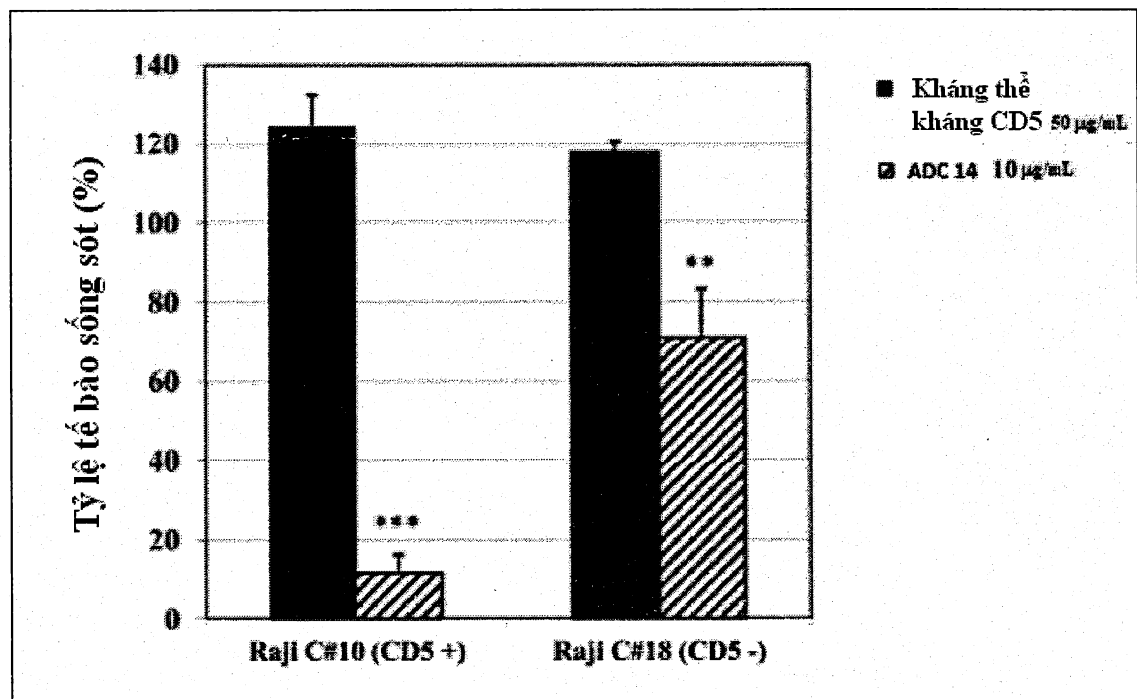
**Fig.33**



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

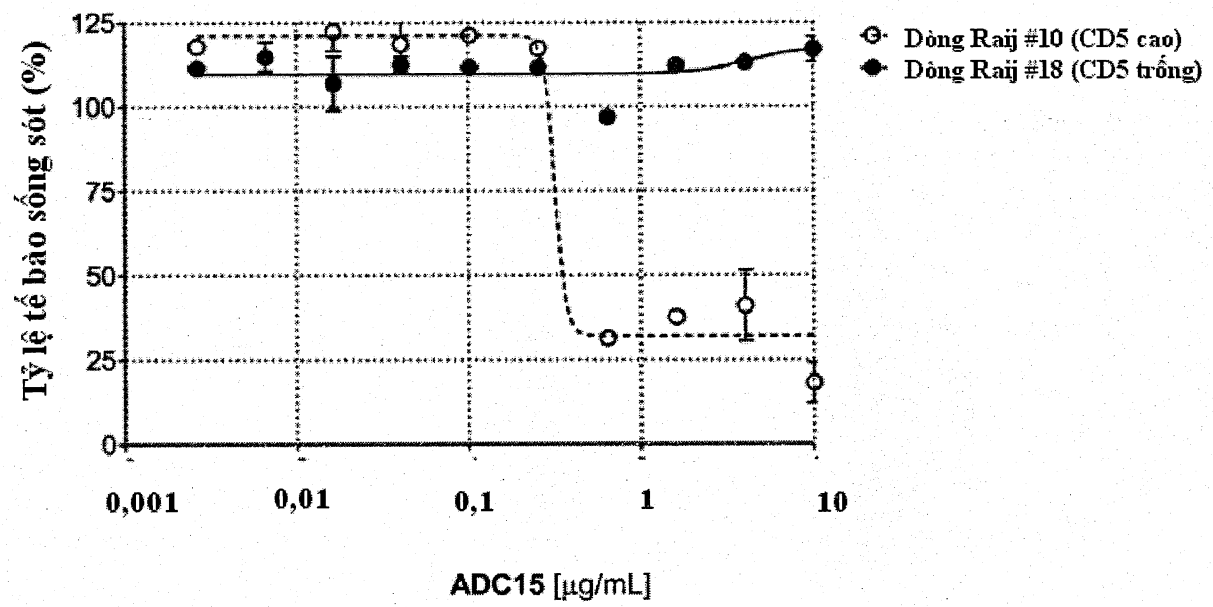
Fig.34

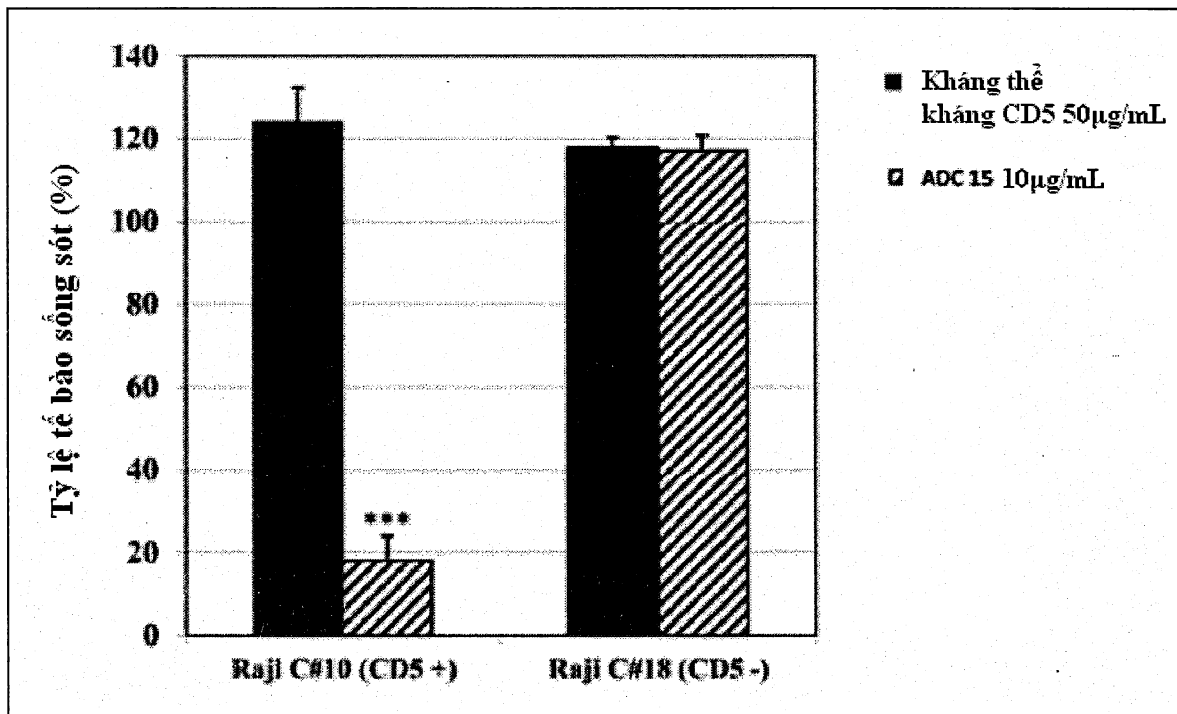
**Fig.35**



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Fig.36

**Fig.37**



Mức có ý nghĩa thống kê (phép kiểm định t student): *** $p < 0,001$

Fig.38