



(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)



1-0027102

(51)⁷ A61K 31/5365; C07D 413/14; A61P 35/00; A61P 37/00; A61K 47/48; A61P 29/00 (13) B

(21) 1-2016-01011

(22) 26/08/2014

(86) PCT/US2014/052757 26/08/2014

(87) WO 2015/031396 05/03/2015

(30) 61/869,954 26/08/2013 US; 61/934,313 31/01/2014 US

(45) 25/01/2021 394

(43) 25/10/2016 343A

(73) REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. (US)

777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, New York 10591-6707, United States of America

(72) NITTOLI, Thomas (US); JAIN, Nareshkumar F. (US); MARKOTAN, Thomas Patrick (US).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT PHÂN TỬ VÒNG LỚN, THỂ LIÊN HỢP KHÁNG THỂ-DƯỢC CHẤT, CHẾ PHẨM, DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY, VÀ QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa chất đồng phân không đối quang phân tử vòng lớn có profin ức chế sự tăng sinh tế bào cải thiện so với chế phẩm tương ứng chứa hỗn hợp các chất đồng phân không đối quang. Sáng chế còn đề cập đến thể liên hợp kháng thể-dược chất được tạo ra bằng cách sử dụng chất đồng phân không đối quang phân tử vòng lớn, và phương pháp điều chế chất đồng phân không đối quang phân tử vòng lớn.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa hợp chất đồng phân không đối quang phân tử vòng lớn có profin ức chế sự tăng sinh tế bào cải thiện so với chế phẩm tương ứng chứa hỗn hợp các chất đồng phân không đối quang. Sáng chế còn đề cập đến các thể liên hợp kháng thể-dược chất được tạo ra bằng cách sử dụng chất đồng phân không đối quang phân tử vòng lớn. Sáng chế còn đề cập đến phương pháp điều chế chất đồng phân không đối quang phân tử vòng lớn và các hợp chất và chế phẩm này để sử dụng trong điều trị y tế.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các bệnh tăng sinh được đặc trưng bởi sự phát triển mất kiểm soát và sự lan rộng các tế bào bất thường. Nếu việc lan rộng của các tế bào bất thường không được kiểm soát thì nó có thể dẫn đến tử vong. Các bệnh tăng sinh, ví dụ bệnh ung thư, có thể được điều trị bằng phẫu thuật, chiếu xạ, hóa trị, liệu pháp dựa trên cơ sở hormon và/hoặc liệu pháp miễn dịch. Nhiều trong số các phương pháp điều trị này, đặc biệt là phương pháp hóa trị, là dựa trên việc sử dụng dược chất chống tăng sinh để hạn chế sự lan rộng của các tế bào bất thường. Tuy nhiên, dược chất chống tăng sinh, thường có khả năng tiêu diệt tế bào không chọn lọc, tác động lên cả tế bào bình thường và tế bào bất thường, chỉ dựa trên việc tế bào có đang sao chép hay không. Bất chấp điều này, hầu hết các dược chất chống tăng sinh đều yêu cầu nồng độ tương đối cao tại nơi có sự tăng sinh tế bào bất thường để mang lại hiệu quả. Sáng chế đề xuất dạng kết hợp của dược chất chống tăng sinh thích hợp ở vị trí có sự phát triển tế bào bất thường mà không làm chết tế bào bình thường theo hệ thống hoặc ở lân cận các tế bào này.

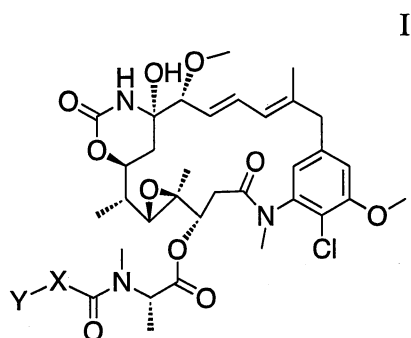
Nhiều phương pháp khác nhau để phân phối dược chất theo đích đã được thử, bao gồm việc sử dụng thể liên hợp của các đoạn dò nhắm đích khối u (như kháng thể hoặc các yếu tố tăng trưởng) với các độc tố như độc tố pseudomonas hoặc bệnh bạch cầu. Theo đó, các thể liên hợp để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư sẽ hướng dược chất

chống tăng sinh đến quần thể tế bào bất thường. Gần đây, các thể liên hợp chứa độc tố maytansin đã được sử dụng để điều trị bệnh ung thư. Maytansin thể hiện hiệu quả cao với vai trò là chất chống tăng sinh nhưng độc tính của nó được chứng minh là gây tác động đến cả tế bào bình thường. Như vậy, có nhu cầu phát triển các thể liên hợp dựa trên maytansin có hoạt tính thích hợp để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư. Thể liên hợp dựa trên maytansin càng hoạt động hoặc càng hiệu quả trong việc ức chế hoặc tiêu diệt quần thể tế bào bất thường, thì nồng độ yêu cầu của thể liên hợp càng thấp, ưu điểm của việc này là làm giảm nguy cơ gây hại toàn phần cho tế bào bình thường.

Nhiều hợp chất chống tăng sinh có cấu trúc không đối xứng, như họ maytansinoit của các phân tử vòng lớn, và do đó, có thể tồn tại ở dạng hỗn hợp triệt quang, ở dạng các chất đồng phân đối ảnh riêng rẽ có cấu hình “R” và “S”, hoặc (+) và (-), với mỗi tâm lập thể, và nhiều chất đồng phân không đối quang khác nhau. Sáng chế chỉ ra rằng việc phân phối nhằm đích của chất đồng phân không đối quang maytansinoit riêng rẽ có profin ức chế sự tăng sinh tế bào được cải thiện hơn so với việc phân phối hỗn hợp các chất đồng phân không đối quang tương ứng của nó. Do đó, các chất đồng phân không đối quang theo phương án được nêu trong bản mô tả có thể được sử dụng để sản xuất các sản phẩm được chất có profin điều trị được cải thiện và có thể hữu ích để sử dụng trong việc điều trị các bệnh và tình trạng bệnh cụ thể, đặc biệt là bệnh ung thư.

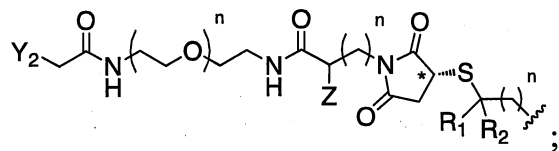
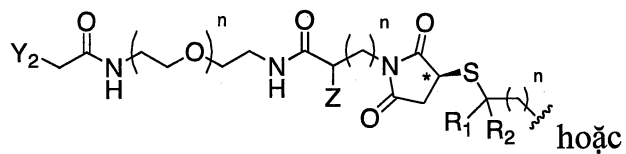
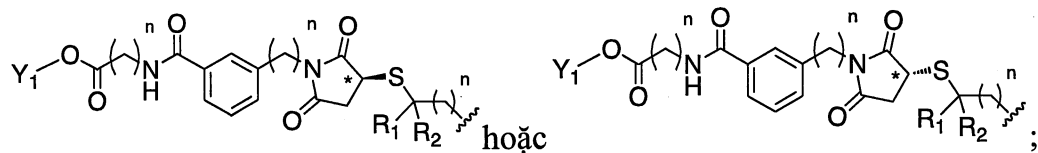
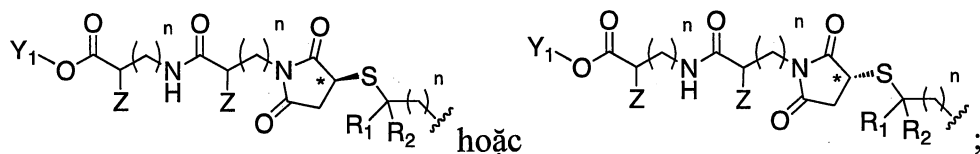
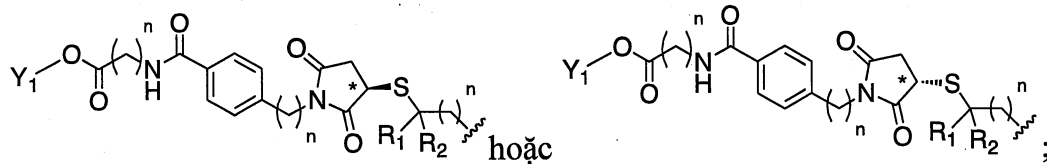
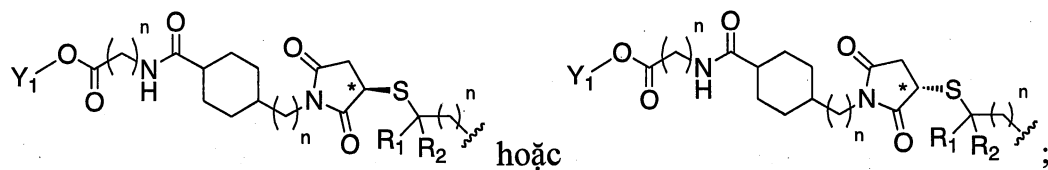
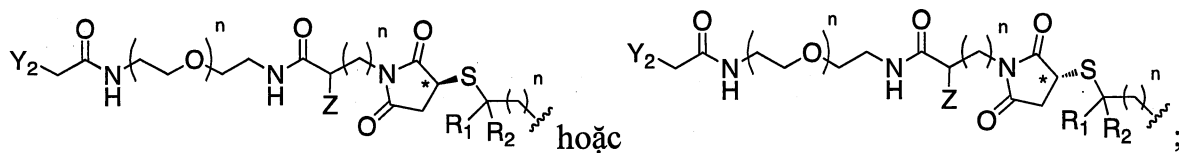
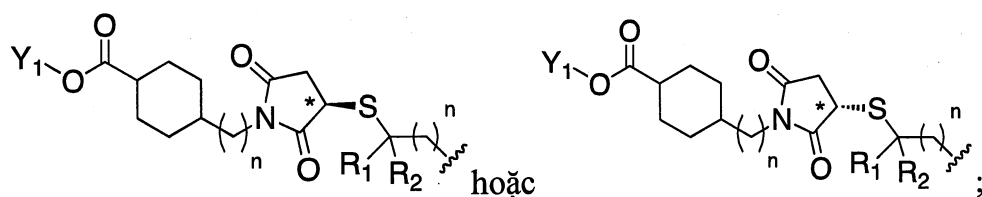
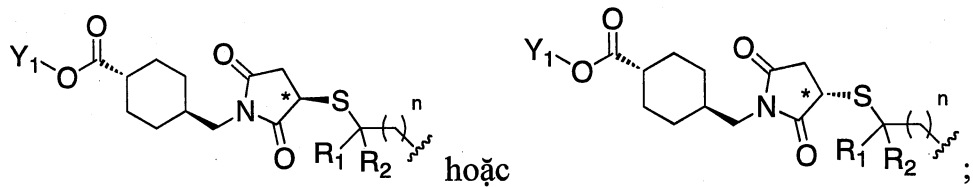
Bản chất kỹ thuật của sáng chế

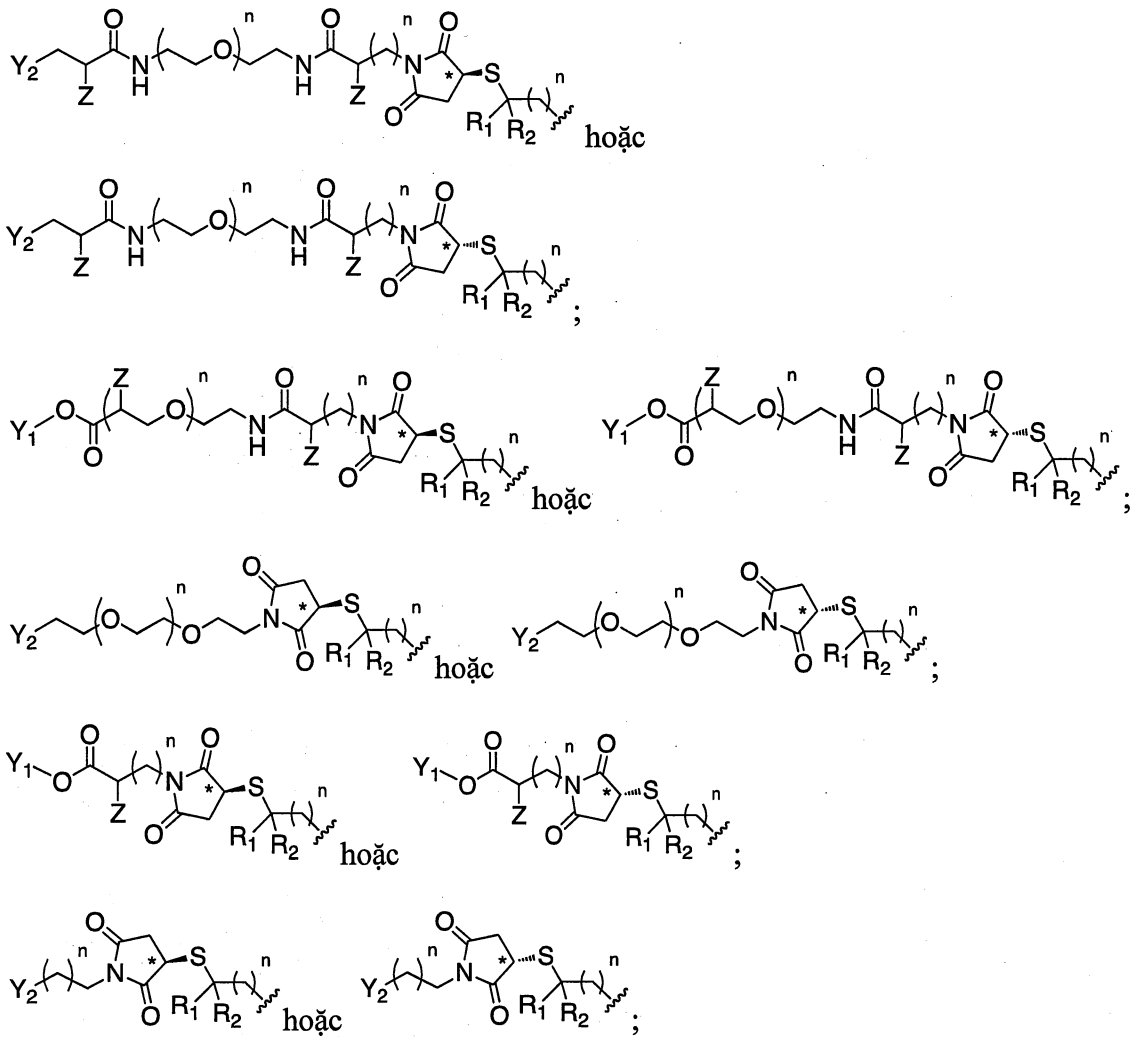
Mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm chứa nhiều phân tử được chất có công thức (I):



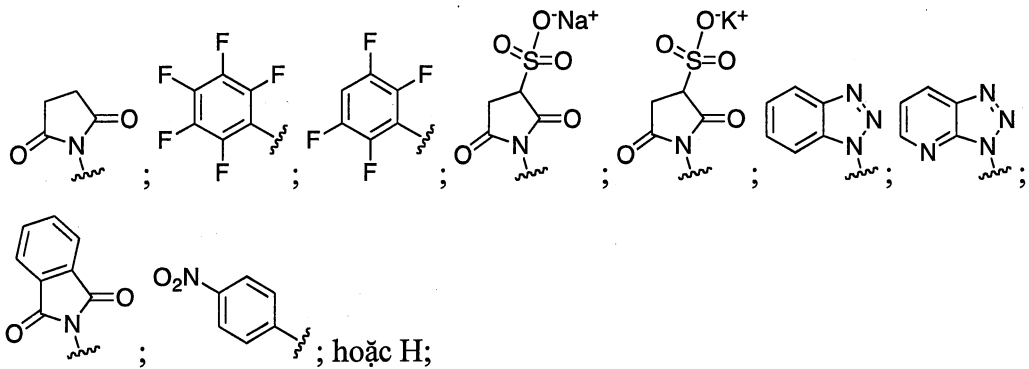
trong đó:

X là





Y là Y_1 hoặc Y_2 , trong đó Y_1 là



Y₂ là -Cl, -Br, -I, hoặc  ;

Z là H hoặc SO_3H ;

R_1 và R_2 độc lập được chọn từ H hoặc alkyl;

mỗi n độc lập là 0 hoặc là số nguyên từ 1 đến 50;

và trong đó các phân tử được chất có mặt trong chế phẩm bao gồm hỗn hợp của ít nhất hai chất đồng phân không đối quang, chất đồng phân không đối quang thứ nhất và chất đồng phân không đối quang thứ hai, trong đó chất đồng phân không đối quang thứ nhất và thứ hai theo cách khác là giống nhau, trừ việc chất đồng phân không đối quang thứ nhất và thứ hai có cấu hình lập thể khác nhau ở cacbon bất đối xứng được biểu diễn bằng dấu (*) trong công thức X, trong đó nguyên tử cacbon bất đối xứng này là nguyên tử cacbon được gắn với nguyên tử lưu huỳnh, và chất đồng phân không đối quang thứ nhất và thứ hai này có mặt ở lượng dư chất đồng phân không đối quang cao hơn 50%.

Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất thể liên hợp kháng thể-được chất được tạo ra bằng cách sử dụng chất đồng phân không đối quang phân tử vòng lớn, và quy trình điều chế chất đồng phân không đối quang phân tử vòng lớn này.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 thể hiện phổ ^1H -NMR của maytansin-3-N-metyl-L-alanin-propanamidyl-3-thio-3-suxinimidyl-N-metylcyclohexyl-4-trans-carboxysuxinat (5). Phổ ^1H -NMR phù hợp với chất đồng phân không đối quang đơn lẻ có mặt ở lượng dư chất đồng phân không đối quang ít nhất là 95% do phổ này không bị làm rối bởi các cộng hưởng có thể tham gia vào chất đồng phân không đối quang khác. (Cho mục đích so sánh, ví dụ 2 đưa ra phổ ^1H -NMR của hỗn hợp các chất đồng phân không đối quang).

Fig. 2 thể hiện phổ ^1H -NMR của hỗn hợp các chất đồng phân không đối quang của maytansin-3-N-metyl-L-alanin-propanamidyl-3-thio-3-suxinimidyl-N-metylcyclohexyl-4-trans-carboxysuxinat (6).

Fig. 3 thể hiện trong tế bào SKBR3, thể liên hợp của hợp chất đồng phân không đối quang đơn lẻ HER2-5 (lô *in vitro* và *in vivo*) có giá trị IC_{50} là 0,3 nM so với 0,9 nM đối với hỗn hợp thể liên hợp chất đồng phân không đối quang HER2-6.

Fig. 4 thể hiện trong tế bào BT474, thể liên hợp của hợp chất đồng phân không đối

quang đơn lẻ HER2-5 (*in vitro*) có giá trị IC_{50} là 4,6 nM trong khi lô HER2-5 (*in vivo*) có giá trị IC_{50} là 4,0 nM so với 11,6 nM đối với hỗn hợp thể liên hợp chất đồng phân không đối quang HER2-6.

Fig. 5 thể hiện trong tế bào NCI-N87, thể liên hợp chất đồng phân không đối quang đơn lẻ HER2-5 (*in vitro*) có giá trị IC_{50} là 0,6 nM trong khi lô HER2-5 (*in vivo*) có giá trị IC_{50} là 0,4 nM so với 1,0 nM đối với hỗn hợp thể liên hợp chất đồng phân không đối quang HER2-6.

Fig. 6 thể hiện trong tế bào HEK293/hEGFRvIII, thể liên hợp của hợp chất đồng phân không đối quang đơn lẻ EGFRvIII-5 có giá trị IC_{50} là 0,4 nM trong khi hỗn hợp thể liên hợp chất đồng phân không đối quang EGFRvIII-6 có giá trị IC_{50} là 0,5 nM.

Fig. 7 thể hiện trong tế bào MMT/hEGFRvIII, thể liên hợp của hợp chất đồng phân không đối quang đơn lẻ EGFRvIII-5 có giá trị IC_{50} là 0,5 nM trong khi hỗn hợp thể liên hợp chất đồng phân không đối quang EGFRvIII-6 có giá trị IC_{50} cao hơn gần 20 lần ở 9,8 nM.

Fig. 8 thể hiện trong tế bào U251/hEGFRvIII, thể liên hợp của hợp chất đồng phân không đối quang đơn lẻ EGFRvIII-5 có giá trị IC_{50} là 2,4 nM trong khi hỗn hợp thể liên hợp chất đồng phân không đối quang EGFRvIII-6 có giá trị IC_{50} là 3,3 nM.

Fig. 9 thể hiện trong tế bào Ovar-3, thể liên hợp của hợp chất đồng phân không đối quang đơn lẻ MUC16-5 có giá trị IC_{50} là 6,3 nM trong khi hỗn hợp thể liên hợp chất đồng phân không đối quang MUC16-6 có giá trị IC_{50} là 16,0 nM.

Fig. 10 thể hiện trong tế bào PC3/MUC16long, thể liên hợp của hợp chất đồng phân không đối quang đơn lẻ MUC16-5 có giá trị IC_{50} là 0,34 nM trong khi hỗn hợp thể liên hợp chất đồng phân không đối quang MUC16-6 có giá trị IC_{50} là 0,80 nM.

Fig. 11 thể hiện đường cong phát triển khối u ở chuột nhắt sau khi cho dùng liều với HER2-5 và chất thử đối chứng. Chuột nhắt nhận chất dẫn thuốc PBS (■), 300ug/kg DM1-SMe (●) và đối chứng isotyp mAb ở 15 mg/kg (▼). Chuột nhắt còn nhận HER2 mAb (▲), HER2-5 (△) và đối chứng isotyp-5 (▽) ở các liều 1mg/kg (A), 5 mg/kg (B) và 15 mg/kg (C). Chuột nhắt nhận 3 liều một lần một tuần thể liên hợp và chất đối chứng

nhu được chỉ bởi các mũi tên màu đen ($\uparrow$. Các nhóm có N = 8, giá trị trung bình $\pm$ SE.).

Fig. 12 thể hiện sự thay đổi thể tích khối u sau khi dùng liệu HER2-5 và chất thử đối chứng khi kết thúc nhóm đối chứng dùng chất dẫn thuốc PBS vào ngày 79 sau khi ghép khối u. Kích thước từng khối u được thể hiện với mỗi nhóm dùng liệu. Các con chuột nhất nhận chất dẫn thuốc PBS (■), 300ug/kg DM1-SMe (●) và đối chứng isotyp mAb ở 15 mg/kg (▼). Chuột nhất cũng nhận HER2 mAb (▲), HER2-5 (△) và đối chứng isotyp-5 (▽) ở các liều 1mg/kg (A), 5 mg/kg (B) và 15 mg/kg (C). Các nhóm có N = 8, giá trị trung bình $\pm$ SD.

Fig. 13 thể hiện phần trăm thay đổi khối lượng của con vật sau khi dùng liệu HER2-5 và chất thử đối chứng. Chuột nhận chất dẫn thuốc PBS (■), 300ug/kg DM1-SMe (●) và đối chứng isotyp mAb ở 15 mg/kg (▼). Chuột còn nhận HER2 mAb (▲), HER2-5 (△) và đối chứng isotyp-5 (▽) ở các liều 1mg/kg (A), 5 mg/kg (B) và 15 mg/kg (C). Chuột nhận 3 liều, một lần một tuần, các thể liên hợp và chất đối chứng như được chỉ bởi các mũi tên màu đen ($\uparrow$. Các nhóm có N = 8, giá trị trung bình $\pm$ SE.).

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo một phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa nhiều phân tử dược chất có công thức I, trong đó n bằng 1, và mỗi R₁ và R₂ độc lập là hydro.

Theo phương án khác, chế phẩm chứa nhiều phân tử dược chất có công thức I có mặt trong chế phẩm ở lượng dư chất đồng phân không đối quang là khoảng 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc nhiều hơn.

Theo phương án nhất định, các phân tử dược chất có công thức I có mặt trong chế phẩm ở lượng dư chất đồng phân không đối quang từ khoảng 90% đến khoảng 100%, hoặc từ khoảng 95% đến khoảng 100%, hoặc từ khoảng 98% đến khoảng 100%.

Theo phương án khác, chế phẩm chứa nhiều phân tử dược chất có công thức I trong đó một trong số ít nhất hai chất đồng phân không đối quang được đặc trưng bởi phổ ¹H NMR thể hiện trên Fig. 1.

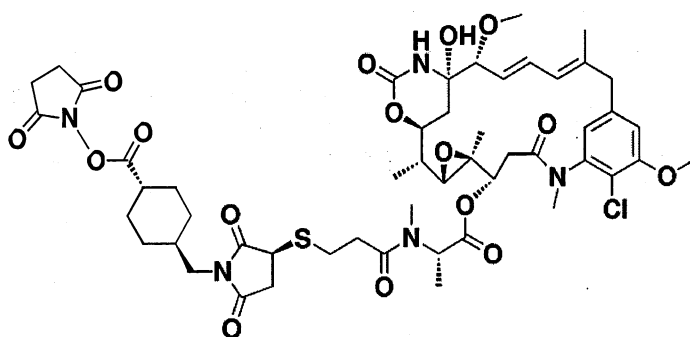
Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ “khoảng”, khi được sử dụng để đề cập đến giá trị số trích dẫn, có nghĩa là giá trị số này có thể thay đổi so với giá trị số được

trích dẫn không quá 1%. Ví dụ, như được sử dụng trong bản mô tả, cách nêu “khoảng 100” bao gồm 99 và 101 và tất cả các giá trị nằm giữa (ví dụ, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, v.v.).

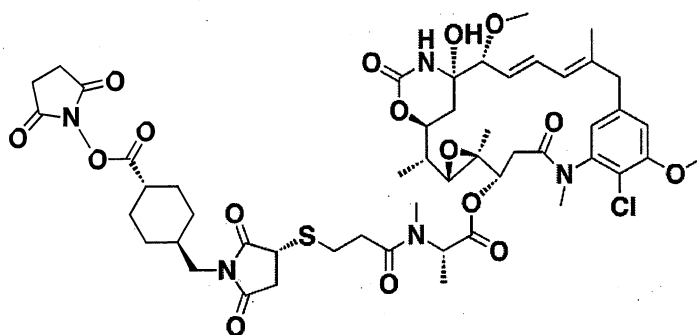
Theo phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa nhiều phân tử dược chất có công thức I trong đó các phân tử dược chất có mặt trong chế phẩm ở lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn 50% và có hoạt tính chống tăng sinh lớn hơn chế phẩm tương ứng chứa phân tử dược chất có công thức I không có mặt ở lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn 50%.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa nhiều phân tử dược chất có công thức I còn chứa lượng có tác dụng điều trị của chất thứ hai hoặc chất bổ sung bao gồm, ví dụ, chất hóa trị liệu, chất chống viêm, chất kháng sinh, và các chất tương tự.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa nhiều phân tử dược chất có công thức I được biểu diễn bằng cấu trúc sau:



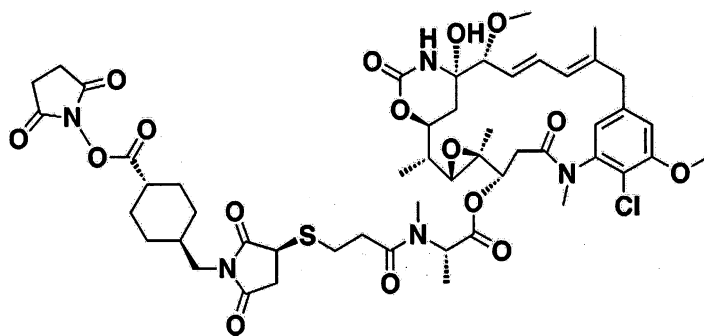
hoặc



hoặc hỗn hợp của chúng

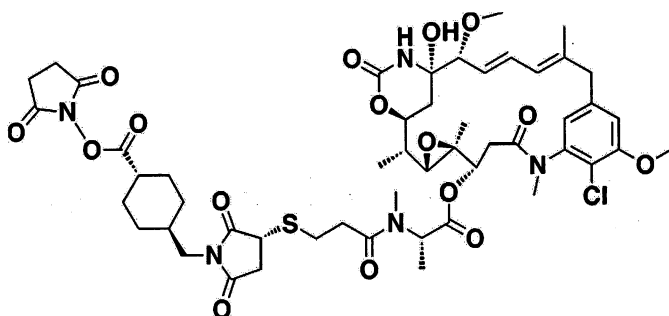
ở lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn 50%.

Theo một phương án, một trong số ít nhất hai đồng phân không đối quang là hợp chất có công thức (i)



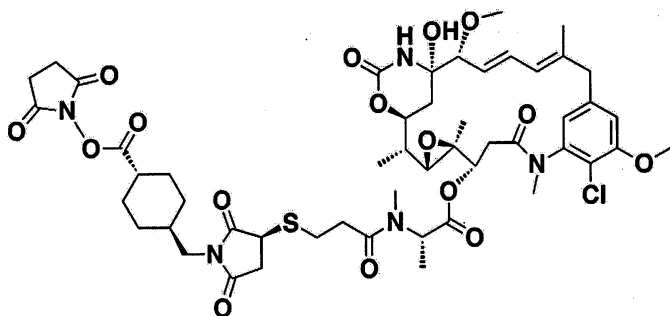
(i).

Theo phương án khác, một trong số ít nhất hai đồng phân không đối quang là hợp chất có công thức (ii)

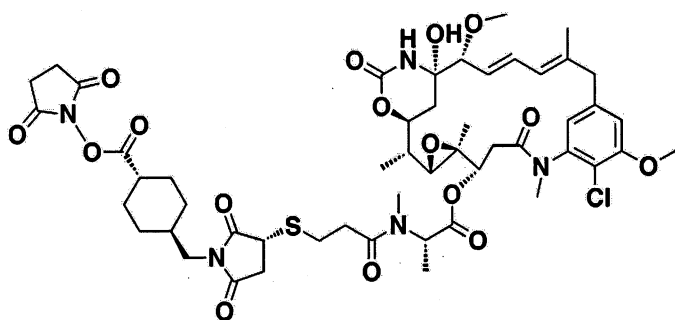


(ii)

Sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức (i) hoặc (ii),



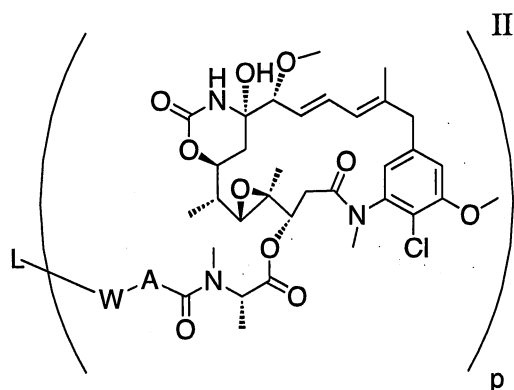
(i)



(ii)

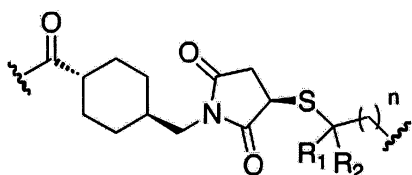
trong đó hợp chất này tinh khiết về mặt đồng phân lập thể.

Sáng chế còn đề xuất chế phẩm chứa nhiều thể liên hợp phối tử-dược chất có công thức (II):

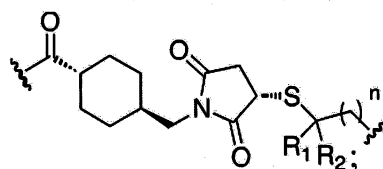


trong đó:

A là



hoặc



W được chọn từ S, O, hoặc NR_3 ;

L là phối tử;

trong đó:

L có khả năng gắn kết với tế bào hoặc quần thể tế bào;

mỗi R_1 , R_2 và R_3 độc lập được chọn từ H hoặc alkyl;

n là 0 hoặc số nguyên từ 1 đến 10;

p là số nguyên từ 1 đến 10;

và trong đó thể liên hợp phối tử-dược chất có mặt trong chế phẩm ở lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn 50%.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa nhiều thể liên hợp phối tử-dược chất có công thức II, trong đó n là 1, và mỗi R_1 và R_2 độc lập là hydro.

Theo một phương án, chế phẩm chứa nhiều thể liên hợp phối tử-dược chất có công thức II có mặt trong chế phẩm ở lượng dư chất đồng phân không đối quang khoảng 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc lớn hơn. Theo phương án nhất định, các phân tử dược chất có công thức II có mặt trong chế phẩm ở lượng dư chất đồng phân không đối quang từ khoảng 90% đến khoảng 100%, hoặc từ khoảng 95% đến khoảng 100%, hoặc từ khoảng 98% đến khoảng 100%.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa nhiều thể liên hợp phối tử-dược chất có công thức II trong chế phẩm ở lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn 50% và có hoạt tính chống tăng sinh cao hơn chế phẩm tương ứng chứa thể liên hợp phối tử-dược chất có công thức II không có mặt ở lượng dư chất đồng phân không đối quang nhiều hơn 50%.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa nhiều thể liên hợp phối tử-dược chất có công thức II, trong đó phối tử là kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó có thể được phát triển để liên kết đặc hiệu với kháng nguyên đi kèm với khối u. Với công thức II, n có thể bằng 1, và mỗi R_1 và R_2 có thể độc lập là hydro.

Theo phương án nhất định, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa nhiều thể liên hợp phối tử-dược chất có công thức II, trong đó phối tử là kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với kháng nguyên đi kèm với khối u, và thể liên hợp phối tử-dược chất có mặt trong chế phẩm ở lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn khoảng 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc lớn hơn.

Theo phương án nhất định, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa nhiều thể liên hợp phối tử-dược chất có công thức II, trong đó kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với kháng nguyên đi kèm với khối u và trong đó kháng nguyên đi kèm với khối u này được chọn từ nhóm bao gồm AFP, ALK, protein BAGE, β -catenin, bcr-abl, BRCA1, BORIS, CA9, cacbonic anhydraza IX, caspaza-8, CD20, CD40, CDK4, CEA, CLEC12A, cMET, CTLA4, xyclin-B1, CYP1B1, EGFR, EGFRvIII, ErbB2/Her2, ErbB3, ErbB4, ETV6-AML, EphA2, Fra-1, FOLR1, protein GAGE (ví dụ, GAGE-1, -2),

GD2, GD3, GloboH, glypican-3, GM3, gp100, Her2, HLA/B-raf, HLA/k-ras, HLA/MAGE-A3, hTERT, IGF1R, LGR5, LMP2, protein MAGE (ví dụ, MAGE-1, -2, -3, -4, -6, và -12), MART-1, mesothelin, ML-IAP, Muc1, Muc16 (CA-125), MUM1, NA17, NY-BR1, NY-BR62, NY-BR85, NY-ESO1, OX40, p15, p53, PAP, PAX3, PAX5, PCTA-1, PDGFR- α , PDGFR- β , PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C, PDGF-D, PLAC1, PRLR, PRAME, PSMA (FOLH1), protein RAGE, Ras, RGS5, Rho, SART-1, SART-3, Steap-1, Steap-2, survivin, TAG-72, TGF- β , TMPRSS2, Tn, TNFRSF17, TRP-1, TRP-2, tyrosinaza, và uroplakin-3.

Theo một vài phương án, kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên có các trình tự axit amin khác so với các kháng thể nêu trên nhưng vẫn giữ lại khả năng liên kết với kháng nguyên đi kèm với khối u xác định. Các kháng thể và mảnh kháng thể biến thể này có thể chứa một hoặc nhiều đoạn bổ sung, đoạn khuyết hoặc đoạn thay thế axit amin so với trình tự gốc, nhưng có hoạt tính sinh học gần như tương tự với hoạt tính của các kháng thể đã nêu.

Hai thể liên hợp được xem là tương đương về mặt sinh học nếu, ví dụ, chúng là dạng tương đương về mặt dược học hoặc dạng thay thế về mặt dược học có tốc độ và mức độ hấp thụ không thể hiện sự khác biệt đáng kể khi được sử dụng ở cùng lượng mol ở các điều kiện thử nghiệm tương tự, hoặc đơn liều hoặc đa liều. Một số thể liên hợp sẽ được xem là dạng tương đương hoặc là dạng thay thế về mặt dược học nếu chúng tương đương ở mức độ hấp thụ của chúng chứ không phải tốc độ hấp thụ của chúng và vẫn có thể được xem là tương đương sinh học vì các khác biệt về tốc độ hấp thụ này là nằm trong dự tính và được phản ánh ở nhãn, không cần thiết phải đạt được nồng độ dược chất cơ thể hiệu quả đối với, ví dụ, việc sử dụng thường xuyên, và được xem là không đáng kể về mặt y học đối với sản phẩm dược chất cụ thể được nghiên cứu.

Theo một phương án, hai thể liên hợp là tương đương sinh học nếu không có khác biệt có ý nghĩa lâm sàng ở mức độ an toàn, độ tinh khiết và hiệu quả của chúng.

Theo một phương án, hai thể liên hợp là tương đương sinh học nếu bệnh nhân có thể chuyển đổi một hoặc nhiều lần giữa sản phẩm tham khảo và sản phẩm sinh học mà không làm tăng nguy cơ về các tác dụng bất lợi có thể có, bao gồm sự thay đổi tính sinh

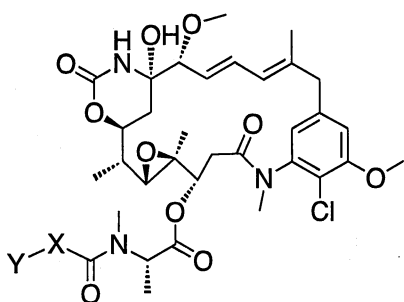
miễn dịch đáng kể về mặt lâm sàng, hoặc hiệu quả bị giảm, so với liệu pháp liên tục không có sự chuyển đổi này.

Theo một phương án, hai thể liên hợp là tương đương sinh học nếu cả hai trong số chúng tác dụng bằng cơ chế hoặc các cơ chế tác dụng thông thường đối với điều kiện hoặc các điều kiện sử dụng, đến mức độ mà cơ chế này đã biết.

Dạng tương đương sinh học có thể được chứng minh bởi các phương pháp *in vivo* và *in vitro*. Các xác định dạng tương đương sinh học bao gồm, ví dụ, (a) thử nghiệm *in vivo* ở người hoặc động vật có vú khác, trong đó nồng độ của thể liên hợp hoặc chất chuyển hóa của nó được xác định trong máu, huyết tương, huyết thanh, hoặc dịch sinh học khác dưới dạng hàm theo thời gian; (b) thử nghiệm *in vitro* có tương quan với và có tính dự đoán hợp lý về các dữ liệu độ sinh khả dụng *in vivo* ở người; (c) thử nghiệm *in vivo* ở người hoặc động vật có vú khác trong đó tác dụng được cấp thích hợp của kháng thể (hoặc đích của nó) được xác định là hàm theo thời gian; và (d) trong thử nghiệm lâm sàng được kiểm soát tốt tạo lập độ an toàn, tính hiệu quả, hoặc độ sinh khả dụng hoặc dạng tương đương sinh học của thể liên hợp.

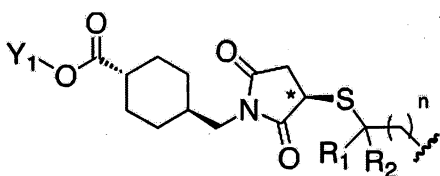
Sáng chế còn đề xuất phương pháp mới để điều chế chế phẩm chứa nhiều phân tử được chất có công thức (I):

I

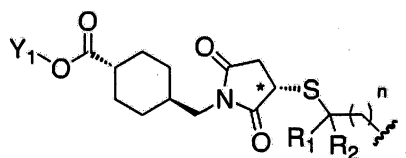


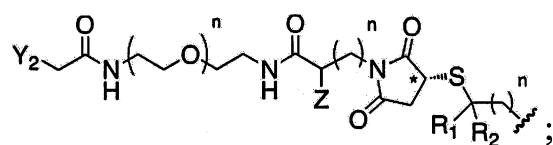
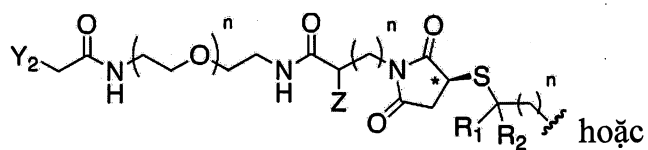
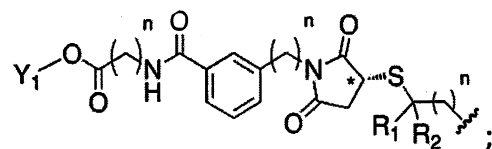
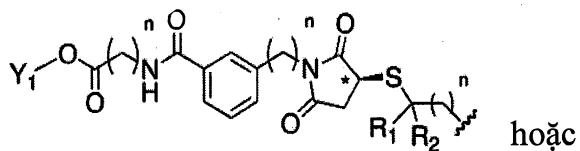
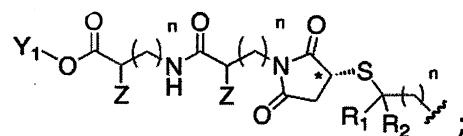
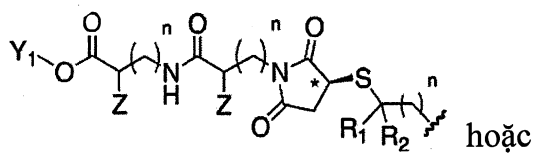
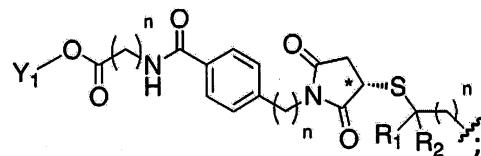
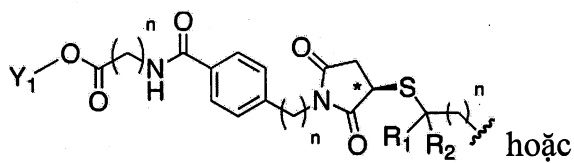
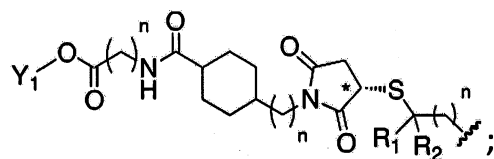
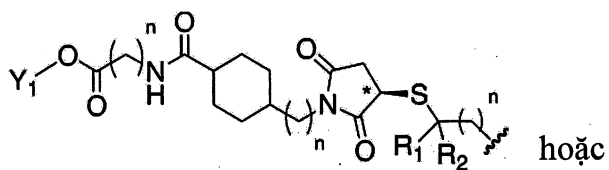
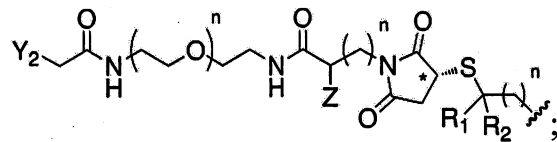
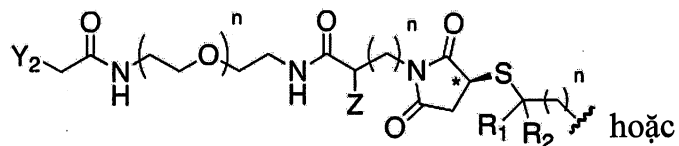
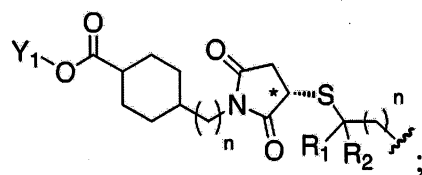
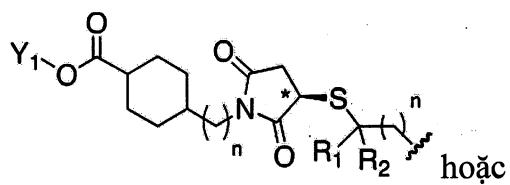
trong đó:

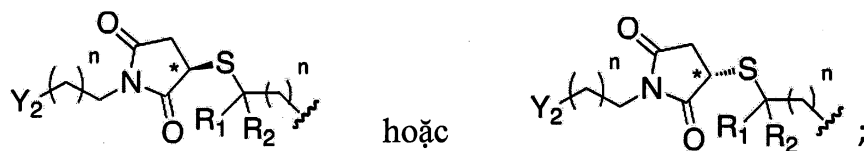
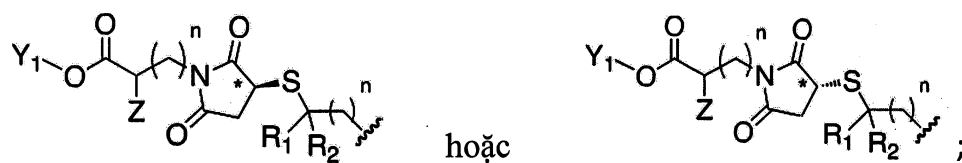
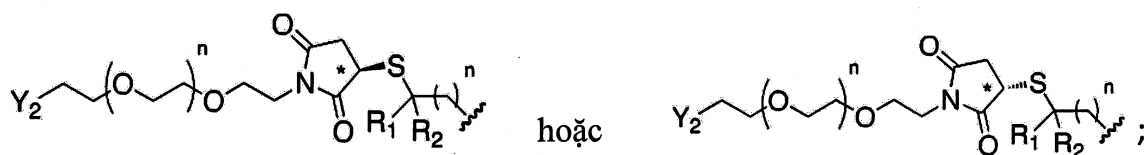
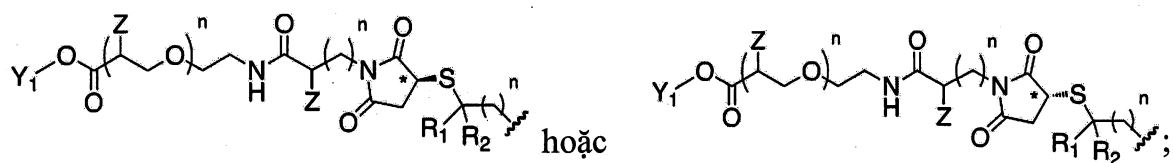
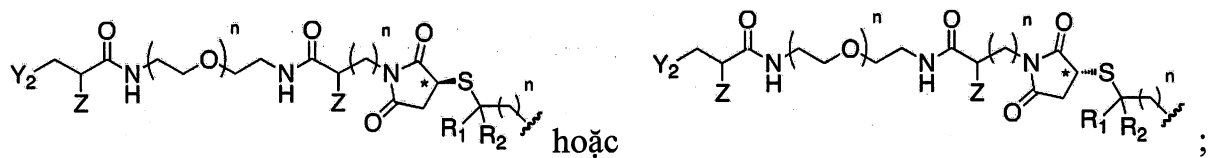
X là



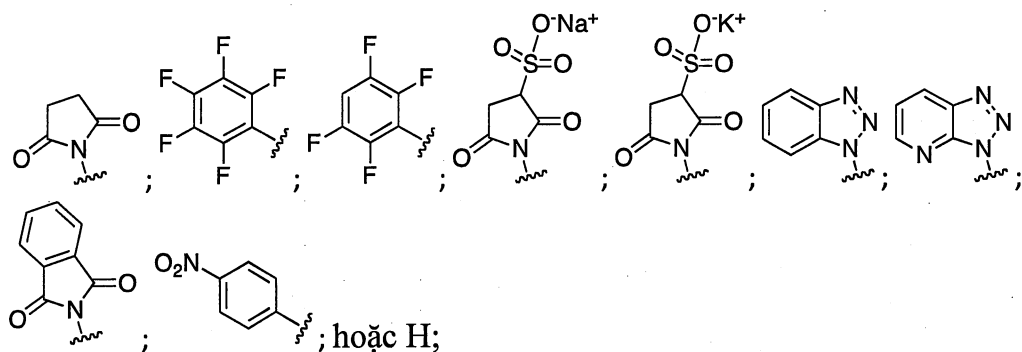
hoặc







Y là Y₁ hoặc Y₂, trong đó Y₁ là



Y₂ là -Cl, -Br, -I hoặc

R₁ và R₂ độc lập được chọn từ H hoặc alkyl;

mỗi n độc lập là 0 hoặc là số nguyên từ 1 đến 50;

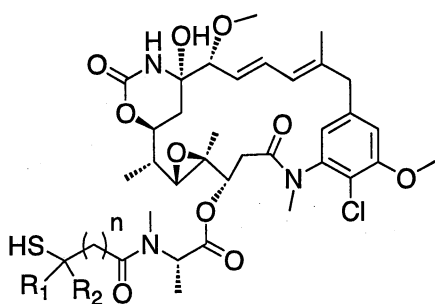
và trong đó các phân tử dược chất có mặt trong chế phẩm chứa hỗn hợp của ít nhất hai chất đồng phân không đối quang, chất đồng phân không đối quang thứ nhất và chất đồng phân không đối quang thứ hai, trong đó chất đồng phân không đối quang thứ nhất và chất đồng phân không đối quang thứ hai theo cách khác là giống nhau, trừ việc chất đồng phân không đối quang thứ nhất và thứ hai này có cấu trúc hóa lập thể ở cacbon bất đối xứng được biểu diễn bằng dấu (*) trong công thức X, trong đó nguyên tử cacbon bất đối xứng đã nói là nguyên tử cacbon được liên kết với nguyên tử lưu huỳnh, và chất đồng phân không đối quang thứ nhất và thứ hai này có mặt ở lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn 50%,

phương pháp này bao gồm bước:

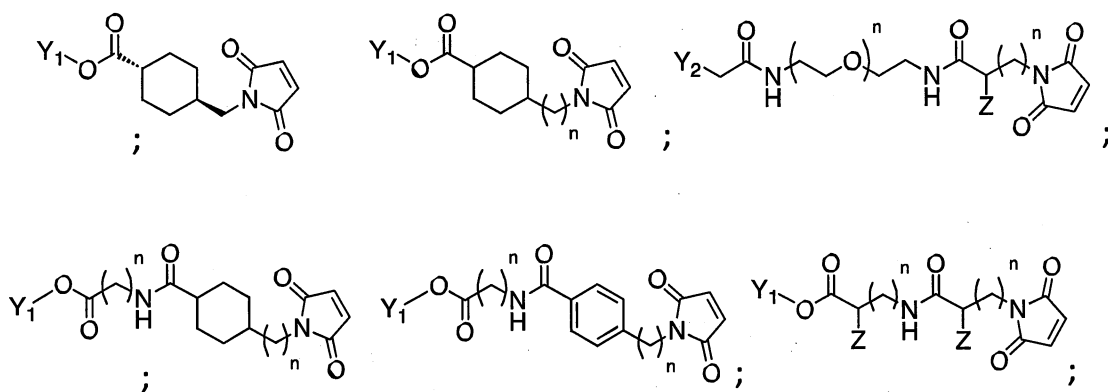
(a) tạo ra hỗn hợp chứa

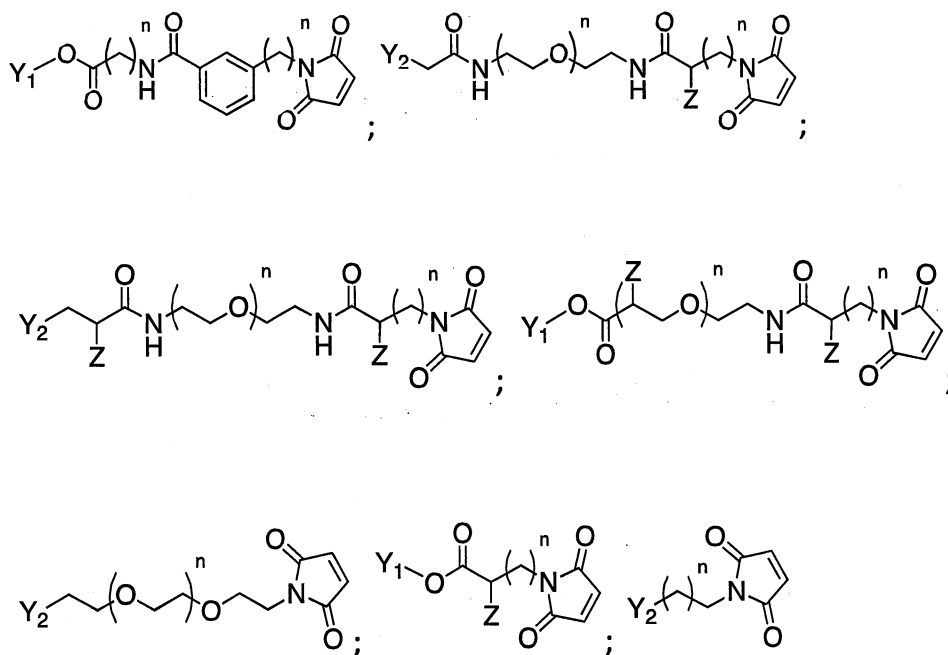
(i) nguyên liệu ban đầu có công thức III:

III

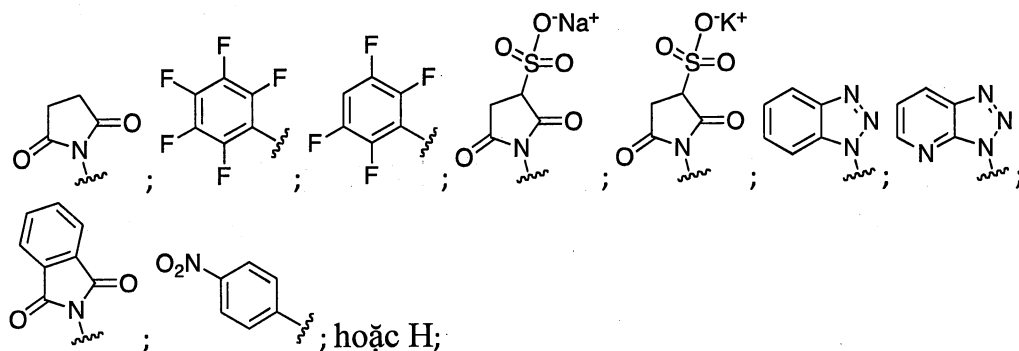


(ii) hợp chất có công thức IV:





Y_1 là



Y_2 là -Cl, -Br, -I, hoặc

Z là H hoặc SO_3H ;

R_1 và R_2 độc lập được chọn từ H hoặc alkyl; và

mỗi n độc lập là 0 hoặc số nguyên từ 1 đến 50;

(iii) dung môi hữu cơ,

(iv) nước, và

(v) cơ chất rắn;

(b) cho hỗn hợp ở bước (a) phản ứng cho đến khi một phần nhất định nguyên liệu ban đầu được chuyển hóa thành hợp chất có công thức I; và

(c) loại bỏ hợp chất thô có công thức I ra khỏi hỗn hợp thu được ở bước (b).

Theo phương án nhất định, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế chế phẩm chứa nhiều phân tử được chất có công thức I, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước (d), trong đó bước (d) gồm việc tinh sạch hợp chất có công thức I thu được ở bước (c) như được nêu ở trên.

Theo phương án nhất định, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế chế phẩm chứa nhiều phân tử được chất có công thức I, trong đó cơ chất rắn được chọn từ nhóm bao gồm gel silica, xelit, nhôm oxit, zeolit, và rây phân tử nghiền. Các cơ chất rắn tương tự khác cũng có thể được sử dụng miễn là cơ chất rắn này cho phép sắp đặt phù hợp phân tử vòng lớn III để cho phép bổ sung maleimit IV chọn lọc về mặt lập thể.

Theo phương án nhất định, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế chế phẩm chứa nhiều phân tử được chất có công thức I, trong đó n là 1, và mỗi R_1 và R_2 độc lập là hydro.

Theo phương án nhất định, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế chế phẩm chứa nhiều phân tử được chất có công thức I, trong đó dung môi hữu cơ bao gồm dung môi không proton phân cực như DMF, DMA, HMPT, NMP, axetonitril, dioxan, axeton, DMSO, THF, etyl axetat, metyl axetat, metylen clorua, propylen cacbonat hoặc hỗn hợp của chúng.

Theo phương án nhất định, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế chế phẩm chứa nhiều phân tử được chất có công thức I, trong đó dung môi không proton phân cực gồm axetonitril.

Theo phương án nhất định, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế chế phẩm chứa nhiều phân tử được chất có công thức I, trong đó dung môi hữu cơ và nước có mặt với tỷ lệ từ khoảng 1:1 đến khoảng 4:1 hoặc từ khoảng 1:1 đến khoảng 10:1.

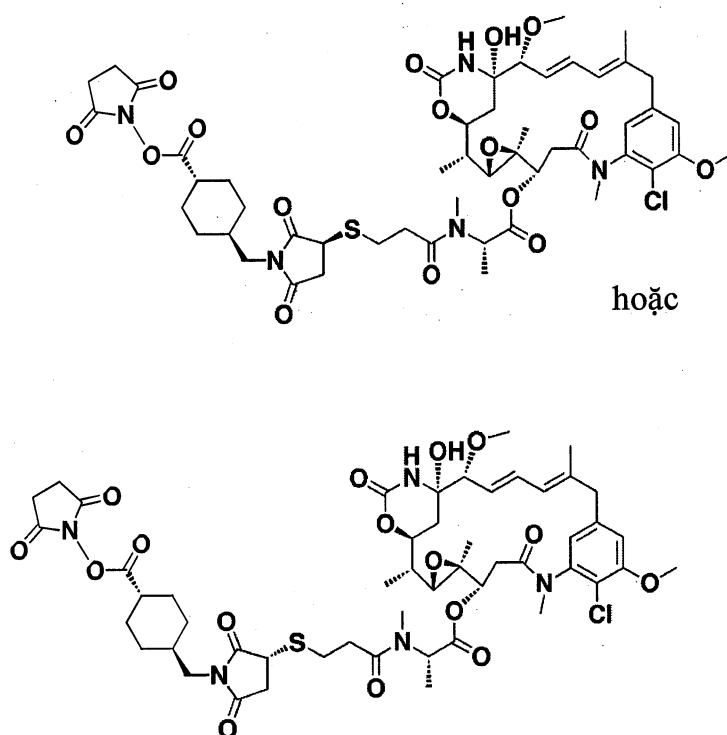
Theo phương án nhất định, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế chế phẩm chứa nhiều phân tử được chất có công thức I, trong đó tỷ lệ mol giữa nguyên liệu ban đầu có công thức III với hợp chất có công thức IV là từ khoảng 1:1 đến khoảng 1:3.

Theo phương án nhất định, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế chế phẩm chứa nhiều phân tử dược chất có công thức I, còn bao gồm bước kết hợp hợp chất có công thức I với kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó để tạo ra thể liên hợp kháng thể-dược chất.

Theo phương án nhất định, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế chế phẩm chứa nhiều phân tử dược chất có công thức I, trong đó hợp chất có công thức I được gắn với kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên thông qua S, O, hoặc NR_3 .

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế chế phẩm chứa nhiều phân tử dược chất có công thức I, trong đó các phân tử dược chất có công thức I có mặt trong chế phẩm ở lượng dư chất đồng phân không đối quang là khoảng 60% 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc lớn hơn.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế chế phẩm chứa nhiều phân tử dược chất có công thức I được biểu diễn bởi cấu trúc sau:



ở lượng dư chọn lọc đồng phân không đối quang lớn hơn 50%. Mặc dù các phương pháp lấy làm ví dụ nhất định để bào chế chế phẩm theo sáng chế được nêu trong các ví dụ thực hiện trong bản mô tả, các phương pháp khác cũng được bao gồm trong phạm vi của sáng

chế như, ví dụ, tách bằng sắc ký hỗn hợp triet quang hoặc hỗn hợp các chất đồng phân không đối quang (ví dụ, HPLC trên pha tĩnh thông thường, đảo hoặc bất đối xứng bằng cách sử dụng hỗn hợp dung môi không proton phân cực, v.v.).

Sáng chế còn đề cập đến chế phẩm trong đó nhiều phân tử dược chất có công thức I, hoặc thể liên hợp phối tử-dược chất có công thức II, có trong chế phẩm ở lượng có tác dụng điều trị, và còn chứa chất pha loãng, chất mang hoặc tá dược được dụng.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa nhiều phân tử dược chất có công thức II còn chứa lượng có tác dụng điều trị của chất hóa trị liệu thứ hai.

Theo nhiều phương án, chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I) và/hoặc (II) theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều hợp chất hoặc liệu pháp bổ sung. Phương pháp đồng sử dụng và liệu pháp kết hợp không bị giới hạn ở việc sử dụng đồng thời, riêng rẽ hoặc cùng nhau, mà còn bao gồm các sử dụng tuần tự.

Liệu pháp kết hợp bao gồm việc sử dụng chế phẩm liều lượng được đơn chứa chế phẩm chứa một hoặc nhiều hợp chất có công thức (I) và/hoặc (II) và một hoặc nhiều chất trị liệu khác; cũng như sử dụng chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I) và/hoặc (II) theo sáng chế và một hoặc nhiều chất bổ sung trong chế phẩm liều lượng được lý riêng rẽ của riêng nó. Ví dụ, có thể cho bệnh nhân sử dụng chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I) và/hoặc (II) và, chất gây độc tế bào, chất hóa trị liệu, hoặc chất ức chế sự phát triển cùng nhau trong chế phẩm liều đơn như chế phẩm kết hợp, hoặc mỗi chất có thể được sử dụng trong chế phẩm liều riêng rẽ. Trường hợp chế phẩm liều riêng rẽ được sử dụng, chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I) và/hoặc (II) và một hoặc nhiều chất bổ sung có thể được sử dụng đồng thời, hoặc riêng rẽ ở các thời điểm xen kẽ, nghĩa là, tuần tự.

Ví dụ không giới hạn về các chất trị liệu bổ sung bao gồm chất ức chế xytokin (ví dụ, chất ức chế intơlokin-1 (IL-1) (như rilonacept hoặc anakinra, chất đối kháng IL-1 phân tử nhỏ, hoặc kháng thể kháng IL-1); chất ức chế IL-18 (như chất đối kháng IL-18 phân tử nhỏ hoặc kháng thể kháng IL-18); chất ức chế IL-4 (như chất đối kháng IL-4 phân tử nhỏ, kháng thể kháng IL-4 hoặc kháng thể kháng thụ thể IL-4); chất ức chế IL-6 (như chất đối kháng IL-6 phân tử nhỏ, kháng thể kháng IL-6 hoặc kháng thể kháng thụ thể IL-6); aspirin; NSAID; steroid (ví dụ, prednison, methotrexat, v.v.); cyclosporin A

liều thấp; yếu tố hoại tử khối u (TNF) hoặc chất ức chế thụ thể TNF (ví dụ, chất đối kháng TNF hoặc TNFR phân tử nhỏ hoặc kháng thể kháng TNF hoặc TNFR); chất ức chế quá trình tổng hợp axit uric (ví dụ, allopurinol); chất thúc đẩy sự tiết axit uric (ví dụ, probenecid, sulfinpyrazon, benzbromaron, v.v.); các chất ức chế chống viêm khác (ví dụ, chất ức chế của caspaza-1, p38, IKK1/2, CTLA-4Ig, v.v.); và/hoặc các corticosteroid. (Các) chất trị liệu bổ sung có thể được sử dụng trước, đồng thời với, hoặc sau khi sử dụng một hoặc nhiều hợp chất có công thức (I) và/hoặc (II) (cho mục đích của sáng chế, các chế độ sử dụng này được xem là sử dụng một hoặc nhiều hợp chất có công thức (I) và/hoặc (II) "kết hợp với" chất trị liệu).

Thuật ngữ “chất gây độc tế bào” như được sử dụng trong bản mô tả chỉ chất ức chế hoặc ngăn chặn chức năng của tế bào và/hoặc làm phá hủy tế bào. Thuật ngữ được dự định để bao gồm các chất đồng vị có hoạt tính phóng xạ (ví dụ, I^{131} , I^{125} , Y^{90} và Re^{186}), chất hóa trị liệu, và độc tố như độc tố có hoạt tính enzym có nguồn gốc từ vi khuẩn, nấm, thực vật hoặc động vật, hoặc các phần của nó.

“Chất hóa trị liệu” là hóa chất hữu ích để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư. Ví dụ về chất hóa trị liệu bao gồm chất alkyl hóa như thiotepa và xyclophosphamid (CYTOXAN®); các alkyl sulfonat như busulfan, improsulfan và piposulfan; các aziridin như benzodopa, carboquon, meturedopa, và uredopa; các etylenimin và metylamelamin bao gồm altretamin, trietylenmelamin, trietylenphosphoramit, trietylenthiophosphoramit và trimetylolomelamin; mù tạt nitơ như clorambucil, clornaphazin, cholophosphamid, estramustin, ifosfamid, mecloretamin, mecloretamin oxit hydroclorua, melphalan, novembichin, phenesterin, prednimustin, trofosfamid, mù tạt uraxil; nitrosure như carmustin, clorozotocin, fotemustin, lomustin, nimustin, ranimustin; dược chất kháng sinh như aclacinomysin, actinomycin, anthramycin, azaserin, bleomycin, cactinomycin, calicheamixin, carabixin, carminomycin, carzinophilin, chromomycin, dactinomycin, daunorubixin, detorubixin, 6-diazo-5-oxo-L-norleuxin, doxorubixin, epirubixin, esorubixin, idarubixin, marcellomycin, mitomycin, axit mycophenolic, nogalamycin, olivomycin, peplomycin, potfiromycin, puromycin, quelamycin, rodorubixin, streptonigrin, streptozocin, tubercidin, ubenimex, zinostatin, zorubixin; chất chống chuyển hóa như metotrexat và 5-florouraxil (5-FU); chất tương tự axit folic như

denopterin, metotrexat, pteropterin, trimetrexat; chất tương tự purin như fludarabin, 6-mercaptapurin, thiamiprin, thioguanin; chất tương tự pyrimidin như ancitabin, azacitidin, 6-azauridin, carmofur, cytarabin, dideoxyuridin, doxifluridin, enocitabin, floxuridin; các androgen như calusteron, dromostanolon propionat, epitiostanol, mepitiostan, testolacton; chất kháng adrenal như aminoglutethimit, mitotan, trilostan; chất độn axit folic như axit frolinic; axeglaton; aldophosphamit glycosit; axit aminolevulinic; amsacrin; bestrabuxil; bisantren; edatraxat; defofamin; demecolcin; diaziqun; elfornithin; eliptini axetat; etoglucid; gali nitrat; hydroxyure; lentinan; lonidamin; mitoguazon; mitoxantron; mopidamol; nitracrin; pentostatin; phenamet; pirarubixin; axit podophyllinic; 2-etylhydrazit; procarbazin; PSK®; razoxan; sizofiran; spirogermani; axit tenuazonic; triaziqun; 2,2',2''- triclotrietylamin; uretan; vindesin; dacarbazin; mannomustin; mitobronitol; mitolactol; pipobroman; gacytosin; arabinosit ("Ara-C"); xyclophosphamit; thiotepa; các taxan, ví dụ, paclitaxel (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.) và docetaxel (TAXOTERE®; Aventis Antony, France); clorambuxil; gemcitabin; 6-thioguanin; mercaptapurin; metotrexat; chất tương tự platin như cisplatin và carboplatin; vinblastin; platin; etoposit (VP-16); ifosfamid; mitomycin C; mitoxantron; vincristin; vinorelbin; navelbin; novantron; teniposit; daunomycin; aminopterin; xeloda; ibandronat; CPT-11; chất ức chế topoisomeraza RFS 2000; diflometylornithin (DMFO); axit retinoic; esperamixin; capecitabin; và muối được dùng, axit hoặc dẫn xuất của chất bất kỳ trong số các chất trên. Cũng được bao gồm trong định nghĩa này là chất kháng hormon có tác dụng điều tiết hoặc ức chế tác dụng của hormon lên khối u như chất kháng estrogen bao gồm ví dụ tamoxifen, raloxifen, 4(5)-imidazol ức chế aromataza, 4-hydroxytamoxifen, trioxifen, keoxifen, LY 117018, onapriston, và toremifen (Fareston); và chất kháng androgen như flutamid, nilutamit, bicalutamit, leuprolide, và goserelin; và muối được dùng, axit hoặc dẫn xuất của chất bất kỳ trong số các chất nêu trên.

“Chất ức chế sự phát triển” khi được sử dụng trong bản mô tả chỉ hợp chất hoặc chế phẩm ức chế sự phát triển của tế bào, cụ thể là tế bào ung thư *in vitro* hoặc *in vivo*. Ví dụ về chất ức chế sự phát triển bao gồm các chất phong bế chu trình tế bào (ở vị trí khác pha S), như chất cảm ứng bắt giữ G1 và bắt giữ pha M. Chất phong bế pha M điển hình bao gồm vincas (vincristin và vinblastin), TAXOL®, và chất ức chế topo II như

doxorubixin, epirubixin, daunorubixin, etoposit, và bleomycin. Các chất bắt giữ G1 này cũng tràn sang bắt giữ pha S, ví dụ, chất alkyl hóa ADN như tamoxifen, prednison, dacarbazin, meclorothamin, cisplatin, methotrexat, 5-florouraxil, và ara-C.

Sáng chế còn đề xuất dược phẩm. Dược phẩm này chứa lượng có tác dụng điều trị của chất hoạt tính và chất mang dược dụng. Thuật ngữ “dược dụng” nghĩa là được chấp thuận bởi cơ quan chức năng của Liên bang Hoa Kỳ hoặc chính phủ bang Hoa Kỳ hoặc được liệt kê trong Dược điển của Mỹ hoặc dược điển đã biết khác để sử dụng cho động vật, và cụ thể hơn là cho người. Thuật ngữ “chất mang” chỉ chất pha loãng, chất hỗ trợ, tá dược, hoặc chất dẫn thuốc được sử dụng trong trị liệu. Các chất mang dược lý này có thể là chất lỏng vô trùng, như nước và dầu, bao gồm các chất có nguồn gốc từ dầu hỏa, động vật, thực vật hoặc được tổng hợp, như dầu lạc, dầu đậu nành, dầu khoáng, dầu vừng và chất tương tự. Tá dược dược lý thích hợp bao gồm tinh bột, glucoza, lactoza, sucroza, gelatin, mạch nha, lúa, bột mỳ, đá phấn, silica gel, natri stearat, glyxerol monostearat, bột đá tan, natri clorua, sữa tách kem được sấy khô, glyxerol, propylen, glycol, nước, etanol và chất tương tự. Dược phẩm, nếu muốn, còn có thể chứa lượng nhỏ chất thẩm ướt hoặc chất nhũ hóa, hoặc chất đệm pH. Dược phẩm này có thể ở dạng dung dịch, hỗn dịch, nhũ tương, viên nén, viên tròn, viên nang, bột, chế phẩm giải phóng kéo dài và dạng tương tự. Dược phẩm có thể được tạo chế phẩm ở dạng thuốc đạn, với chất gắn kết và chất mang thông thường như triglyxerit. Dược phẩm dùng đường miệng có thể bao gồm chất mang chuẩn như manitol, lactoza, tinh bột, magie stearat, natri saccharin, xenuloza, magie cacbonat, v.v. ở cấp độ dược lý. Ví dụ về chất mang dược lý thích hợp được nêu trong “Remington's Pharmaceutical Sciences” bởi E.W. Martin.

Theo một phương án, chế phẩm được tạo chế phẩm theo quy trình thông thường ở dạng dược phẩm được làm cho phù hợp để sử dụng qua đường tĩnh mạch cho người. Nếu cần thiết, chế phẩm cũng có thể bao gồm chất làm tan và gây mê cục bộ như lidocain để làm dịu cơn đau tại vị trí tiêm. Trường hợp chế phẩm cần được sử dụng bằng cách truyền, nó có thể được phân phối bằng chai truyền chứa nước hoặc nước muối dược lý vô trùng. Trường hợp chế phẩm được sử dụng bằng cách tiêm, ămpun chứa nước hoặc nước muối vô trùng để tiêm có thể được cung cấp sao cho các thành phần này có thể được trộn trước khi sử dụng.

Chất hoạt tính theo sáng chế có thể được tạo chế phẩm ở dạng trung tính hoặc dạng muối. Muối được dụng bao gồm các muối được tạo ra từ nhóm amin tự do như các muối thu được từ axit clohydric, phosphoric, axetic, oxalic, tartaric, v.v., và các muối được tạo ra từ nhóm carboxyl tự do như các muối thu được từ natri, kali, amoni, canxi, sắt hydroxit, isopropylamin, trietylamin, 2-etylamin ethanol, histidin, procain, v.v.

Lượng chất hoạt tính theo sáng chế, mà sẽ có hiệu quả trong điều trị tình trạng bệnh lý, có thể được xác định bằng kỹ thuật lâm sàng tiêu chuẩn dựa trên mô tả của sáng chế. Ngoài ra, các thử nghiệm *in vitro* có thể tùy ý được sử dụng để giúp nhận biết khoảng liều lượng tối ưu. Liều chính xác cần sử dụng trong chế phẩm cũng sẽ phụ thuộc vào con đường sử dụng, và mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh, và cần được quyết định theo ý kiến của bác sĩ và từng trường hợp của đối tượng. Tuy nhiên, khoảng liều lượng thích hợp để dùng qua đường tĩnh mạch thường là từ khoảng 0,5 đến 20 mg hoạt chất với mỗi kg trọng lượng cơ thể. Khoảng liều lượng thích hợp để dùng qua đường trong mũi thường là từ khoảng 0,01 pg/kg trọng lượng cơ thể đến 1 mg/kg trọng lượng cơ thể. Liều hiệu quả có thể được ngoại suy từ đường cong liều-đáp ứng thu được từ hệ thử nghiệm *in vitro* hoặc ở mẫu động vật.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) và/hoặc (II) để sử dụng trong điều trị rối loạn sức khỏe ở cá thể bị rối loạn sức khỏe này bao gồm việc cho cá thể sử dụng lượng hiệu quả của chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I) và/hoặc (II) này, và còn bao gồm bước sử dụng lần lượt hoặc đồng thời liệu pháp bổ sung hoặc sử dụng ít nhất một chất trị liệu bổ sung.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I) và/hoặc (II) để sử dụng trong điều trị bệnh nhạy với việc điều trị bằng phương pháp này, bao gồm việc cho bệnh nhân có nhu cầu sử dụng chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I) và/hoặc (II) này theo đường ngoài đường tiêu hóa.

Sáng chế còn bao gồm chế phẩm bất kỳ trong số các chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I), công thức (II), công thức (i), công thức (ii), hoặc tổ hợp của chúng và/hoặc được phẩm chứa chúng trong sản xuất dược chất để sử dụng trong điều trị, ngăn ngừa và/hoặc cải thiện rối loạn sức khỏe.

Sáng chế còn bao gồm chế phẩm bất kỳ trong số các chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I), công thức (II), công thức (i), công thức (ii), hoặc tổ hợp của chúng và/hoặc được phẩm chứa chúng trong sản xuất dược chất để sử dụng trong điều trị, ngăn ngừa và/hoặc cải thiện khối u.

Mặc dù các phương án của sáng chế được mô tả chủ yếu là liên quan đến các rối loạn chống tăng sinh như bệnh ung thư, được thấy rằng chế phẩm theo sáng chế còn có thể hữu ích để sử dụng trong điều trị rối loạn sức khỏe được chọn từ các bệnh tự miễn và các bệnh và rối loạn chức năng miễn dịch khác, bệnh viêm, bệnh lây nhiễm, bệnh thoái hóa thần kinh, các rối loạn ở xương, và bệnh tim mạch. Ngoài ra, rối loạn bất kỳ mà có thể có lợi từ việc phân phối chất gây độc nhằm đích các tế bào, loại tế bào, mô và/hoặc cơ quan cụ thể cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Cuối cùng, các phương án theo sáng chế có thể bao gồm chế phẩm chứa hỗn hợp các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I) và công thức (II).

Việc viện dẫn đến các phương án nhất định được thực hiện theo mô tả dưới đây chỉ được xem là minh họa cho các nguyên lý của sáng chế. Ngoài ra, vì nhiều cải biến và thay đổi sẽ được hiểu dễ dàng với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, không được dự định để làm giới hạn sáng chế ở các cấu trúc và quy trình trích dẫn được thể hiện trong bản mô tả này. Do đó, tất cả các cải biến thích hợp và dạng tương đương có thể được phân loại là nằm trong phạm vi của sáng chế và được xác định bởi các điểm yêu cầu bảo hộ dưới đây.

Các thuật ngữ “chứa” và “bao gồm” khi được sử dụng trong bản mô tả và trong các yêu cầu bảo hộ được dự định để chỉ ra sự có mặt của các dấu hiệu, số nguyên, thành phần hoặc bước đã quy định, nhưng chúng không loại trừ sự có mặt hoặc bổ sung của một hoặc nhiều dấu hiệu, số nguyên, thành phần hoặc bước khác của nó.

Các thuật ngữ chung được sử dụng trong phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế có thể được xác định như dưới đây; tuy nhiên, định nghĩa được nói đến không nên được hiểu là làm giới hạn phạm vi của thuật ngữ về bản chất.

Thuật ngữ “thể liên hợp” như được sử dụng trong bản mô tả chỉ hợp chất có phối

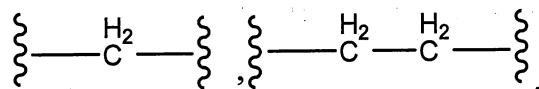
tử, thành phần liên kết và phân tử có hoạt tính sinh học. Ví dụ minh họa bao gồm hợp chất có công thức (II).

Thuật ngữ “vùng đệm” như được sử dụng trong bản mô tả chỉ các khối cấu trúc hóa học của thành phần liên kết được sử dụng để tách phối tử về mặt không gian khỏi phân tử có hoạt tính sinh học và cho phép di hóa thành phần liên kết bên trong tế bào.

Thuật ngữ “phân tử vòng lớn” như được sử dụng trong bản mô tả chỉ phân tử có hoạt tính sinh học bất kỳ có vòng phân tử vòng lớn.

Ký hiệu $\sim$ là điểm gắn.

Thuật ngữ "alkyl" như được sử dụng trong bản mô tả chỉ gốc hydrocarbon có mạch thẳng hoặc phân nhánh hoặc dạng kết hợp của chúng. Các gốc alkyl có thể có hóa trị một, hóa trị hai hoặc là gốc dạng vòng. Các ví dụ về gốc alkyl hóa trị một là metyl, etyl, 1-propyl, 2-propyl, n-butyl, isobutyl, sec-butyl, t-butyl, pentyl, neopentyl, hexyl, isoheptyl, và các gốc tương tự. Các ví dụ minh họa về gốc alkyl hóa trị hai bao gồm



Ví dụ về gốc alkyl dạng vòng bao gồm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl, và các gốc tương tự. Gốc alkyl điển hình có từ một đến mười nguyên tử cacbon, một đến chín nguyên tử cacbon, một đến tám nguyên tử cacbon, một đến bảy nguyên tử cacbon, một đến sáu nguyên tử cacbon, một đến năm nguyên tử cacbon, một đến bốn nguyên tử cacbon, một đến ba nguyên tử cacbon, một đến hai nguyên tử cacbon hoặc một nguyên tử cacbon. Xycloalkyl điển hình là gốc vòng dạng vòng đơn có 3 đến 7 cạnh.

Cụm từ “muối được dụng” như được sử dụng trong bản mô tả chỉ cả muối hữu cơ và vô cơ của hợp chất liên hợp được nêu trong bản mô tả, ví dụ, hợp chất có công thức (I), và (II). Các muối này là được dụng và bao gồm: muối sulfat, xitrat, nitrat, phosphat, ascorbat, bromua, gluconat, benzoat, oxalat, pantothenat, và muối tương tự. Lưu ý rằng muối được dụng trong bản mô tả bao gồm nhiều hơn một nguyên tử mang điện tích trong cấu trúc của nó cũng như một hoặc nhiều ion đối. Việc điều chế hợp chất liên hợp trong bản mô tả ở dạng muối được dụng là đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh

vực này.

Thuật ngữ "phối tử" như được sử dụng trong bản mô tả có nghĩa là phân tử hoặc hợp chất bất kỳ tương tác và/hoặc liên kết đặc hiệu hoặc chọn lọc với phân tử hoặc hợp chất thứ hai. Theo phương án nhất định, phối tử là kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó. Ví dụ khác về các phối tử thích hợp để sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế bao gồm, ví dụ, aptame, peptit tương tác đặc hiệu với kháng nguyên cụ thể (ví dụ, peptibody), phân tử thụ thể, và giàn liên kết kháng nguyên (ví dụ, DARPin, protein lắp HEAT, protein lắp ARM, protein lắp tetratricopeptit, và các giàn khác dựa vào các protein lắp có trong tự nhiên, v.v., [xem, ví dụ, Boersma và Pluckthun, 2011, *Curr. Opin. Biotechnol.* 22:849-857, và các tài liệu tham khảo được trích dẫn trong đó]).

Kháng thể tồn tại ở dạng các globulin miễn dịch nguyên vẹn, hoặc ở dạng nhiều đoạn đã được mô tả rõ được tạo ra bởi sự phân hủy bằng nhiều peptidaza khác nhau. Ví dụ, pepsin phân hủy kháng thể nằm dưới liên kết disulfua trong vùng bản lề để tạo ra $F(ab)_2'$, dimer của Fab mà bản thân nó là chuỗi nhẹ kết hợp với V_H-C_H bởi liên kết disulfua. $F(ab)_2'$ có thể được khử trong điều kiện ôn hòa để phá vỡ liên kết disulfua trong vùng bản lề, nhờ đó chuyển hóa dimer $F(ab)_2'$ thành monome Fab'. Monome Fab' về bản chất là Fab có một phần của vùng bản lề. Mặc dù nhiều mảnh kháng thể khác nhau được xác định theo sự phân hủy kháng thể nguyên vẹn, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực hiểu được rằng các mảnh này có thể được tổng hợp lại bằng hóa học hoặc bằng cách sử dụng phương pháp ADN tái tổ hợp. Do đó, thuật ngữ kháng thể, như được sử dụng trong bản mô tả, còn bao gồm mảnh kháng thể được tạo ra bằng cách cải biến toàn bộ kháng thể, hoặc các kháng thể được tổng hợp lại bằng cách sử dụng phương pháp ADN tái tổ hợp (ví dụ, miền biến đổi đơn (Dab) của chuỗi đơn Fv (scFv)) hoặc các mảnh kháng thể được nhận diện bằng cách sử dụng thư viện biểu hiện như thể thực khuẩn, *E. coli* hoặc nấm men (xem, ví dụ, McCafferty et al. (1990) *Nature* 348:552-554).

Phương pháp bào chế kháng thể là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Xem, ví dụ, Kohler & Milstein (1975) *Nature* 256:495-497; Harlow & Lane (1988) *Antibodies: a Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Lab., Cold Spring Harbor, N.Y.). Kháng thể được phân lập từ các sinh vật không phải người, như chuột nhắt, chuột cống, thỏ, bò, có

thể được làm cho giống của người hơn nhờ vào việc tạo thể khảm hoặc làm cho giống như của người.

Thuật ngữ “kháng thể của người” như được sử dụng trong bản mô tả được dự định để bao gồm kháng thể có vùng biến đổi và vùng cố định thu được từ trình tự globulin miễn dịch của người. mAb của người theo sáng chế có thể bao gồm các gốc axit amin không được mã hóa bởi trình tự globulin miễn dịch của người (ví dụ, các đột biến được đưa vào bằng cách gây đột biến ngẫu nhiên hoặc đột biến đặc hiệu vị trí *in vitro* hoặc bằng đột biến thể xoma *in vivo*), ví dụ trong các CDR và cụ thể là CDR3. Tuy nhiên, thuật ngữ “kháng thể của người”, như được sử dụng trong bản mô tả, không được dự định bao gồm các mAb trong đó trình tự CDR thu được từ dòng mầm của loài động vật có vú khác được ghép lên trình tự FR của người.

Thuật ngữ “lượng có tác dụng điều trị” như được sử dụng trong bản mô tả chỉ lượng tạo ra hiệu quả mong muốn tại đó nó được sử dụng. Lượng chính xác sẽ phụ thuộc vào mục đích điều trị, và người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ xác định được bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết (xem, ví dụ, Lloyd (1999) *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding*).

Thuật ngữ “chất triệt quang” như được sử dụng trong bản mô tả có nghĩa là hỗn hợp đẳng mol của cặp đồng phân đối ảnh. Thuật ngữ chất triệt quang còn chỉ hỗn hợp triệt quang.

Thuật ngữ “chất đồng phân đối ảnh” như được sử dụng trong bản mô tả chỉ hợp chất không chồng khít với các hình ảnh gương của nhau. Chất đồng phân đối ảnh có thể tồn tại ở cấu trúc (R) hoặc (S).

Thuật ngữ “tổng hợp chọn lọc về mặt lập thể” chỉ phản ứng hóa học dẫn đến sự tạo thành chất đồng phân lập thể đơn hoặc hỗn hợp giàu chất đồng phân đối ảnh từ trong số hai hoặc nhiều chất đồng phân lập thể có thể có.

Thuật ngữ “lượng dư chất đồng phân không đối quang” chỉ sự khác nhau giữa phần mol của chất đồng phân không đối quang đơn lẻ mong muốn so với chất đồng phân không đối quang còn lại trong chế phẩm. Lượng dư chất đồng phân không đối quang

được tính như sau:

(lượng chất đồng phân không đối quang đơn lẻ)-(lượng các chất đồng phân không đối quang khác)/1

Ví dụ, chế phẩm chứa 90% là 1 và 10% là 2, 3, 4, hoặc hỗn hợp của chúng có lượng dư chất đồng phân không đối quang là 80% $[(90-10)/1]$. Chế phẩm chứa 95% là 1 và 5% là 2, 3, 4, hoặc hỗn hợp của chúng có lượng dư chất đồng phân không đối quang là 90% $[(95-5)/1]$. Chế phẩm chứa 99% là 1 và 1% là 2, 3, 4, hoặc hỗn hợp của chúng có lượng dư chất đồng phân không đối quang là 98% $[(99-1)/1]$. Lượng dư chất đồng phân không đối quang có thể được tính toán tương tự đối với bất kỳ một trong số 1, 2, 3, hoặc 4.

Thuật ngữ “tinh khiết về mặt đồng phân lập thể” như được sử dụng trong bản mô tả chỉ hợp chất trong đó chất đồng phân lập thể chỉ định có mặt ở mức độ lớn hơn so với các chất đồng phân lập thể khác của hợp chất đó, ví dụ, hợp chất này có mặt ở lượng dư chất đồng phân không đối quang. Theo một vài phương án, hợp chất tinh khiết về mặt đồng phân lập thể được nêu trong bản mô tả chứa 80% hoặc lớn hơn, 85% hoặc lớn hơn, 90% hoặc lớn hơn, 95% hoặc lớn hơn, hoặc 97% hoặc lớn hơn theo khối lượng một chất đồng phân lập thể của hợp chất.

Các thể liên hợp theo nhiều phương án khác nhau được nêu trong bản mô tả có thể được điều chế theo phương pháp đã biết bất kỳ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Quy trình minh họa để tạo ra các thể liên hợp được đề xuất trong các ví dụ thực hiện sáng chế dưới đây.

Theo một phương án, các thể liên hợp có thể được điều chế bằng cách i) cho phối tử phản ứng với phân tử được chất có công thức (I) để tạo ra thể liên hợp có công thức (II), và ii) tinh sạch thể liên hợp này.

Theo phương án thay thế, các thể liên hợp được điều chế bằng cách cho phối tử, thành phần liên kết và phân tử vòng lớn có hoạt tính sinh học phản ứng với nhau trong một phản ứng. Khi các thể liên hợp theo sáng chế được điều chế, chúng có thể được tinh sạch.

Theo một phương án, chế phẩm chứa phân tử dược chất có công thức (I) và/hoặc chế phẩm chứa hợp chất liên hợp có công thức (II) được nêu trong bản mô tả có thể được đánh giá khả năng ức chế sự tăng sinh của nhiều dòng tế bào ung thư *in vitro* khác nhau. Ví dụ, chế phẩm chứa phân tử dược chất hoặc công thức (I) và/hoặc chế phẩm chứa hợp chất liên hợp có công thức (II) có thể được sử dụng để bọc tế bào ung thư *in vitro* trong số ngày định trước và tế bào sống sót được xác định trong các thử nghiệm bằng các phương pháp đã biết.

Phần mô tả trên đây, các ví dụ thực hiện sáng chế và các số liệu sẽ đưa ra mô tả hoàn chỉnh về quy trình sản xuất và sử dụng chế phẩm theo sáng chế. Vì nhiều phương án theo sáng chế có thể được thực hiện mà không vượt ra ngoài phạm vi của sáng chế, sáng chế nằm trong các yêu cầu bảo hộ được đính kèm dưới đây.

Tất cả các tài liệu tham khảo được trích dẫn trong bản mô tả và trong các ví dụ thực hiện sáng chế, bao gồm các patent, các đơn sáng chế đã công bố, và các tài liệu tham khảo, được kết hợp bằng cách viện dẫn.

Phần mô tả và các ví dụ thực hiện sáng chế được trình bày dưới đây được đưa ra để minh họa cho sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu được rằng các ví dụ được đưa ra chỉ nhằm minh họa và không được bao gồm cho mục đích làm giới hạn sáng chế.

Các phương án được bộc lộ trong bản mô tả được minh họa chi tiết hơn bởi các ví dụ không giới hạn được mô tả dưới đây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Chi tiết thử nghiệm

Phổ NMR proton (cho các hợp chất có thể phát hiện được bằng UV) thu được bằng dụng cụ Varian Inova 300 MHz, trong khi phổ khối lượng được thu thập trên LC/MSD xêri Agilent 1100 với nguồn ion hóa phun điện tử và thiết bị phân tích bắt ion bốn cực. Tất cả các thể liên hợp được phân tích bằng cách sử dụng máy đo phổ khối lượng Bruker ultraFleXtreme MALDI-TOF-TOF. Tất cả các nguyên liệu ban đầu và dung môi được mua trên thị trường và được sử dụng không cần tinh sạch trừ khi được lưu

ý khác.

Ví dụ 1

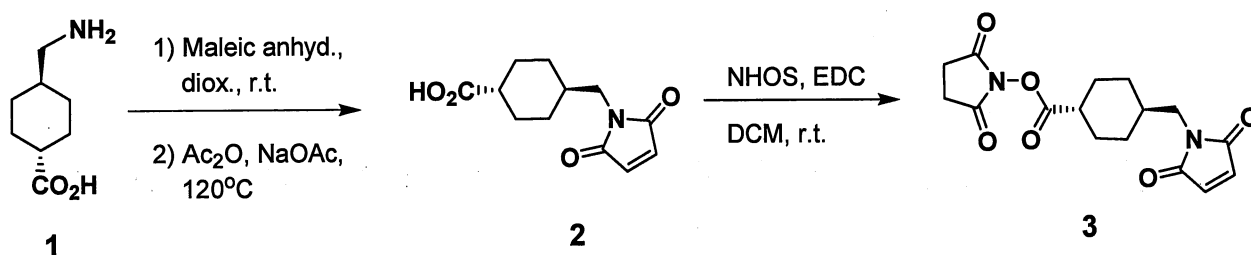
Tổng hợp maleimidylmetyl-4-trans-xyclohexylcarboxy-suxinat (3): axit maleimidylmetyl-4-trans-xyclohexancarboxylic (2): Hợp chất nêu trong tiêu đề được điều chế trong hai bước (Bước A và Bước B) bằng cách sử dụng các phiên bản cải biến của các phương pháp được mô tả bởi Marnett et al. (*J. Med. Chem.*, 1996, 39, 1692-1670).

Bước A: dung dịch chứa axit *trans*-4-aminometylxcyclohexan carboxylic (7,00 g, 44,5 mmol) trong 1,4-dioxan (70 mL) được xử lý với maleic anhydrit (4,89 g, 49,9 mmol) và được khuấy ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong 48 giờ. Phản ứng được làm bay hơi trong chân không đến khi thu được chất rắn màu trắng mà có thể được bảo quản hoặc được tiến hành cho bước tiếp theo mà không cần tinh sạch thêm. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 9,11 (m, 1H), 6,44 (d, 1H, $J = 13$ Hz), 6,24 (d, 1H, $J = 13$ Hz), 3,05 (t, 2H, $J = 6$ Hz), 2,13 (tt, 1H, $J = 12$ Hz, 4 Hz), 1,90 (m, 2H), 1,75 (m, 2H), 1,44 (m, 1H), 1,28 (m, 2H), 0,96 (m, 2H).

Bước B: axit maleamic từ Bước A (36,8 g, 144 mmol) và natri axetat (13,6 g, 165 mmol) được hòa tan trong axetic anhydrit (368 mL), được bịt kín trong bình phản ứng thủy tinh, và gia nhiệt đến 120°C trong 3 giờ. Rót hỗn hợp phản ứng đã được làm nguội (sirô màu đen) lên trên nước (3 L), khuấy, và chiết bằng diclometan. Lớp hữu cơ được làm khô trên Na_2SO_4 , được lọc qua phễu thủy tinh đã được nung kết, và dịch lọc trong được làm bay hơi và được làm khô ở môi trường có độ chân không cao tạo ra hợp chất nêu trong tiêu đề ở dạng chất rắn màu vàng (7,00 g, 20%), ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6,73 (s, 2H), 3,40 (d, 2H, $J = 7$ Hz), 2,28 (m, 1H), 2,06 (m, 2H), 1,75 (m, 3H), 1,42 (m, 2H), 1,03 (m, 2H).

Maleimidylmetyl-4-trans-xyclohexancarboxysuxinat (3): sản phẩm từ bước B trước đó (10,0 g, 42,1 mmol) được hòa tan trong diclometan (50 mL) trong môi trường Ar, được xử lý bằng N-hydroxysuxinimit (7,27 g, 63,2 mmol) và 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimit hydroclorua (EDAC, 12,4 g, 64,5 mmol), và phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường qua đêm. Dung dịch màu nâu thu được được pha loãng bằng diclometan, rửa bằng nước và nước muối biển, làm khô trên Na_2SO_4 , lọc qua

phễu thủy tinh đã được nung kết, và dịch lọc được cô đặc và được làm khô trong chân không. Sau đó, sản phẩm này được hòa tan trong etyl axetat nóng, được xử lý bằng than hoạt tính (1,5 g), được lọc, và dịch lọc được làm nguội. Quá trình lọc sản phẩm kết tinh, rửa bằng etyl axetat lạnh, và sau đó làm khô thấm hút tạo ra hợp chất nêu trong tiêu đề ở dạng chất rắn màu nâu vàng (5,52 g, 39%). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6,72 (s, 2H), 3,42 (m, 2H), 2,85 (br s, 4H), 2,56 (tt, 1H, $J = 12$ Hz, 4 Hz), 2,18 (m, 2H), 1,80 (m, 2H), 1,70 (m, 1H), 1,56 (m, 2H), 1,09 (m, 2H).

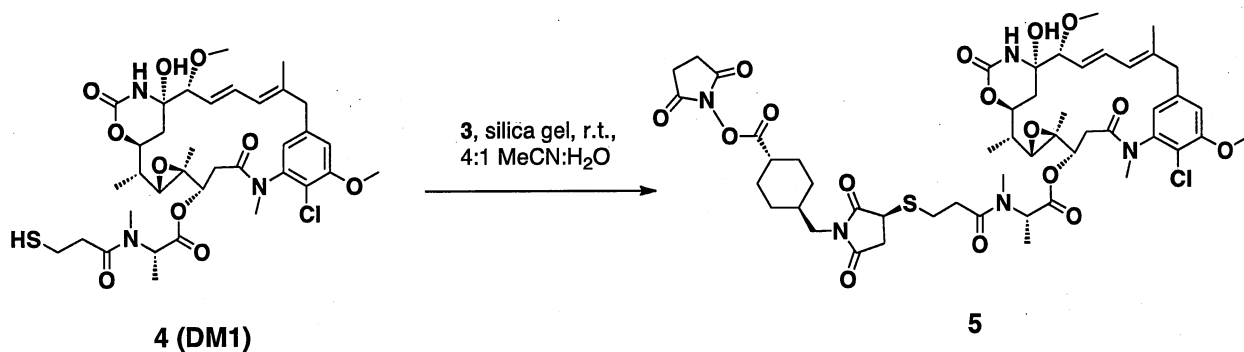


Ví dụ 2

Maytansin-3-N-metyl-L-alanin-propanamit-3-thiol (4): Hợp chất nêu trong tiêu đề, đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này là DM1, được điều chế bằng cách sử dụng phiên bản cải biến của phương pháp được nêu bởi Whitesides et al. (*J. Org. Chem.*, 1991, 56, 2648-2650). Maytansin-3-N-metyl-L-Ala-(3-metyldisulfanyl) propanamit (DM1-SMe, 2,42 g, 3,09 mmol, được điều chế theo cách tương tự với Ho và Carrozzella, đơn sáng chế Mỹ 2007/0037972 A1) được hòa tan trong axetonitril (30 mL), được xử lý với dung dịch tris(2-carboxyetyl)phosphin hydroclorua (8,23 g, 28,7 mmol) trong nước (30 mL), pH được tăng đến khoảng 3 bằng cách bổ sung NaHCO_3 nước bão hòa (5 mL), bình thốt cổ được làm sạch bằng Ar, và phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường có vách ngăn cao su (được thông hơi nhờ làm sủi bong bóng). Sau 2 giờ, phản ứng được xử lý với nước muối biển (khoảng 100 mL), được làm sủi tăm bằng Ar trong 5 phút (để loại bỏ methylmercaptan tự do), và các pha được tách. Pha nước được chiết hai lần bằng etyl axetat (EtOAc), được làm bão hòa bằng NaCl, và chiết hai lần nữa bằng EtOAc. Sau đó, lớp hữu cơ kết hợp được làm khô trên Na_2SO_4 , được lọc, và dịch lọc được cô đặc và được làm khô trong chân không để tạo ra hợp chất nêu trong tiêu đề ở dạng chất rắn màu trắng (2,24 g, 98%). ^1H NMR (300 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) δ 6,76 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz), 6,63 (d, 1H, $J = 11$ Hz), 6,59 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz), 6,35 (m, 2H), 5,59 (dd, 1H, $J = 15$ Hz, 9 Hz),

5,36 (q, 1H, $J = 6,5$ Hz), 4,68 (dd, 1H, $J = 12$ Hz, 3 Hz), 4,21 (t, 1H, $J = 10$ Hz), 3,92 (s, 3H), 3,60 (d, 1H, $J = 13$ Hz), 3,42 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 3,29 (s, 3H), 3,14 (s, 3H), 3,05 (d, 1H, $J = 13$ Hz), 2,95 (d, 1H, $J = 10$ Hz), 2,77 (s, 3H), 2,75 – 2,47 (m, 6H), 2,11 (dd, 1H, $J = 14$ Hz, 3 Hz), 1,58 (s, 3H), 1,47 (d, 1H, $J = 14$ Hz), 1,40 (m, 1H), 1,22 (m, 6H), 0,73 (s, 3H), MS (ESI, pos.): được tính cho $C_{35}H_{48}ClN_3O_{10}S$, 737,3; tìm thấy 738,3 (M+H), 720,3 (M-H₂O+H).

Maytansin-3-N-metyl-L-alanine-propanamidyl-3-thio-3-suxinimidyl-N-metylxcyclohexyl-4-trans-carboxysuxinat (5): Quy trình sau đây mô tả phương pháp mới chưa biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Sản phẩm từ bước trước đó (4, 2,23 g, 3,02 mmol) và maleimidylmetyl-4-xyclohexancarboxysuxinat (3, 1,50 g, 4,49 mmol) được hòa tan trong axetonitril/nước tỷ lệ 4:1 (75 mL), được xử lý với silica gel mịn được vét từ đĩa TLC điều chế (11,2 g), bình thót cổ được làm sạch bằng Ar, và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ môi trường có vách ngăn cao su. Sau 18 giờ, bổ sung thêm hợp chất 3 (0,77 g, 2,3 mmol) và axetonitril (MeCN, 10 mL) và phản ứng được khuấy trong 6 giờ nữa. Hỗn hợp được lọc qua Celite, chất rắn được rửa bằng MeCN và etyl axetat (EtOAc), và dịch lọc được cô đặc trong chân không đến chất rắn màu vàng, được tinh sạch bằng sắc ký cột nhanh trên hộp silica gel 120g (50 – 100% 1:1 EtOAc/MeCN trong diclometan qua 33 phút, 75 mL/phút). Quá trình làm bay hơi và làm khô các phân đoạn cột tinh khiết trong chân không tạo ra hợp chất nêu trong tiêu đề ở dạng chất rắn có màu kem (2,09 g). Quá trình cô đặc các phân đoạn không tinh khiết và tinh sạch lại trên hộp 80g silica gel như trên tạo ra mẻ chất rắn có màu kem bổ sung (0,22 g), và tạo ra tổng hiệu suất của hợp chất nêu trong tiêu đề là 2,31 g (71%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6,85 (d, 1H, $J = 4$ Hz), 6,72 (m, 1H), 6,65 (d, 1H, $J = 4$ Hz), 6,44 (dd, 1H, $J = 15$ Hz, 11 Hz), 6,25 (s, 1H), 5,67 (dd, 1H, $J = 16$ Hz, 9 Hz), 5,41 (m, 1H), 4,79 (d, 1H, $J = 11$ Hz), 4,30 (t, 1H, $J = 11$ Hz), 3,72 (m, 2H), 3,51 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 3,37 (m, 4H), 3,27 (m, 1H), 3,23 (s, 3H), 3,16 – 2,99 (m, 4H), 2,85 (m, 7H), 2,62 (m, 3H), 2,39 (ddd, 1H, $J = 19$ Hz, 12 Hz, 4 Hz), 2,18 (br m, 2H), 1,77 (br m, 3H), 1,66 (s, 3H), 1,60 – 1,47 (m, 4H), 1,31 (m, 6H), 1,05 (m, 2H), 0,82 (s, 3H), MS (ESI, pos.): được tính cho $C_{51}H_{66}ClN_5O_{16}S$, 1071,4; tìm thấy 1072,4 (M+H), 1054,9 (M-H₂O+H); $[\alpha]^{20}_{589nm} = -52,4$ ($c = 0,00301$, MeOH). Xem Fig. 1 đối với ¹H-NMR của một chất đồng phân không đối quang.

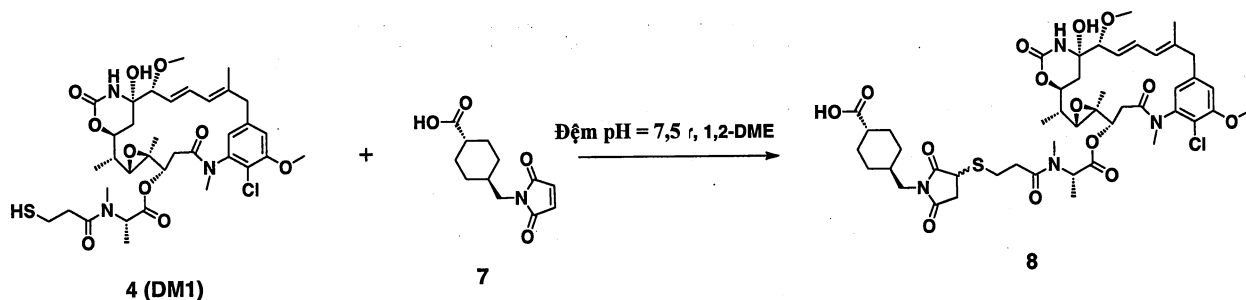


Ví dụ 3

Hỗn hợp các chất đồng phân không đối quang của maytansin-3-N-metyl-L-alanin-propanamidyl-3-thio-3-suxinimidyl-N-metylxcyclohexyl-4-trans- carboxysuxinat (6): Mẫu gồm các chất đồng phân lập thể hỗn hợp của hợp chất 5 được tổng hợp theo đơn sáng chế Mỹ 20100129314, ví dụ XI. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6,85-6,6 (m), 6,4 (m), 6,1 (m), 5,8-5,4 (m), 5,2 (m), 4,92-4,79 (m), 4,4-4,1 (m), 4,03 (s), 3,82 (m), 3,8-2,2 (m), 2,1 (m), 2,07 (s), 2,0-0,8 (m), MS (ESI, dương.): được tính cho $\text{C}_{51}\text{H}_{66}\text{ClN}_5\text{O}_{16}\text{S}$, 1071,4; tìm thấy 1072,4 (M+H). Xem Fig. 2 cho ^1H -NMR của hỗn hợp các chất đồng phân không đối quang.

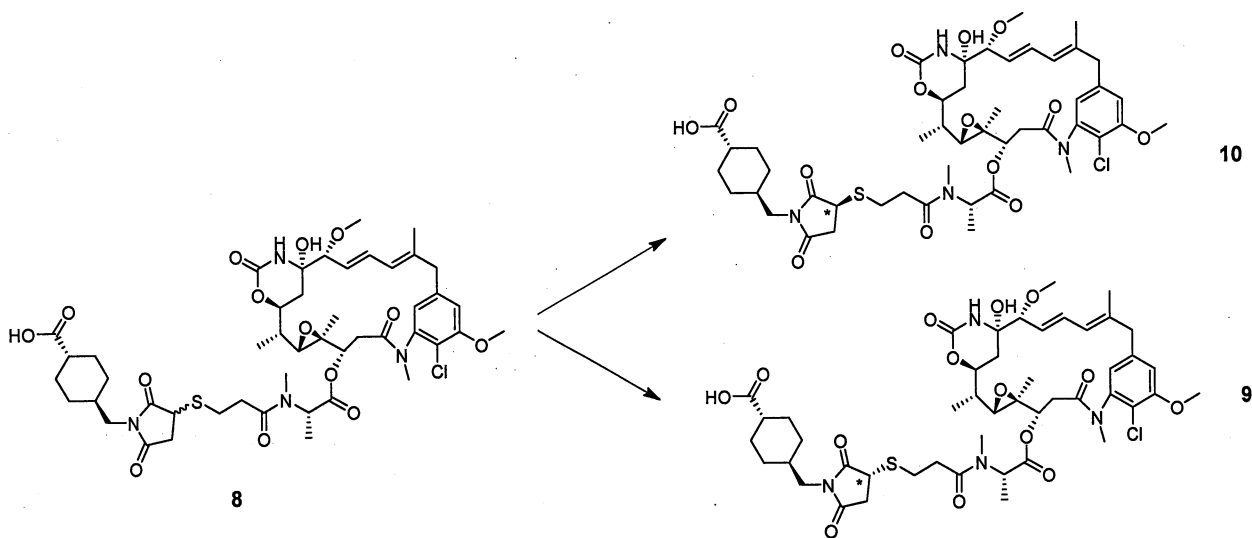
Ví dụ 4

Axit maytansin-3-N-metyl-L-alanin-propanamidyl-3-thio-3-suxinimidyl-N-metylxcyclohexyl-4-trans-carboxylic triệt quang (8): Bổ sung dung dịch chứa axit trans-1,4-(maleimidometyl) xyclohexan-1-carboxylic 7 (167 mg, 0,701 mmol) trong 1,2-dimetoxyetan (8 mL) vào dung dịch hợp chất 4 (340 mg, 0,461 mmol) trong 1,2-dimetoxyetan (15 mL). Sau đó, hỗn hợp được xử lý bằng đệm pH = 7,5 (20 mL) và vài giọt NaHCO_3 nước bão hòa để duy trì độ pH này. Hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường argon và sau đó được cô đặc ở áp suất giảm. Cặn thô được tinh sạch bằng sắc ký pha đảo bằng cách sử dụng cột C18, cột 20-40 micron (100 g), rửa giải bằng gradien (10 95% qua 25 phút) của axetonitril (AcOH 0,1%) trong nước (AcOH 0,1%), và được làm đông khô để tạo ra hợp chất 8 (330 mg, 0,338 mmol, hiệu suất 73%) ở dạng chất rắn màu trắng. MS m/z : 977,2 [MH⁺], 957,2 [M-18], 999,2 [M⁺ Na]; Độ tinh khiết: >98% (bằng LC/MS).



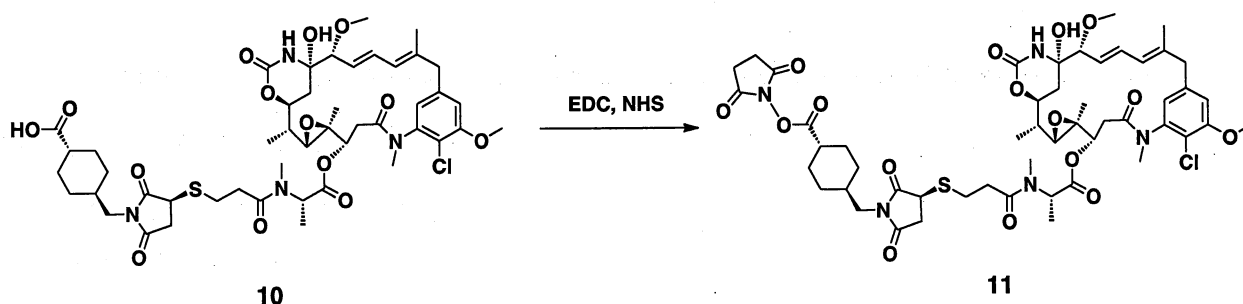
Ví dụ 5

Tách bất đối xứng hợp chất 8 thành các chất đồng phân không đối quang đơn lẻ (R^*)-axit maytansin-3-N-metyl-L-alanin-propanamidyl-3-thio-3-suxinimidyl-N-metylxclohexyl-4-trans-carboxylic (9) và (S^*)-axit maytansin-3-N-metyl-L-alanin-propanamidyl-3-thio-3-suxinimidyl-N-metylxclohexyl-4-trans-carboxylic (10) (S^* và R^* là chất đồng phân lập thể đơn lẻ có tính bất đối xứng chưa biết): hỗn hợp đồng phân không đối quang của các hợp chất 8 (20 mg) được hòa tan trong 0,5 ml axetonitril và được tách bằng cách sử dụng cột Chiral bán điều chế (Chirlacel OJ, hệ dung môi, Hexan:IPA:Etanol 6:1:1) để tạo ra 3,5 mg hợp chất 10 ở dạng hợp chất chạy nhanh hơn, MS m/z : 977,2 $[\text{MH}^+]$, 957,2 $[\text{M}-18]$, 999,2 $[\text{M}^+ \text{Na}]$; Độ tinh khiết: >95% (bằng LC/MS), RT = 32 phút và 4,6 mg hợp chất 9 ở dạng hợp chất chạy chậm hơn, MS m/z : 977,2 $[\text{MH}^+]$, 957,2 $[\text{M}-18]$, 999,2 $[\text{M}^+ \text{Na}]$; Độ tinh khiết: >95% (bằng LC/MS), Rf=48 phút.



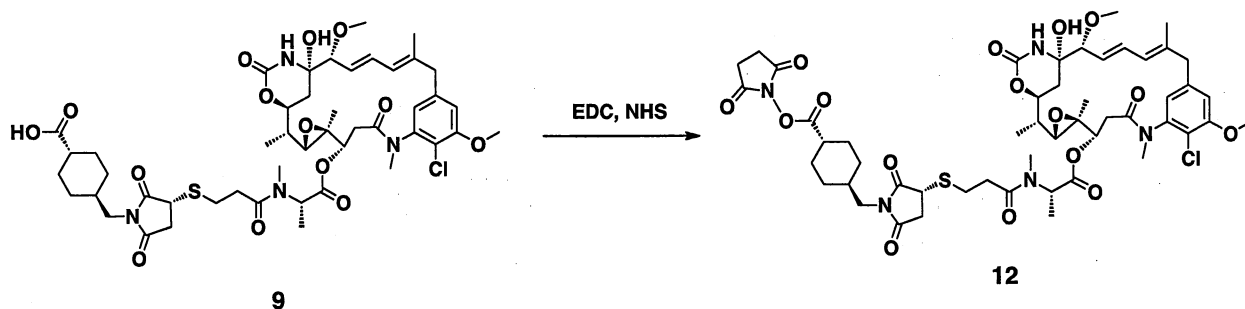
Ví dụ 6

Tổng hợp (S*)-axit maytansin-3-N-metyl-L-alanin-propanamidyl-3-thio-3-suxinimidyl-N-metylcyclohexyl-4-trans-carboxylic (11): dung dịch hợp chất 10 (2,5 mg, 0,0026 mmol) được hòa tan trong diclometan (1 mL), sau đó được xử lý bằng N-hydroxysuxinimit (NHS, 6,0 mg, 0,052mmol) và 1-[3-(dimethylamino) propyl]- 3-ethylcarbodiimit hydroclorua (EDCI, 13 mg, 0,065 mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường argon, được rửa bằng nước sau đó bằng nước muối biển, được làm khô trên natri sulfat khan, và được lọc. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra cặn thô, được tinh sạch bằng sắc ký pha đảo bằng cách sử dụng cột C18, 20-40 micron (30 g), rửa giải bằng gradien (10 - 95% qua 18 phút) của axetonitril (0,1% AcOH) trong nước (0,1% AcOH), và được làm đông khô để tạo ra hợp chất 11. MS m/z : 1073,2 [MH⁺], 1054,4[M-18]; Độ tinh khiết: 95% (bằng LC/MS).



Ví dụ 7

(R*)- axit maytansin-3-N-metyl-L-alanin-propanamidyl-3-thio-3-suxinimidyl-N-metylcyclohexyl-4-trans-carboxylic (12): dung dịch hợp chất 9 (3, mg, 0,003 mmol) được hòa tan trong diclometan (1 mL), sau đó được xử lý bằng N-hydroxysuxinimit (NHS, 3,0 mg, 0,026mmol) và 1-[3-(dimethylamino) propyl]-3-ethylcarbodiimit hydroclorua (EDCI, 7 mg, 0,036 mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường argon, được rửa bằng nước sau đó bằng nước muối biển, được làm khô trên natri sulfat khan, và được lọc. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra cặn thô, được tinh sạch bằng sắc ký pha đảo bằng cách sử dụng cột C18, 20-40 micron (15 g), rửa giải bằng gradien (10-95% qua 18 phút) của axetonitril (0,1% AcOH) trong nước (0,1% AcOH), được làm đông khô để tạo ra hợp chất 12. MS m/z : 1073,2 [MH⁺], 1054,4[M-18]; Độ tinh khiết: 95% (bằng LC/MS).



Ví dụ 8

Điều chế thể liên hợp và mô tả đặc điểm.

Hai chế phẩm liên kết maytansin khác nhau được điều chế theo các ví dụ trước (Hợp chất 5 và Hợp chất 6) được tiếp hợp với nhiều kháng thể đơn dòng kháng kháng nguyên khối u khác nhau. Hợp chất 5 chứa phần lớn là chất đồng phân không đối quang đơn lẻ của hợp chất gây độc tế bào thành phần liên kết-DM1, trong khi đó Hợp chất 6 chứa hỗn hợp nhiều chất đồng phân không đối quang thành phần liên kết-DM1 khác nhau. Kháng thể được sử dụng trong ví dụ này là kháng thể kháng HER2 có vùng biến đổi thu được từ humAb4D5-8 từ Carter *et al*, PNAS 1992 89 4285, kháng thể kháng EGFRvIII có vùng biến đổi thu được từ dòng 131 từ WO2013075048 A1, và kháng thể kháng MUC16 có vùng biến đổi thu được từ dòng 3A5 từ WO2007001851.

Kháng thể được biểu hiện trong tế bào CHO và được tinh sạch bằng Protein A. Kháng thể đối chứng isotyp không liên kết thu được từ kháng nguyên của bệnh truyền nhiễm không có mối quan hệ nào với ung thư cũng được sử dụng trong ví dụ này.

Kháng thể (10 mg/ml) trong HEPES 50 mM, NaCl 150 mM, pH = 8,0, và DMA 10% (v/v) được liên hợp với lượng dư 6 lần của hợp chất 5 hoặc 6 trong 1 giờ ở nhiệt độ môi trường. Các thể liên hợp được tinh sạch bằng sắc ký loại trừ kích thước và được lọc vô trùng. Nồng độ protein và trọng tải thành phần liên kết được xác định bằng phân tích phổ UV và phổ khối lượng MALDI-TOF. HPLC loại trừ kích cỡ cho thấy rằng tất cả các thể liên hợp sử dụng có dạng monome ở tỷ lệ >95%, và RP-HPLC cho thấy rằng có ít hơn 0,5% trọng tải thành phần liên kết không được liên hợp. Hiệu suất được báo cáo trong bảng 1 dựa vào protein. Tất cả các kháng thể liên hợp được phân tích bằng UV đối với các giá trị tải trọng tải thành phần liên kết theo Hamblett *et al*, Cancer Res 2004 10

7063 và bằng chênh lệch khối lượng, dạng tự nhiên so với dạng được liên hợp. Kết quả được tổng kết trong bảng 1.

Bảng 1

Hợp chất	$\epsilon_{252 \text{ nm}} (\text{cm}^{-1} \text{ M}^{-1})$	$\epsilon_{280 \text{ nm}} (\text{cm}^{-1} \text{ M}^{-1})$
5	26790	5700
6*	26790	5700

Kháng thể	$\epsilon_{252 \text{ nm}} (\text{cm}^{-1} \text{ M}^{-1})$	$\epsilon_{280 \text{ nm}} (\text{cm}^{-1} \text{ M}^{-1})$
HER2	81847	215388
EGFRvIII	79579	209420
MUC16	88671	248380
Đối chứng Isotyp	81718	233480

Thế liên hợp kháng thể	Trọng tải: Kháng thể (UV)	Trọng tải: Kháng thể (MS)	Hiệu suất %
HER2-5 (<i>in vivo</i>)	2,7	2,7	66
HER2-5 (<i>in vitro</i>)	3,1	2,4	75
HER2-6 (<i>in vitro</i>)	2,9	2,4	70
EGFRvIII-5	2,8	2,3	56
EGFRvIII-6	2,9	2,2	56
MUC16-5	2,4	2,0	76
MUC16-6	2,3	2,1	96
Đối chứng Isotyp-5	3,3	3,3	67

* hệ số tắt được sử dụng từ hợp chất 5

Ví dụ 9

Thử nghiệm độc tính tế bào *in vitro*.

Tế bào được gieo trong các đĩa 96 giếng phủ PDL ở mật độ 10.000 (SK-BR- 3 và NCI-N87), 15.000 (BT-474), 3000 (Ovcar-3 và PC3/Muc16), 2000 (HEK293/hEGFRvIII), 1500 (U251/hEGFRvIII), hoặc 400 (MMT/hEGFRvIII) tế bào mỗi giếng trong môi trường phát triển hoàn toàn và được cho phát triển qua đêm. Đối với đường cong khả năng sống sót tế bào, các thể liên hợp kháng thể-được chất được pha loãng theo dãy không chứa trọng tải được bổ sung cho các tế bào ở nồng độ cuối năm

trong khoảng từ 1 μM đến 1 pM và được ủ trong 3 ngày. Mỗi nồng độ được chạy hai lần và được báo cáo với độ lệch chuẩn tương ứng. Các tế bào được ủ với CCK8 (Dojindo) trong 1-3 giờ cuối và mức độ hấp thụ ở 450nm (OD_{450}) được xác định bằng Flexstation3 (Molecular Devices). Mức OD_{450} cơ sở từ tế bào được điều trị bằng digitonin (40 nM) được trừ đi từ tất cả các giếng và khả năng sống sót được biểu diễn theo phần trăm đối chứng không được điều trị. Giá trị IC_{50} được xác định từ phương trình lôgít bốn thông số trên đường cong đáp ứng 10 điểm (GraphPad Prism). Tất cả các đường cong và giá trị IC_{50} được hiệu chỉnh cho các đương lượng trọng tải dựa trên việc tải từ thử nghiệm MALDI-TOF.

Ở các tế bào SKBR3 (dòng ung thư vú), biểu hiện tự nhiên HER2 cao hơn liên kết đối chứng isotyp 607 lần, thể liên hợp hợp chất đồng phân không đối quang đơn lẻ HER2-5 (lô *in vitro* và *in vivo*) có giá trị IC_{50} là 0,3 nM so với 0,9 nM ở hỗn hợp thể liên hợp hợp chất đồng phân không đối quang HER2-6 (Bảng 2, Fig. 3). Lô *in vitro* nhỏ được liên hợp trước và chỉ sử dụng cho thử nghiệm tăng sinh tế bào, trong khi lô *in vivo* lớn hơn được liên hợp sau và sử dụng cho cả thử nghiệm *in vitro* và *in vivo*. Kháng thể HER2 trần có rất ít hoạt tính chống tăng sinh.

Ở các tế bào BT474 (dòng ung thư vú), biểu hiện tự nhiên HER2 cao hơn liên kết đối chứng isotyp 426 lần, thể liên hợp hợp chất đồng phân không đối quang đơn lẻ HER2-5 HER2-5 (*in vitro*) có giá trị IC_{50} là 4,6 nM trong khi lô HER2-5 (*in vivo*) có giá trị IC_{50} là 4,0 nM so với 11,6 nM ở hỗn hợp thể liên hợp hợp chất đồng phân không đối quang HER2-6 (Bảng 2, Fig. 4). Kháng thể HER2 trần có rất ít hoạt tính chống tăng sinh.

Ở các tế bào NCI-N87 (dòng ung thư vú), biểu hiện tự nhiên HER2 cao hơn liên kết đối chứng isotyp 869 lần, thể liên hợp hợp chất đồng phân không đối quang đơn lẻ HER2-5 (*in vitro*) có giá trị IC_{50} là 0,6 nM trong khi lô HER2-5 (*in vivo*) có giá trị IC_{50} là 0,4 nM so với 1,0 nM ở thể liên hợp hợp chất đồng phân không đối quang HER2-6 (Bảng 2, Fig. 5). Kháng thể HER2 trần có rất ít hoạt tính chống tăng sinh.

Ở các tế bào HEK293/hEGFRvIII, biểu hiện hEGFRvIII cao hơn liên kết đối chứng isotyp 360 lần, cả hai thể liên hợp (chất đồng phân không đối quang đơn lẻ và hỗn hợp chất đồng phân không đối quang) có giá trị IC_{50} là 0,4 nM (Bảng 3, Fig. 6). Kháng

thể trần EGFRvIII có rất ít hoạt tính chống tăng sinh.

Ở các tế bào MMT/hEGFRvIII, biểu hiện hEGFRvIII cao hơn liên kết đối chứng isotyp 280 lần, thể liên hợp hợp chất đồng phân không đối quang đơn lẻ EGFRvIII-5 có giá trị IC_{50} là 0,5 nM trong khi hỗn hợp thể liên hợp của hợp chất đồng phân không đối quang EGFRvIII-6 có giá trị IC_{50} là 9,8 nM (Bảng 2, Fig. 7). Kháng thể trần EGFRvIII có rất ít hoạt tính chống tăng sinh.

Ở các tế bào U251/hEGFRvIII, biểu hiện hEGFRvIII cao hơn liên kết đối chứng isotyp 165 lần, thể liên hợp hợp chất đồng phân không đối quang đơn lẻ EGFRvIII-5 có giá trị IC_{50} là 2,4 nM trong khi hỗn hợp thể liên hợp của hợp chất đồng phân không đối quang EGFRvIII-6 có giá trị IC_{50} là 3,3 nM (Bảng 3, Fig. 7). Kháng thể EGFRvIII trần có rất ít hoạt tính chống tăng sinh.

Ở các tế bào Ovcav-3 (dòng ung thư buồng trứng), biểu hiện tự nhiên MUC16 cao hơn liên kết đối chứng isotyp 373 lần, thể liên hợp hợp chất đồng phân không đối quang đơn lẻ MUC16-5 có giá trị IC_{50} là 6,3 nM trong khi hỗn hợp thể liên hợp của hợp chất đồng phân không đối quang MUC16-6 có giá trị IC_{50} là 16,0 nM (Bảng 4, Fig. 8). Kháng thể trần Muc16 có rất ít hoạt tính chống tăng sinh.

Ở các tế bào PC3/MUC16, biểu hiện MUC16 cao hơn liên kết đối chứng isotyp 105 lần, thể liên hợp hợp chất đồng phân không đối quang đơn lẻ MUC16-5 có giá trị IC_{50} là 0,34 nM trong khi hỗn hợp thể liên hợp của hợp chất đồng phân không đối quang MUC16-6 có giá trị IC_{50} là 0,8 nM (Bảng 4, Fig. 9). Kháng thể trần Muc16 có rất ít hoạt tính chống tăng sinh.

Ở các Fig. 3, 4, và 5, maytansin-3-N-metyl-L-Ala-(3-metyldisulfanyl) propanamit (DM1-SMe, được điều chế theo Ho và Carrozzella, đơn sáng chế Mỹ 2007/0037972 A1) được chọn để đại diện cho trọng tải trong các thử nghiệm này. Hợp chất 4 sẽ là quá hoạt động khi sử dụng *in vitro* hoặc *in vivo*, do đó tạo ra các kết quả không đáng tin cậy.

Kết quả *in vitro* được tổng kết trong các Bảng 2-4 trên cơ sở đích dưới đây. Ví dụ này chứng tỏ rằng các thể liên hợp kháng thể kháng khối u-dược chất chứa dược chất đồng phân không đối quang đơn lẻ theo sáng chế, trong hầu hết các trường hợp, đều

thể hiện khả năng tiêu diệt *in vitro* lớn hơn so với các thể liên hợp kháng thể-độc chất tương ứng chứa hỗn hợp các chất đồng phân không đối quang. Với các mục tiêu được phân tích, các thể liên hợp kháng thể chất đồng phân không đối quang đơn lẻ-độc chất thường có hiệu quả hơn các thể liên hợp hỗn hợp tương ứng ở mức độ từ 2 đến 3 lần, tùy vào dòng tế bào cụ thể được thử nghiệm.

Bảng 2

Thể liên hợp kháng thể	SKBR3 IC50 (nM)	BT474 IC50 (nM)	N87 IC50 (nM)
HER2-5 (<i>in vivo</i>)	0,3	4,0	0,4
HER2-5 (<i>in vitro</i>)	0,3	4,6	0,6
HER2-6 (<i>in vitro</i>)	0,9	11,6	1,0

Bảng 3

Thể liên hợp kháng thể	HEK293/hEGFRvI IC50 (nM)	MMT/hEGFRvII IC50 (nM)	U251/hEGFRvIII IC50 (nM)
EGFRvIII-5	0,4	0,5	2,4
EGFRvIII-6	0,5	9,8	3,3

Bảng 4

Thể liên hợp kháng thể	Ovc4r-3 IC50 (nM)	PC3/MUC16 IC50 (nM)
MUC16-5	6,3	0,34
MUC16-6	16,0	0,80

Ví dụ 10

Nghiên cứu *in vivo*.

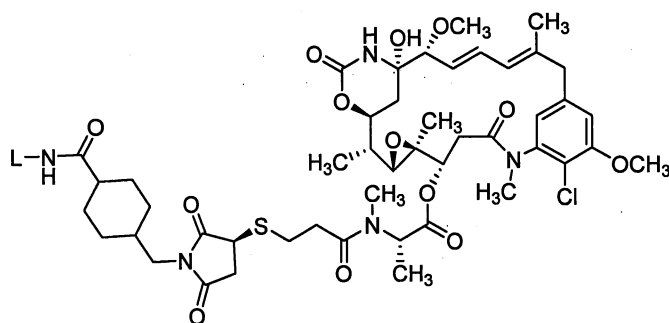
Để xác định hiệu quả *in vivo* của thể liên hợp chất đồng phân không đối quang đơn lẻ kháng HER2 ("HER2-5"), các nghiên cứu được thực hiện ở chuột nhắt mang mô ghép ung thư dạ dày khác loài HER2+, vì hiệu quả đã được báo cáo trước đó ở mẫu này bởi

Barok et al (Barok M et al, Can Letters 2011). Cụ thể, 5×10^6 tế bào NCI-N87 (ATCC CRL-5822) được cấy dưới da vào sườn phải bên dưới của chuột nhắt CB-17 SCID (Taconic). Khi các khối u đạt đến kích thước trung bình là 150mm^3 , chuột nhắt được chọn ngẫu nhiên vào các nhóm tám con và được cho dùng liều HER2-5 hoặc chất thử đối chứng. Chất thử đối chứng bao gồm chất dẫn thuốc PBS, DM1-Sme tự do, đối chứng isotyp, đối chứng isotyp-5, hoặc HER2. Chuột nhắt nhận các liều một lần một tuần trong ba tuần và thể tích khối u và trọng lượng cơ thể được giám sát hai lần một tuần trong suốt nghiên cứu. Các thể liên hợp được định liều ở 1, 5 và 15 mg/kg, vì các liều này đã được chỉ ra là có hiệu quả trong các nghiên cứu *in vivo* trước đó bởi Lewis-Phillips et al (Lewis-Phillips G et al., Can Res 2008).

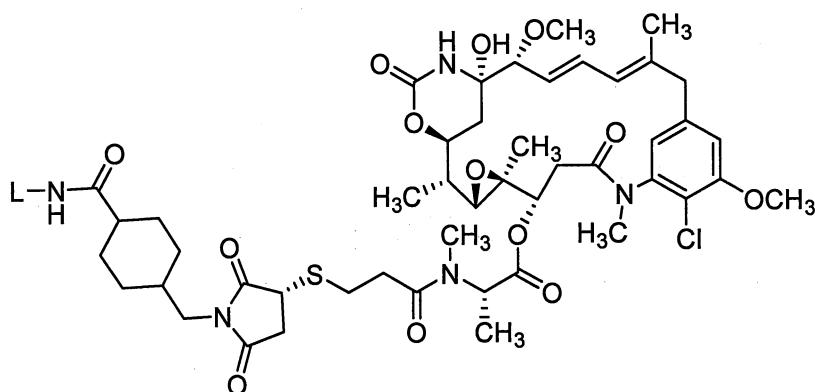
Trong mẫu khối u N87 hiện tại, HER2-5 chứng minh hiệu quả kháng khối u rõ ràng, với các liều 5 và 15 mg/kg dẫn đến sự giảm đáng kể thể tích khối u ban đầu và sự trừ diệt một số khối u ở các liều cao hơn (Fig. 11 và 12). Sự phát triển chậm đáng kể của khối u so với chất đối chứng cũng được quan sát ở mức liều 1 mg/kg. Không có biến cố bất lợi nào quan sát được sau khi dùng liều, với các con chuột nhắt nhận HER2-5 chứng minh sự tăng trọng mạnh mẽ trong suốt nghiên cứu (Fig. 13).

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm chứa hợp chất có công thức IIa hoặc IIb:



IIa



IIb

trong đó:

L là kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó;

và trong đó hợp chất có công thức IIa hoặc IIb có mặt ở lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn 50%.

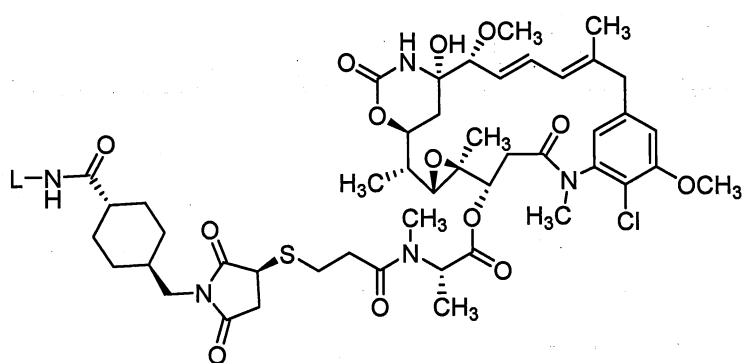
2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó L là kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với kháng nguyên đi kèm với khối u; và trong đó kháng nguyên đi kèm với khối u được chọn từ nhóm gồm AFP, ALK, protein BAGE, β -catenin, bcr-abl, BRCA1, BORIS, CA9, cacbonic anhydrase IX, caspase-8, CD20, CD40, CDK4, CEA, CLEC12A, cMET, CTLA4, cyclin-B1, CYP1B1, EGFR, EGFRvIII, ErbB2/Her2, ErbB3, ErbB4, ETV6-AML, EphA2, Fra-1, FOLR1, protein GAGE, GD2, GD3, GloboH, glypican-3, GM3, gp100, Her2, HLA/B-raf, HLA/k-ras, HLA/MAGE-A3, hTERT, IGF1R, LGR5, LMP2, protein MAGE, MART-1, mesothelin, ML-IAP, Muc1, Muc16 hoặc CA-125, MUM1, NA17, NY-BR1, NY-BR62, NY-BR85, NY-ESO1, OX40, p15,

p53, PAP, PAX3, PAX5, PCTA-1, PDGFR- α , PDGFR- β , PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C, PDGF-D, PLAC1, PRLR, PRAME, PSMA, FOLH1, protein RAGE, Ras, RGS5, Rho, SART-1, SART-3, Steap-1, Steap-2, survivin, TAG-72, TGF- β , TMPRSS2, Tn, TNFRSF17, TRP-1, TRP-2, tyrosinaza, và uroplakin-3.

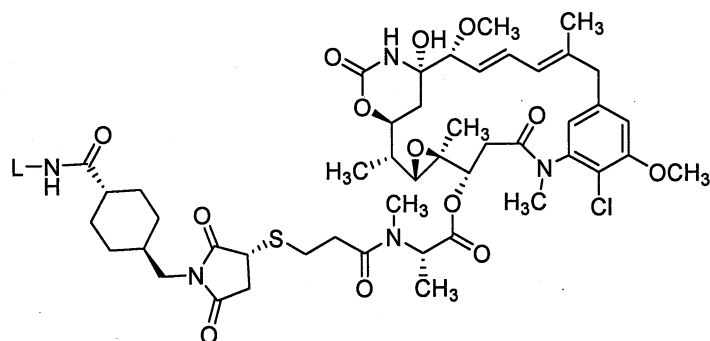
3. Chế phẩm theo điểm 2, trong đó kháng nguyên đi kèm khối u được chọn từ nhóm gồm EGFRvIII, Her2, và Muc16.

4. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó hợp chất có công thức IIa hoặc IIb có mặt ở lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn 95%.

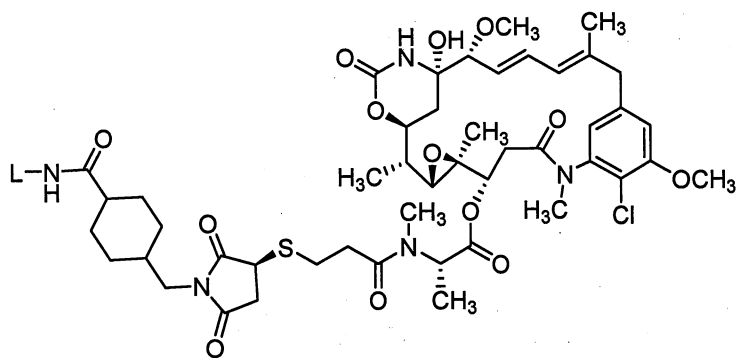
5. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó hợp chất có công thức IIa là:



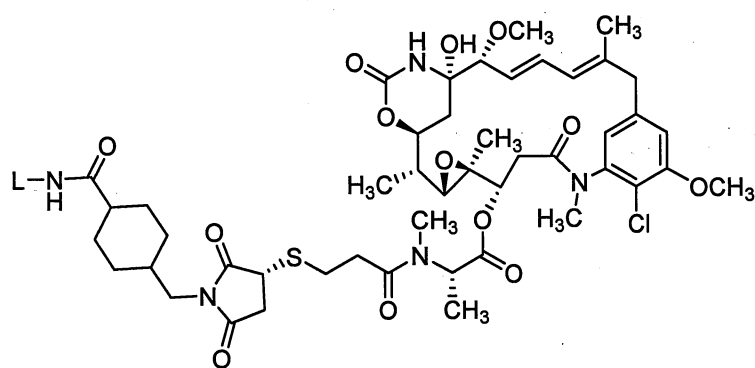
6. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó hợp chất có công thức IIb là:



7. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức IIa hoặc IIb:



IIa

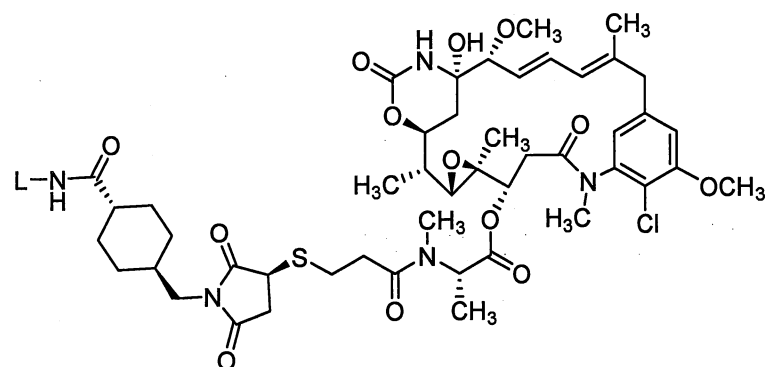


IIb

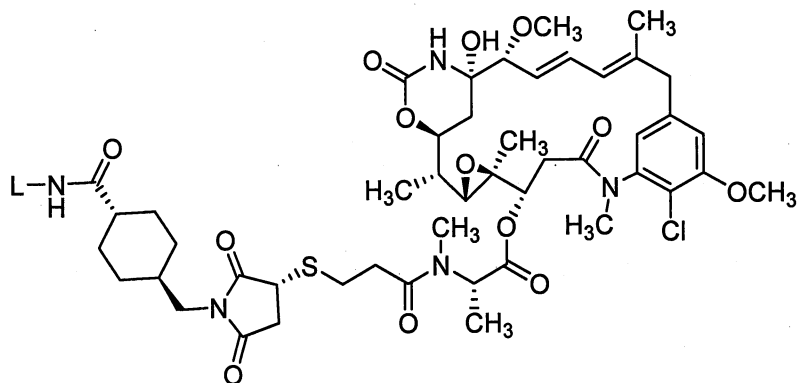
và tá dược được dụng,

trong đó L là kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó và hợp chất có công thức IIa hoặc IIb có mặt ở lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn 50%.

8. Dược phẩm theo điểm 7, trong đó hợp chất có công thức IIa hoặc IIb là:

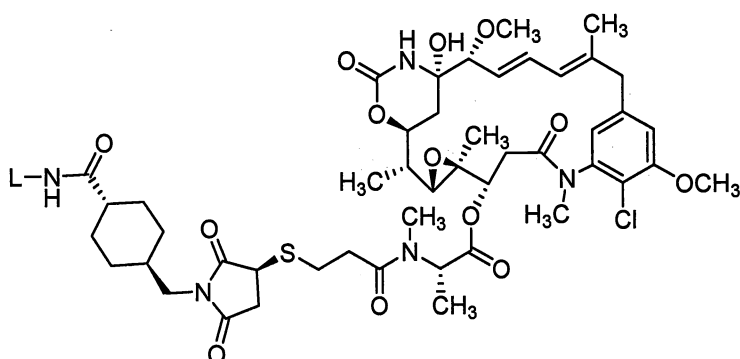


, hoặc

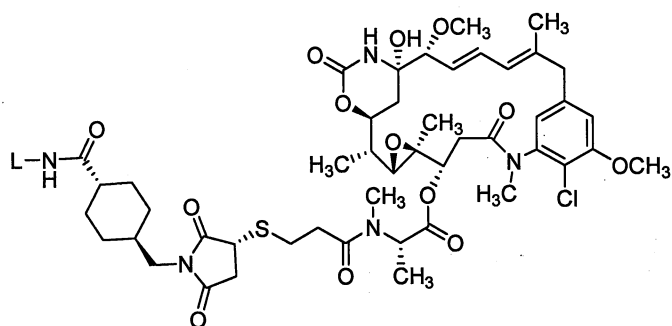


9. Dược phẩm theo điểm 8, trong đó hợp chất có công thức IIa hoặc IIb có mặt ở lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn 95%.

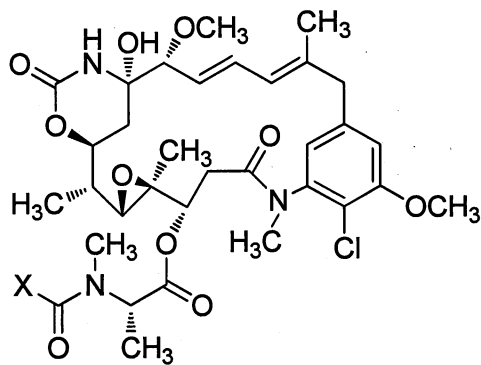
10. Dược phẩm theo điểm 7, trong đó hợp chất có công thức IIa là:



11. Dược phẩm theo điểm 7, trong đó hợp chất có công thức IIb là:

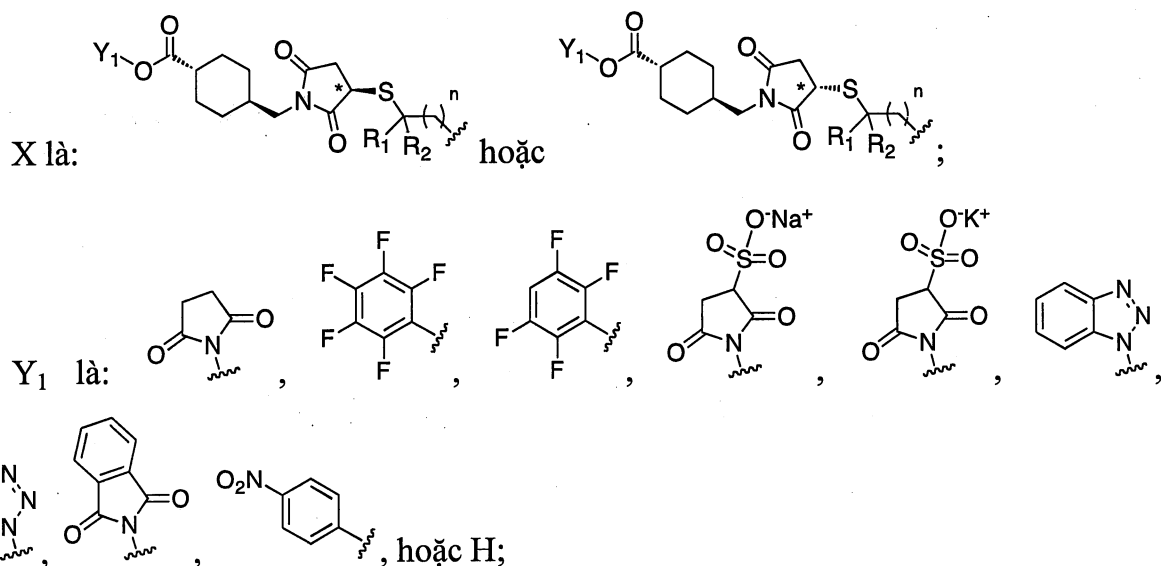


12. Chế phẩm chứa hợp chất có công thức I:



I

trong đó:

R₁ và R₂ độc lập được chọn từ H hoặc alkyl; và

n độc lập là 0 hoặc số nguyên từ 1 đến 50;

trong đó hợp chất có công thức I có mặt ở lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn 50%.

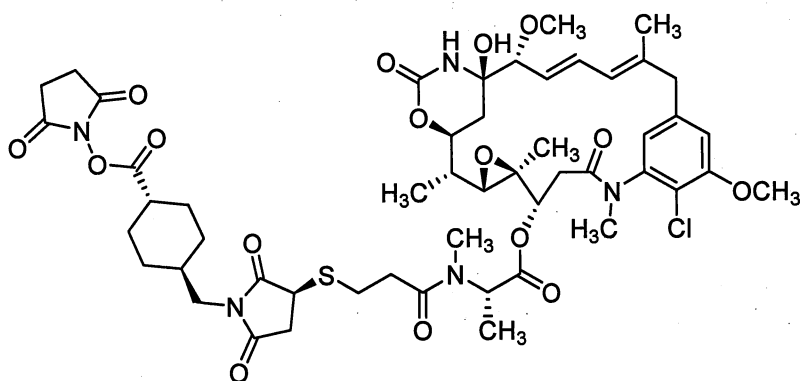
13. Chế phẩm theo điểm 12, trong đó Y₁ là .

14. Chế phẩm theo điểm 12 hoặc 13, trong đó R₁ và R₂ là H.

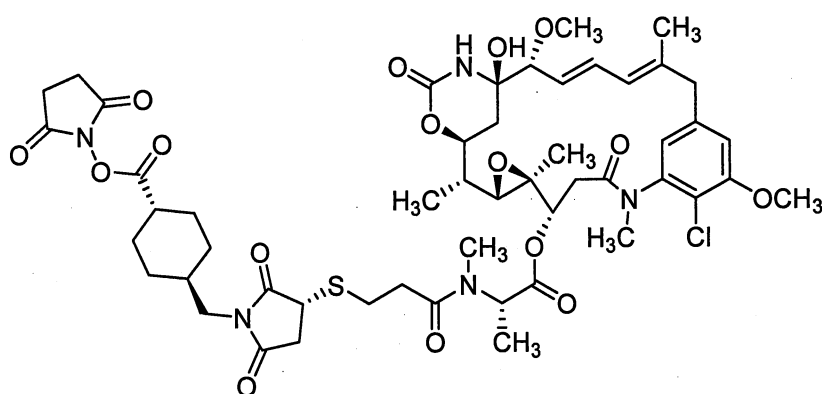
15. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 12 đến 14, trong đó n là số nguyên từ 1 đến 10.

16. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 12 đến 15, trong đó hợp chất có

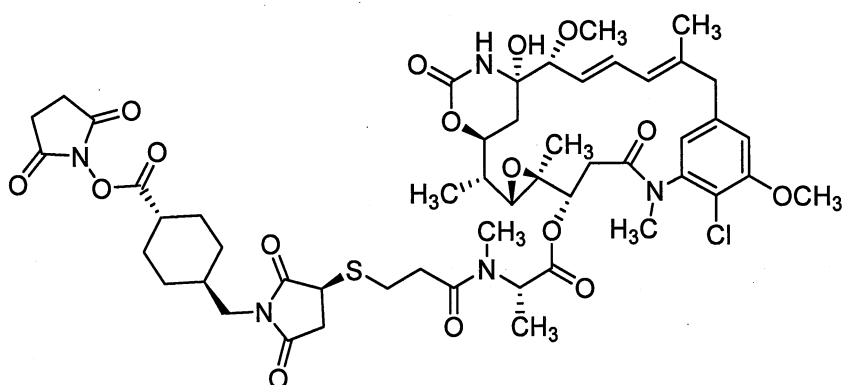
công thức I là:



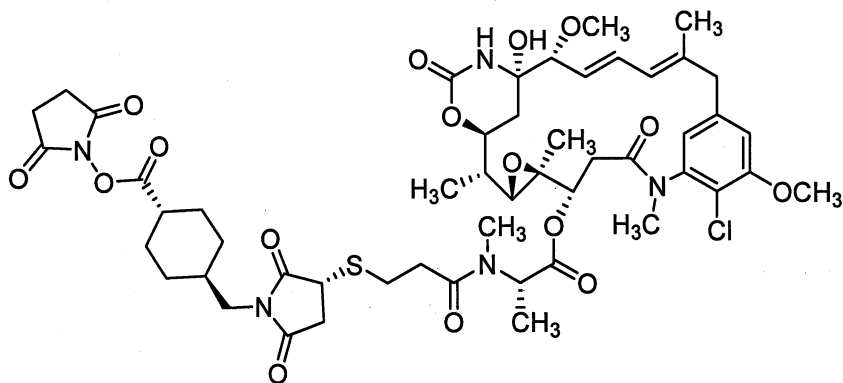
hoặc



17. Chế phẩm theo điểm 16, trong đó hợp chất có công thức I là:

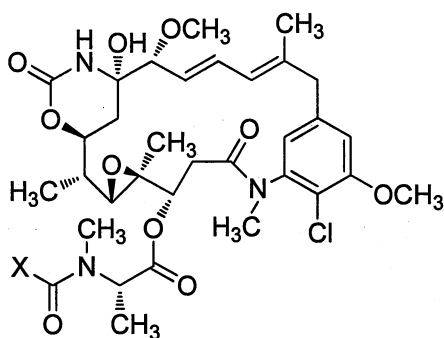


18. Chế phẩm theo điểm 16, trong đó hợp chất có công thức I là:



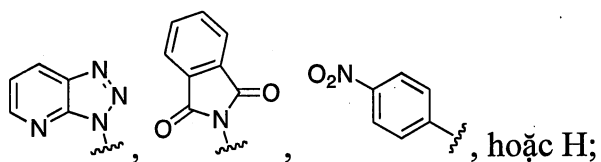
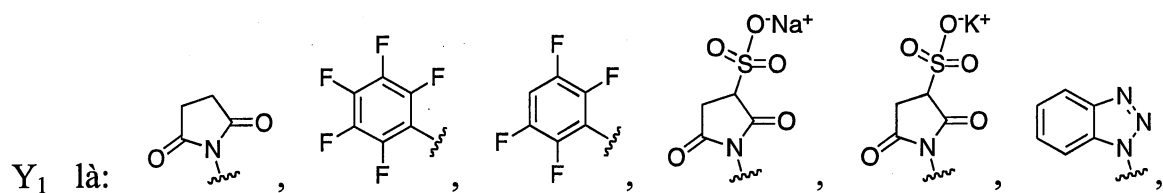
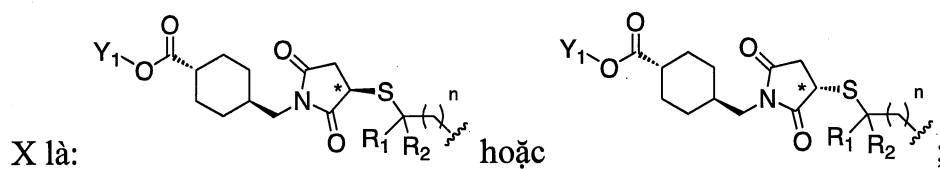
19. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 12 đến 18, trong đó lượng dư chất đồng phân không đối quang là ít nhất 95%.

20. Quy trình điều chế hợp chất có công thức I:



I

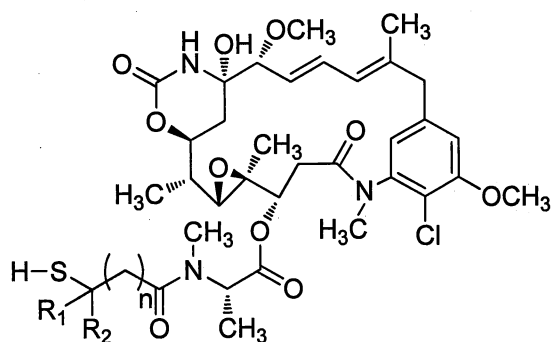
trong đó:



R_1 và R_2 độc lập được chọn từ H hoặc alkyl; và
 n độc lập là 0 hoặc số nguyên từ 1 đến 50;
 phương pháp này bao gồm các bước:

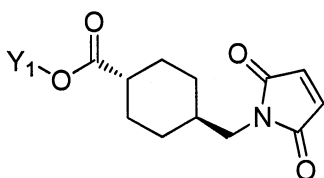
(a) cho

(i) hợp chất có công thức III:



III;

(ii) hợp chất có công thức IV:



IV

(iii) gel silica; và

(iv) chất pha loãng chứa dung môi hữu cơ và nước
 tiếp xúc với nhau;

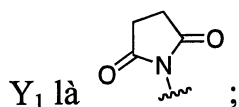
(b) tách hợp chất có công thức I, trong đó hợp chất có công thức I có mặt ở
 lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn 50%.

21. Quy trình theo điểm 20, trong đó dung môi hữu cơ bao gồm dung môi không
 proton phân cực.

22. Quy trình theo điểm 21, trong đó dung môi không proton phân cực bao gồm
 axetonitril.

23. Quy trình theo điểm 20, trong đó dung môi hữu cơ và nước có mặt với tỷ lệ thể
 tích nằm trong khoảng từ 1:1 đến 4:1 hoặc khoảng từ 1:1 đến 10:1.

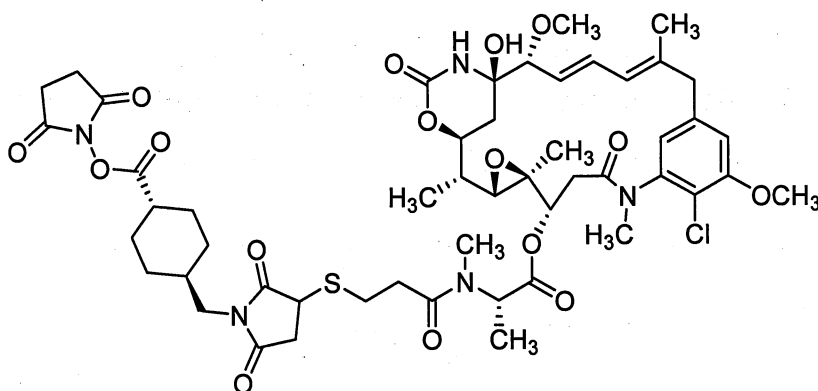
24. Quy trình theo điểm 20, trong đó tỷ lệ mol của hợp chất có công thức III và hợp chất có công thức IV nằm trong khoảng từ 1:1 đến 1:3.
25. Quy trình theo điểm 20, trong đó n là 1, và mỗi R_1 và R_2 độc lập nhau là hydro.
26. Quy trình theo điểm 20, trong đó:



R_1 và R_2 là H;

n là 1; và

hợp chất có công thức I là:



27. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 26, trong đó bước (a) tạo ra hỗn hợp trong môi trường argon.
28. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 27, trong đó bước (a) còn bao gồm bước khuấy hỗn hợp.
29. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 28, trong đó bước (a) còn bao gồm bước khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ môi trường.
30. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 29, trong đó trong bước (a) bước cho tiếp xúc là trong thời gian khoảng 18 giờ.
31. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 29, trong đó hợp chất có công thức IV có lượng dư tỷ lệ với hợp chất có công thức III.
32. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 29, trong đó quy trình này

còn bao gồm bước cho tiếp xúc với lượng bổ sung của hợp chất có công thức IV sau bước (a).

33. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 29 và điểm 32, trong đó tỷ lệ mol của hợp chất có công thức IV với hợp chất có công thức III trong bước (a) là khoảng 2,3:1.

34. Quy trình theo điểm 20, trong đó tỷ lệ mol của hợp chất có công thức IV với hợp chất có công thức III trong bước (a) là khoảng 1,5:1.

35. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 29, trong đó bước (b) còn bao gồm bước tách hợp chất có công thức I bằng cách lọc.

36. Quy trình theo điểm 35, trong đó bước lọc là lọc qua xelit.

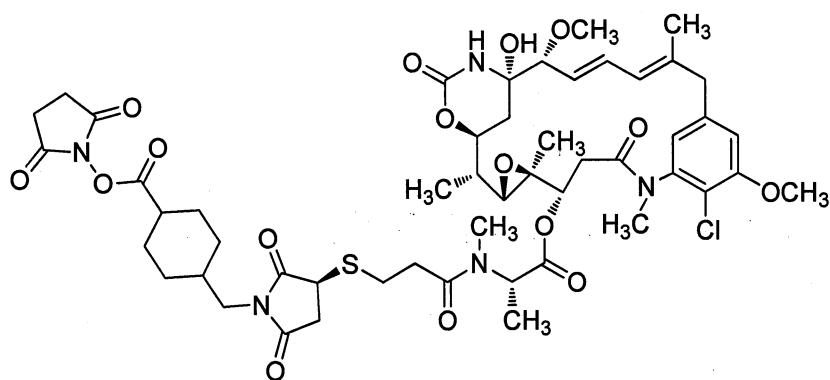
37. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 36, trong đó quy trình này còn bao gồm bước tinh sạch hợp chất có công thức I bằng sắc ký cột trên silica gel.

38. Quy trình theo điểm 37, trong đó quy trình này còn bao gồm bước làm khô hợp chất có công thức I.

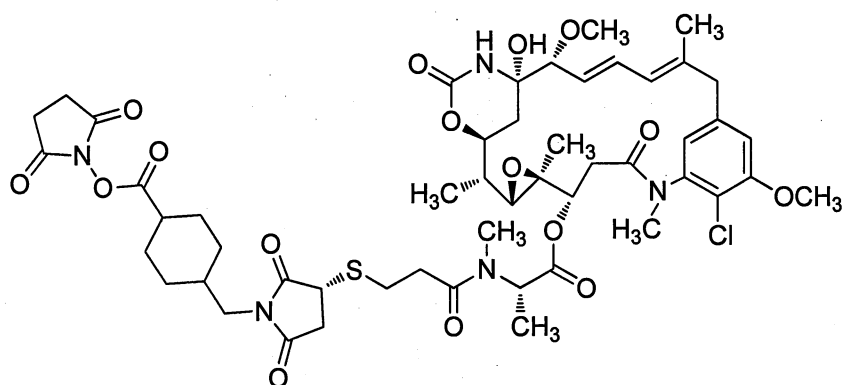
39. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 37, trong đó quy trình này còn bao gồm bước kết hợp hợp chất có công thức I với kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó để tạo ra thể liên hợp kháng thể-dược chất.

40. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 39, trong đó hợp chất có công thức I được gắn với kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên thông qua S, O, hoặc NR_3 ; trong đó R_3 là H hoặc alkyl.

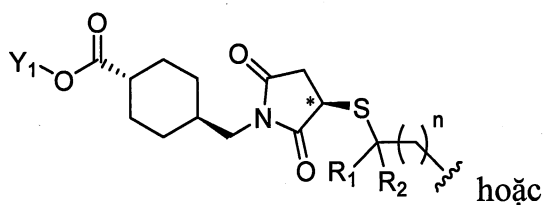
41. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 40, trong đó hợp chất có công thức I là:



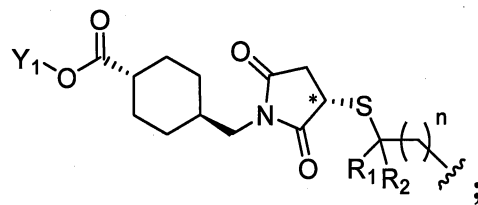
hoặc



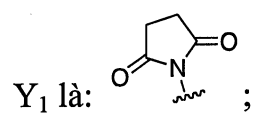
;



hoặc

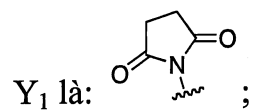


X là:

Y₁ là:R₁ và R₂ là H; và

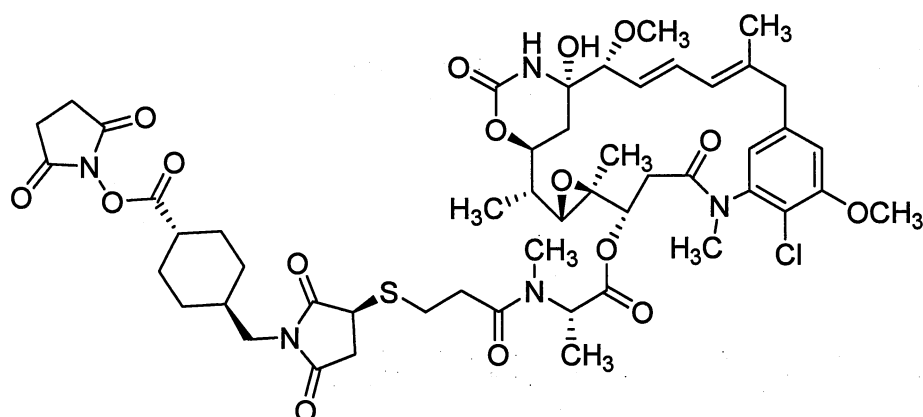
n là 1.

42. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 41, trong đó:

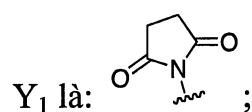
Y₁ là:R₁ và R₂ là H;

n là 1; và

hợp chất có công thức I là:



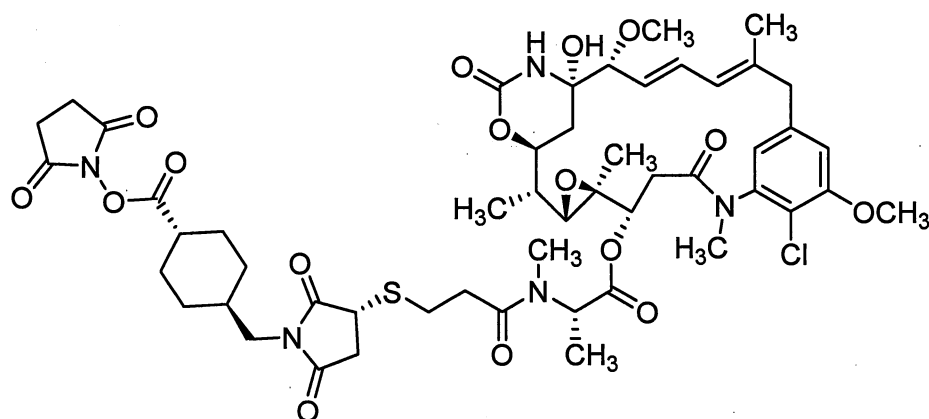
43. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 41, trong đó:



R₁ và R₂ là H;

n là 1; và

hợp chất có công thức I là:

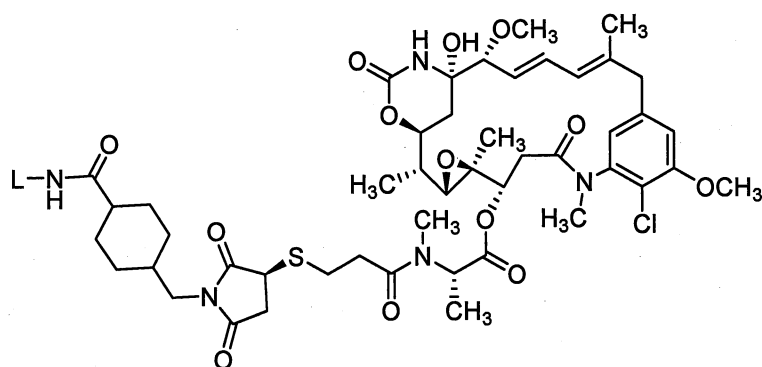


44. Quy trình theo điểm 39, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với kháng nguyên đi kèm với khối u, trong đó kháng nguyên đi kèm khối u được chọn từ nhóm gồm AFP, ALK, protein BAGE, β -catenin, bcr-abl, BRCA1, BORIS, CA9, cacbonic anhydrase IX, caspase-8, CD20, CD40, CDK4, CEA, CLEC12A, cMET, CTLA4, cyclin-B1, CYP1B1, EGFR, EGFRvIII, ErbB2/Her2, ErbB3, ErbB4, ETV6-AML, EphA2, Fra-1, FOLR1, protein GAGE, GD2, GD3, GloboH, glypican-3, GM3, gp100, Her2, HLA/B-raf, HLA/k-ras, HLA/MAGE-A3, hTERT, IGF1R, LGR5, LMP2, protein MAGE, MART-1, mesothelin, ML-IAP, Muc1, Muc16, CA-125, MUM1,

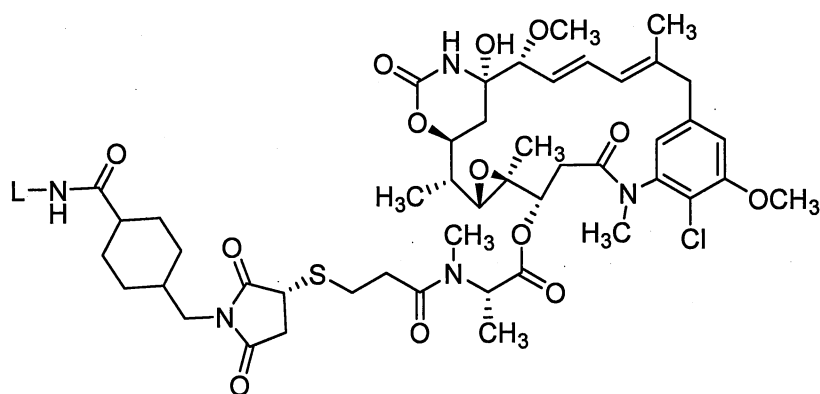
NA17, NY-BR1, NY-BR62, NY-BR85, NY-ESO1, OX40, p15, p53, PAP, PAX3, PAX5, PCTA-1, PDGFR- α , PDGFR- β , PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C, PDGF-D, PLAC1, PRLR, PRAME, PSMA, FOLH1, protein RAGE, Ras, RGS5, Rho, SART-1, SART-3, Steap-1, Steap-2, survivin, TAG-72, TGF- β , TMPRSS2, Tn, TNFRSF17, TRP-1, TRP-2, tyrosinaza, và uroplakin-3.

45. Quy trình theo điểm 44, trong đó kháng nguyên đi kèm khối u được chọn từ nhóm gồm EGFRvIII, Her2, và Muc16.

46. Quy trình điều chế hợp chất có công thức IIa hoặc IIb:



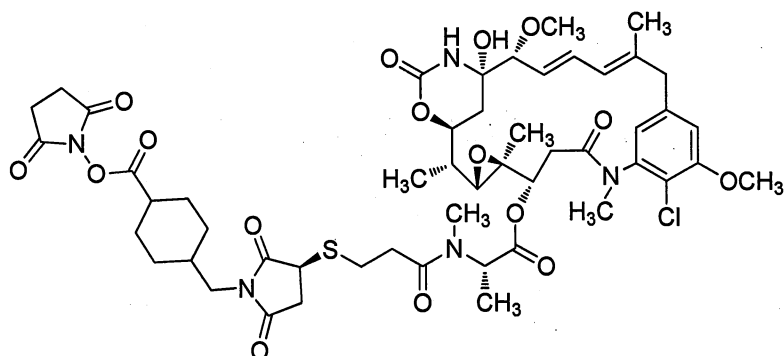
IIa



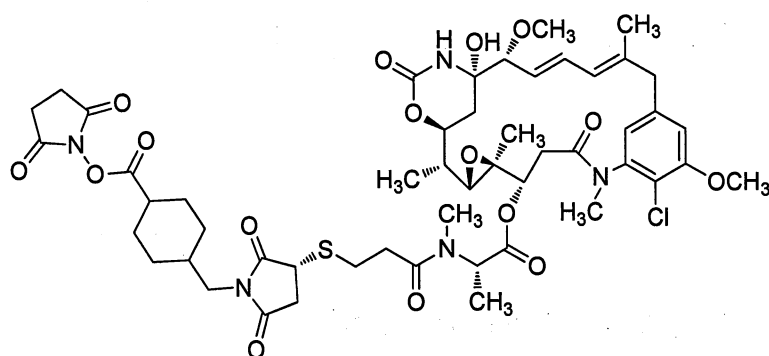
IIb

trong đó L là kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; và trong đó hợp chất có công thức IIa hoặc IIb có mặt ở lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn 50%, quy trình bao gồm bước:

(a) cho L phản ứng với hợp chất có công thức I, trong đó hợp chất có công thức I là:



hoặc



trong đó hợp chất có công thức I có mặt ở lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn 50%; và (b) tinh sạch hợp chất có công thức IIa hoặc IIb.

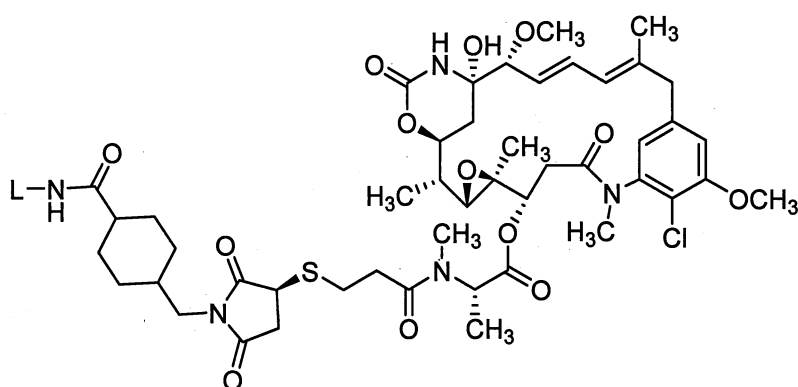
47. Quy trình theo điểm 46, trong đó L là kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với kháng nguyên đi kèm với khối u và trong đó kháng nguyên đi kèm khối u được chọn từ nhóm gồm AFP, ALK, protein BAGE, β -catenin, bcr-abl, BRCA1, BORIS, CA9, cacbonic anhydrase IX, caspase-8, CD20, CD40, CDK4, CEA, CLEC12A, cMET, CTLA4, cyclin-B1, CYP1B1, EGFR, EGFRvIII, ErbB2/Her2, ErbB3, ErbB4, ETV6-AML, EphA2, Fra-1, FOLR1, protein GAGE, GD2, GD3, GloboH, glypican-3, GM3, gp100, Her2, HLA/B-raf, HLA/k-ras, HLA/MAGE-A3, hTERT, IGF1R, LGR5, LMP2, protein MAGE, MART-1, mesothelin, ML-IAP, Muc1, Muc16or CA-125, MUM1, NA17, NY-BR1, NY-BR62, NY-BR85, NY-ESO1, OX40, p15, p53, PAP, PAX3, PAX5, PCTA-1, PDGFR- α , PDGFR- β , PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C, PDGF-D, PLAC1, PRLR, PRAME, PSMA, FOLH1, protein RAGE, Ras, RGS5, Rho, SART-1, SART-3, Steap-1, Steap-2, survivin, TAG-72, TGF- β , TMPRSS2, Tn, TNFRSF17, TRP-1, TRP-2, tyrosinase, và uroplakin-3.

48. Quy trình theo điểm 47, trong đó kháng nguyên đi kèm khối u được chọn từ nhóm gồm EGFRvIII, Her2, và Muc16.

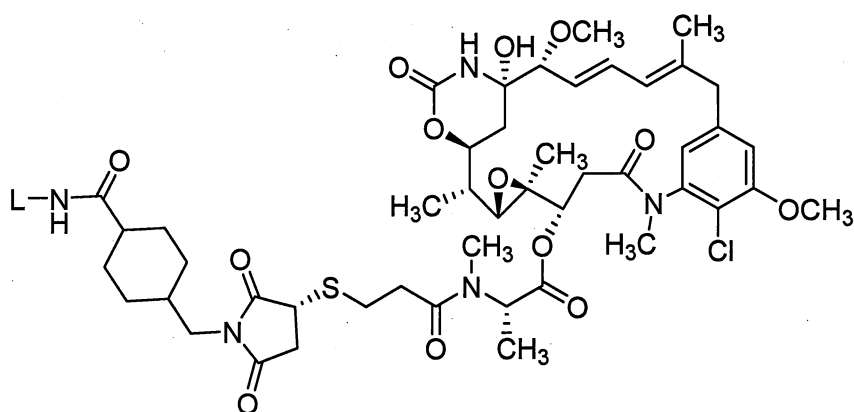
49. Quy trình theo điểm 46, trong đó hợp chất có công thức IIa hoặc IIb có mặt ở lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn 95%.

50. Quy trình theo điểm 46, trong đó hợp chất có công thức I có mặt ở lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn 95%.

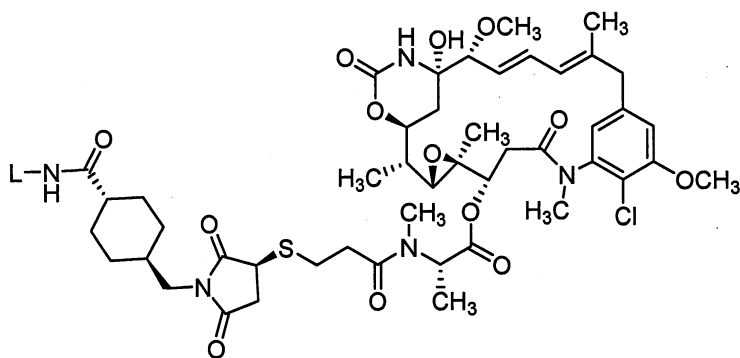
51. Quy trình theo điểm 46, trong đó hợp chất có công thức IIa là:



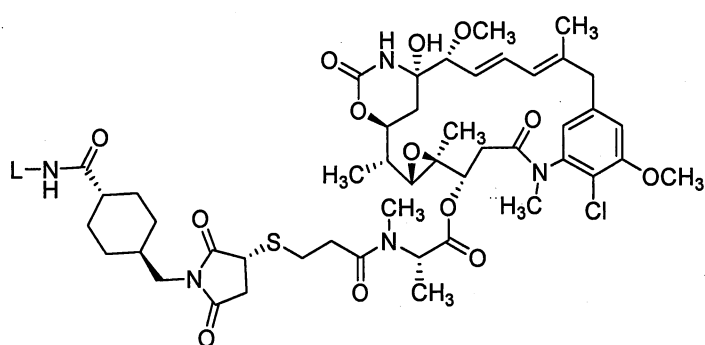
52. Quy trình theo điểm 46, trong đó hợp chất có công thức IIb là:



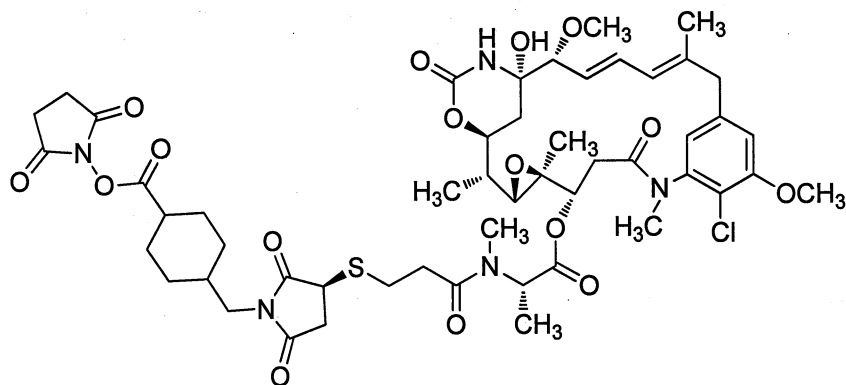
53. Quy trình theo điểm 46, trong đó hợp chất có công thức IIa là:



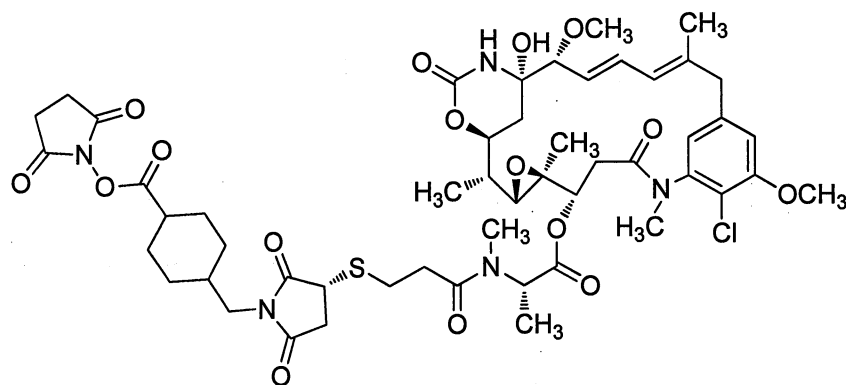
54. Quy trình theo điểm 46, trong đó hợp chất có công thức IIb là:



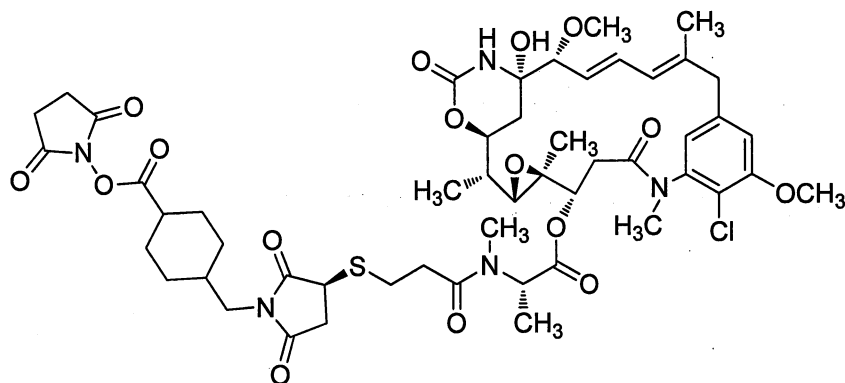
55. Quy trình theo điểm 46, trong đó hợp chất có công thức I là:



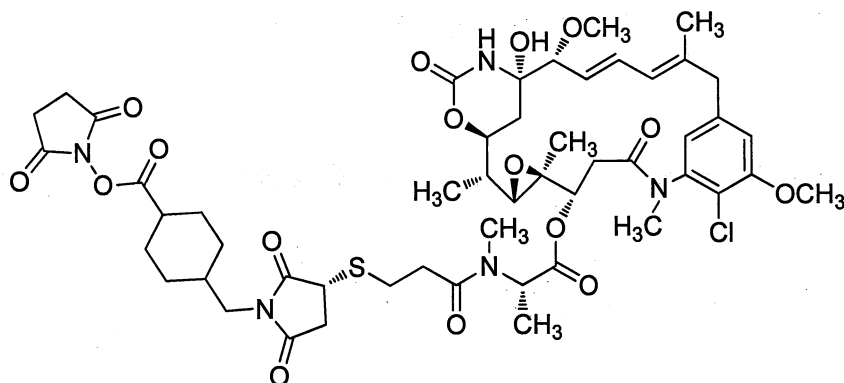
hoặc



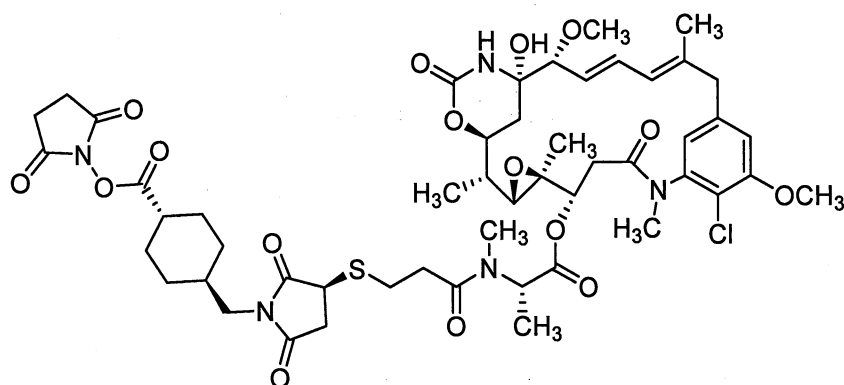
56. Quy trình theo điểm 46, trong đó hợp chất có công thức I là:



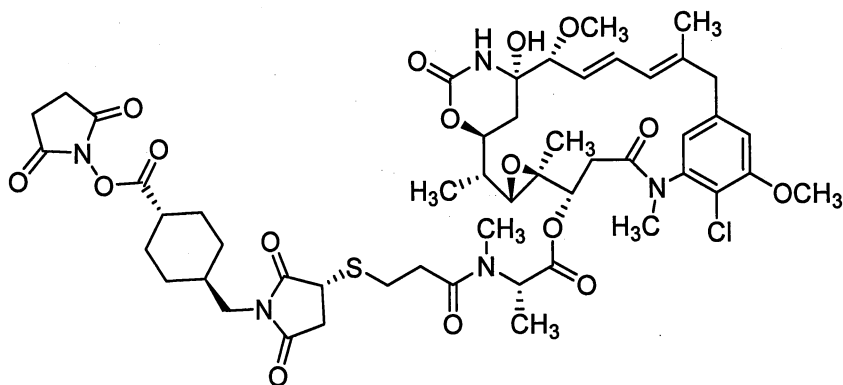
57. Quy trình theo điểm 46, trong đó hợp chất có công thức I là:



58. Quy trình theo điểm 46, trong đó hợp chất có công thức I là:



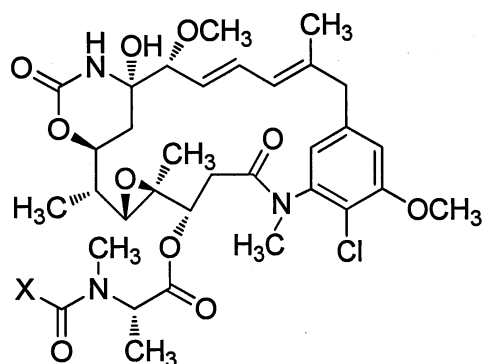
59. Quy trình theo điểm 46, trong đó hợp chất có công thức I là:



60. Hợp chất có công thức I, được điều chế bằng quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 45.

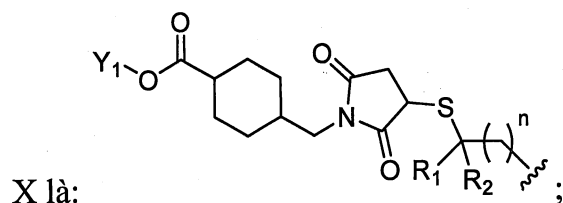
61. Hợp chất có công thức IIa hoặc IIb, được điều chế bằng quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 46 đến 59.

62. Chất đồng phân không đối quang của hợp chất có công thức I:

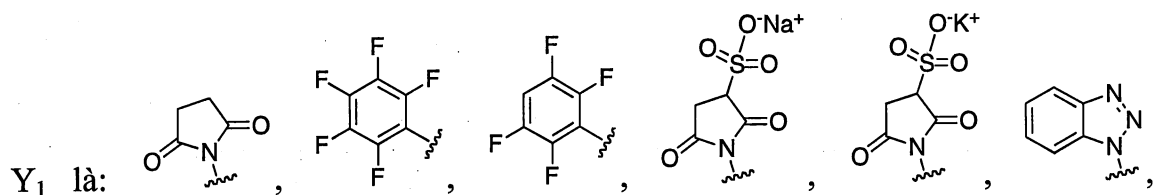


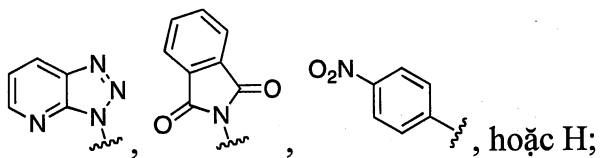
I

trong đó:



Y₁ là:



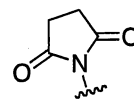


R_1 và R_2 độc lập được chọn từ H hoặc alkyl; và

n độc lập là 0 hoặc số nguyên từ 1 đến 50;

trong đó chất đồng phân không đối quang của hợp chất có công thức I có mặt ở lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn 50%.

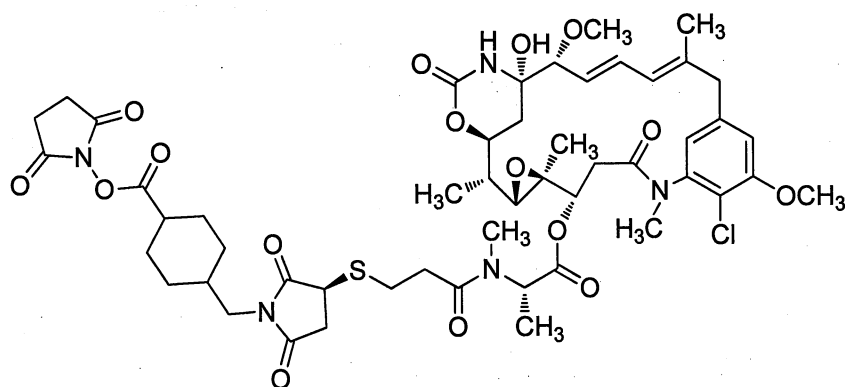
63. Chất đồng phân không đối quang theo điểm 62, trong đó Y_1 là



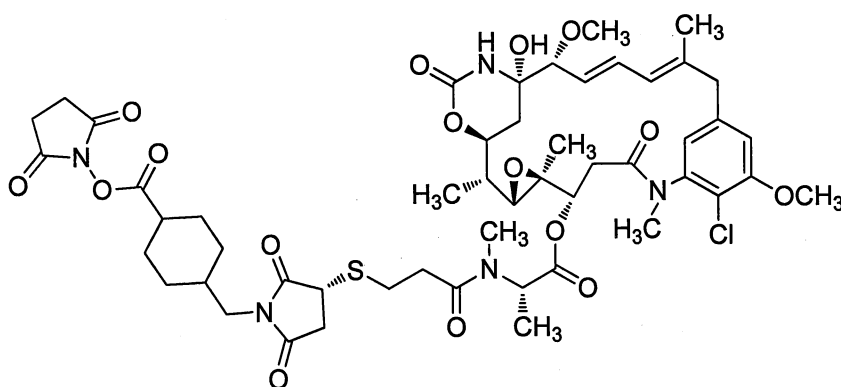
64. Chất đồng phân không đối quang theo điểm 62, trong đó R_1 và R_2 là H.

65. Chất đồng phân không đối quang theo điểm 62, trong đó n là số nguyên từ 1 đến 10.

66. Chất đồng phân không đối quang theo điểm 62, trong đó chất đồng phân không đối quang này là:

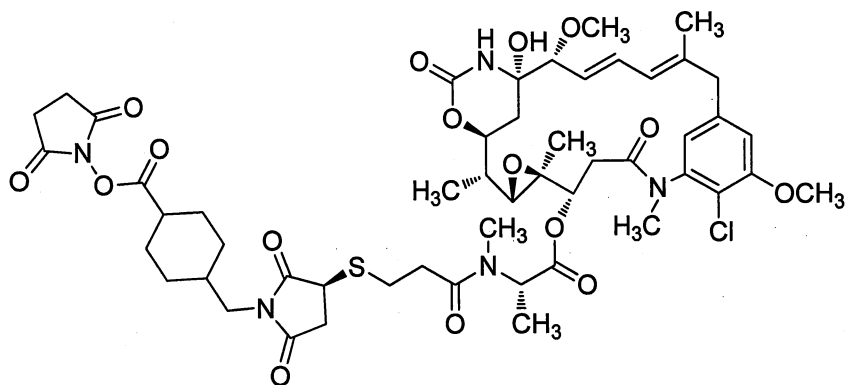


hoặc

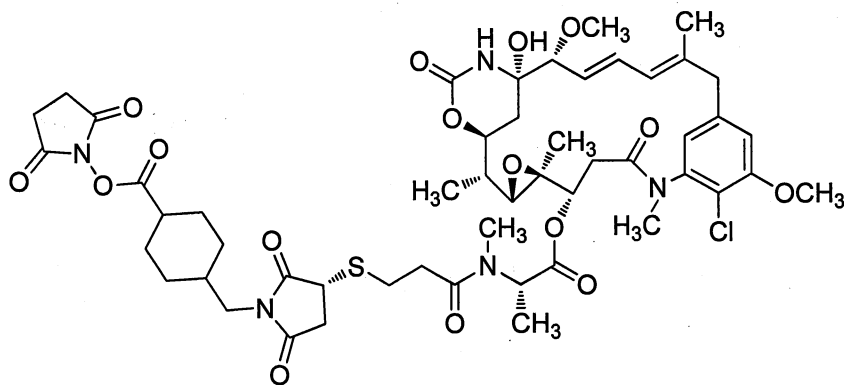


67. Chất đồng phân không đối quang theo điểm 62, trong đó chất đồng phân không

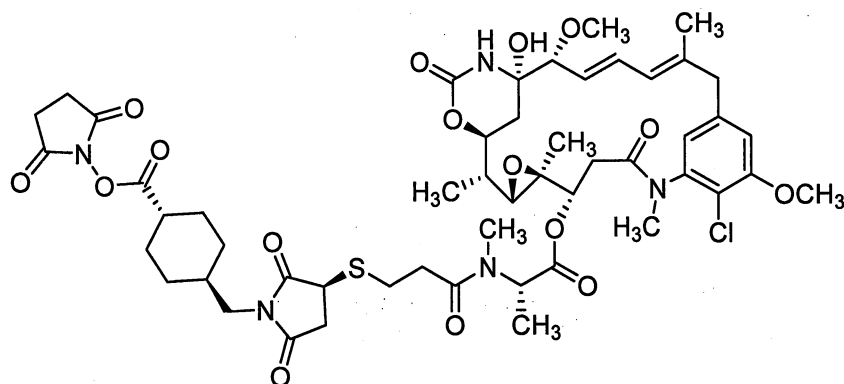
đồng phân này là:



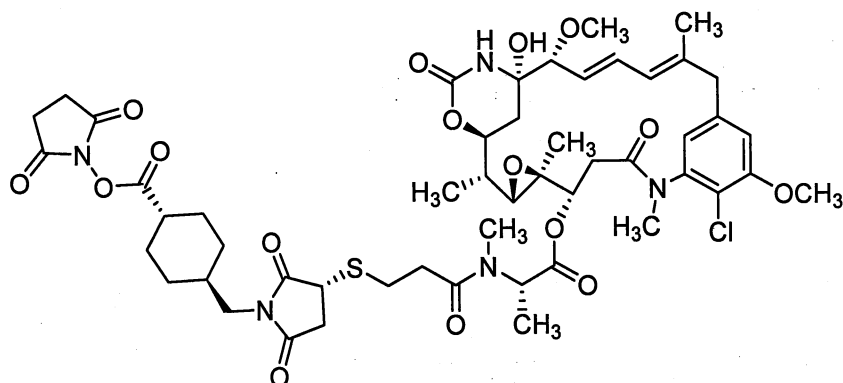
68. Chất đồng phân không đối quang theo điểm 62, trong đó chất đồng phân không đối quang này là:



69. Chất đồng phân không đối quang theo điểm 62, trong đó chất đồng phân không đối quang này là:



70. Chất đồng phân không đối quang theo điểm 62, trong đó chất đồng phân không đối quang này là:

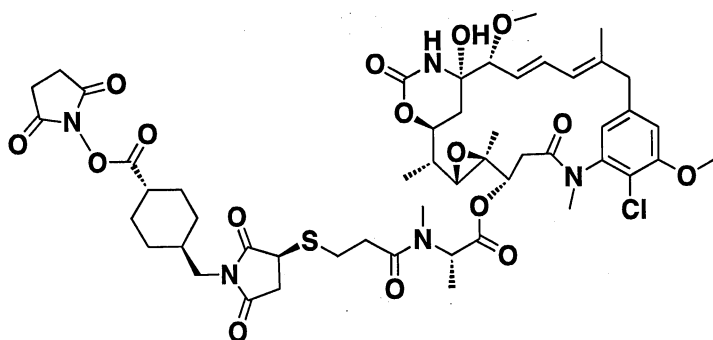


71. Chất đồng phân không đối quang theo điểm 62, trong đó chất đồng phân không đối quang có mặt ở lượng dư chất đồng phân không đối quang lớn hơn 95%.

72. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 12 đến 19, trong đó hợp chất có công thức I được đặc trưng bởi ^1H NMR về cơ bản như được thể hiện trên Fig.1.

73. Chất đồng phân không đối quang theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 62 đến 71, trong đó chất đồng phân không đối quang được đặc trưng bởi ^1H NMR về cơ bản như được thể hiện trên Fig.1.

74. Hợp chất có công thức (i):



(i)

trong đó hợp chất này tinh khiết về mặt đồng phân lập thể.

75. Chế phẩm theo điểm 2, trong đó protein GAGE được chọn từ nhóm gồm GAGE-1 và GAGE-2.

76. Chế phẩm theo điểm 2, trong đó protein MAGE được chọn từ nhóm gồm MAGE-

1, MAGE-2, MAGE-3, MAGE-4, MAGE-6, và MAGE-12.

77. Thể liên hợp kháng thể-dược chất, trong đó thể liên hợp kháng thể-dược chất này được tạo ra bằng cách kết hợp hợp chất theo điểm 72 với kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó.

78. Quy trình theo điểm 44, trong đó protein GAGE được chọn từ nhóm gồm GAGE-1 và GAGE-2.

79. Quy trình theo điểm 44, trong đó protein MAGE được chọn từ nhóm gồm MAGE-1, MAGE-2, MAGE-3, MAGE-4, MAGE-6, và MAGE-12.

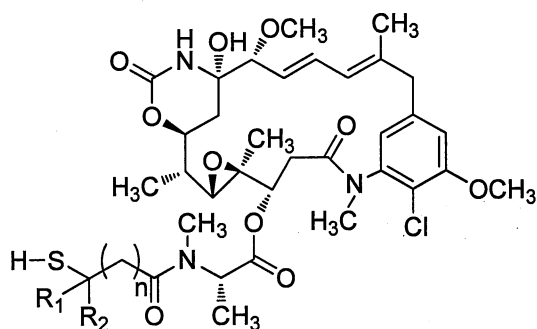
80. Quy trình theo điểm 47, trong đó protein GAGE được chọn từ nhóm gồm GAGE-1 và GAGE-2.

81. Quy trình theo điểm 47, trong đó protein MAGE được chọn từ nhóm gồm MAGE-1, MAGE-2, MAGE-3, MAGE-4, MAGE-6, và MAGE-12.

82. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 20 đến 29, bao gồm các bước, sau bước (a) và trước bước (b):

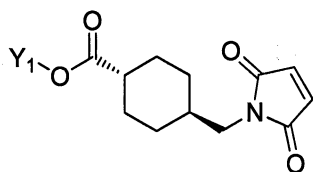
(c) bổ sung vào hỗn hợp này một hỗn hợp khác chứa:

(i) hợp chất có công thức III:



III;

(ii) hợp chất có công thức IV:



IV

- (iii) gel silica;
- (iv) chất pha loãng chứa dung môi hữu cơ và nước; và
- (d) cho hỗn hợp khác từ bước (c) này phản ứng;

trong đó R_1 và R_2 độc lập được chọn từ H hoặc alkyl; và n độc lập là 0 hoặc số nguyên từ 1 đến 50.

TM-18-139-1_15Dec2011
 Thư mục lưu trữ: \exporthome\miki\kuphnm\sys\data
 Thư mục mẫu: TM-18-139-1_15Dec2011
 File: PROTON

Trình tự xung: s2pu1
 Dung môi: CDCl₃
 Nhiệt độ môi trường
 INOVA-300 "varian300"

Thời gian trễ nghỉ: 1,000 giây
 Xung: 45,0 độ
 Thời gian thu nhận: 3,744 giây
 Khoảng rộng: 3593,4 Hz

32 lần lặp
 OBSERVE F1: 299,8782504 MHz
 Xử lý dữ liệu
 Kích thước FT: 32768

Tổng thời gian: 2 phút, 32 giây

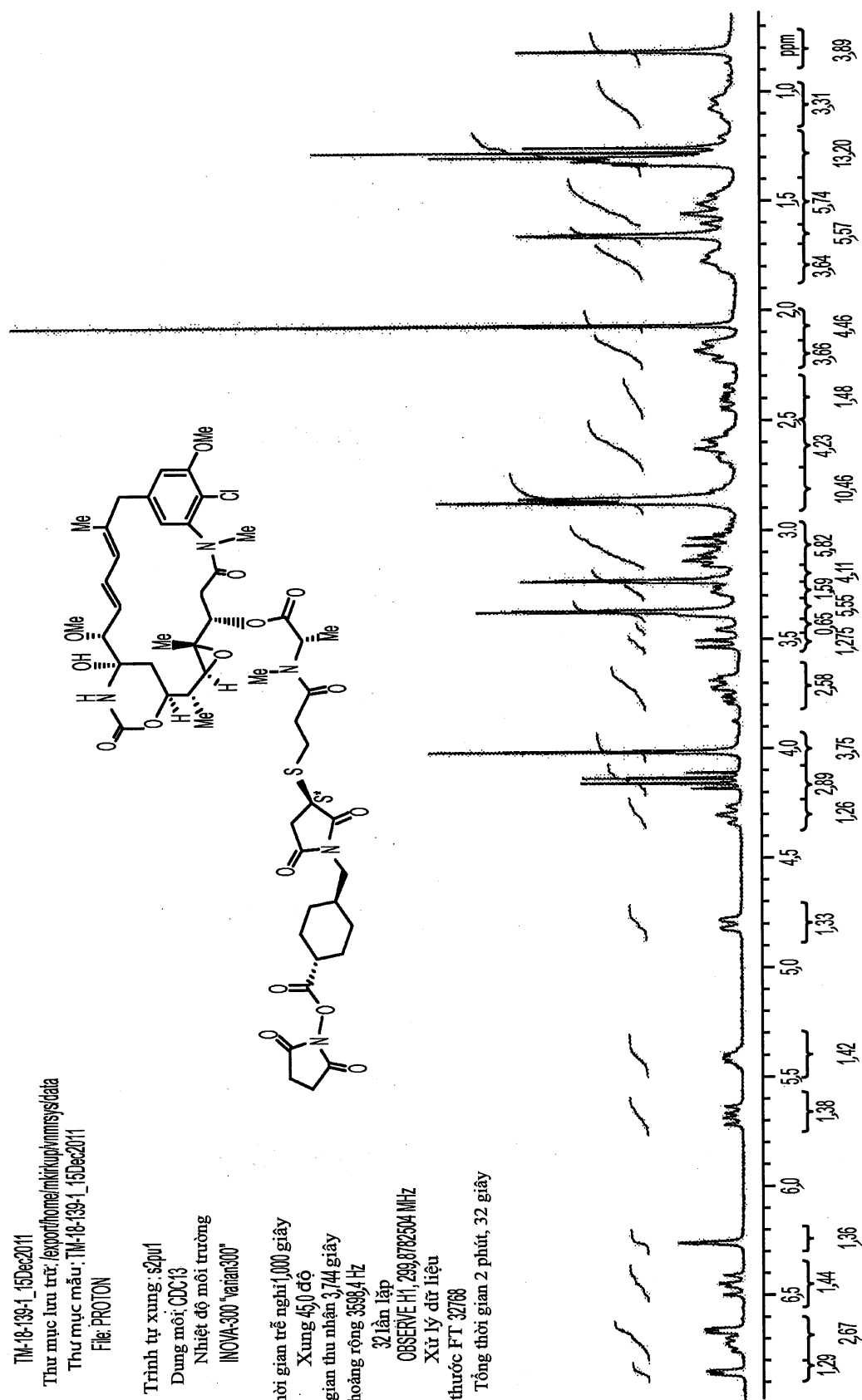


Fig. 1

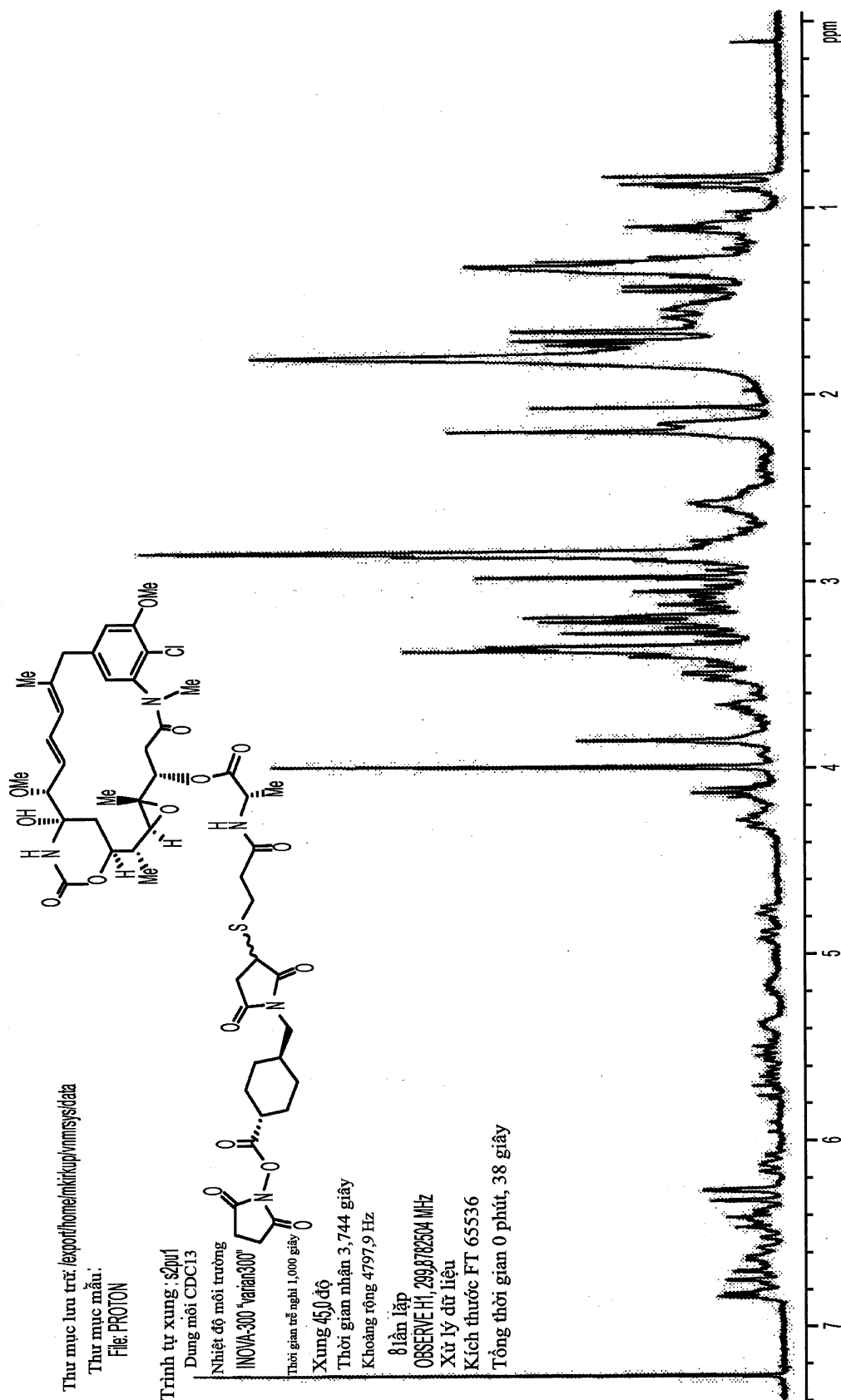


Fig. 2

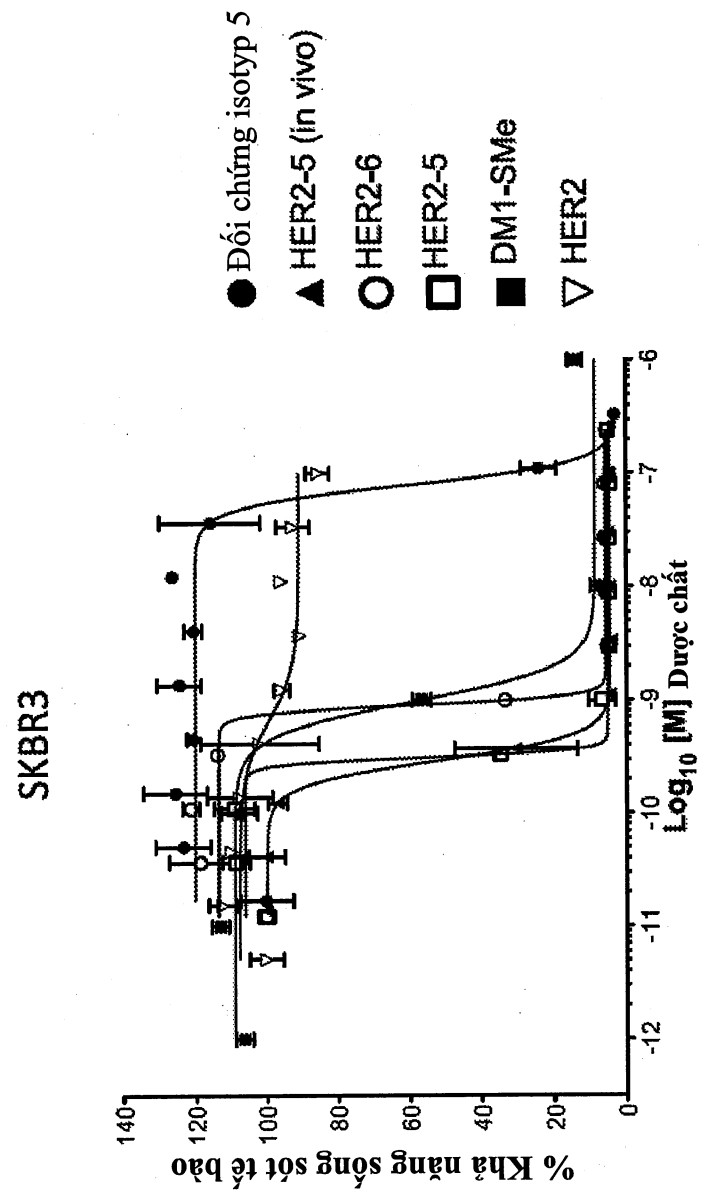


Fig. 3

BT474

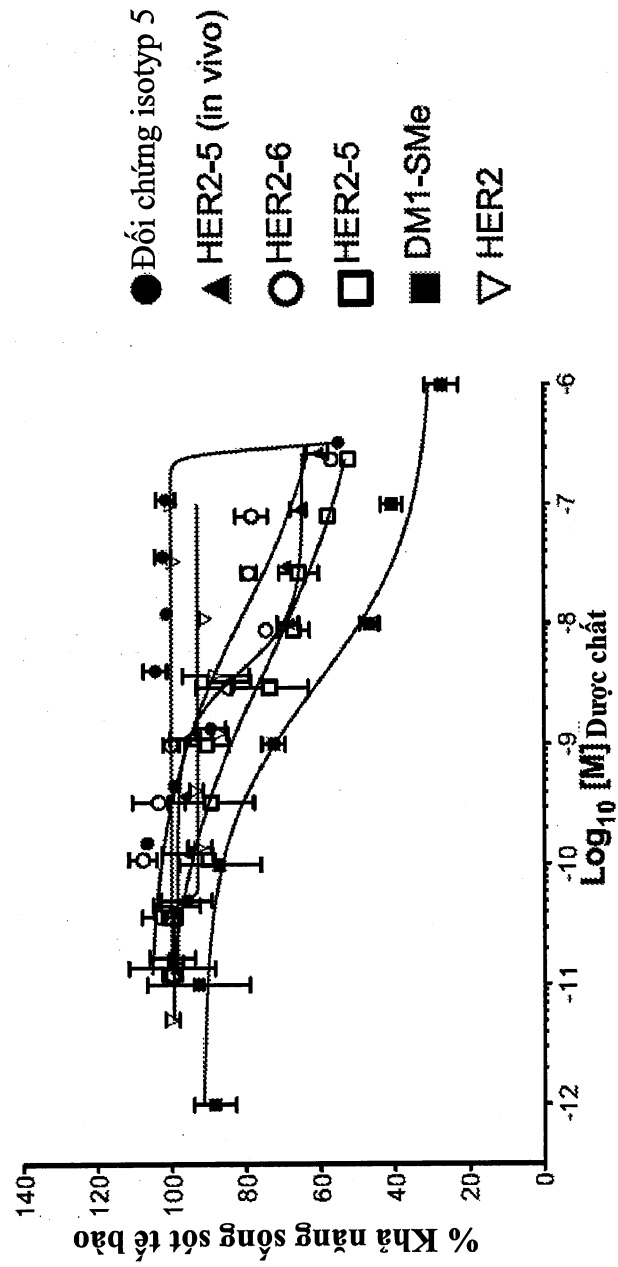


Fig. 4

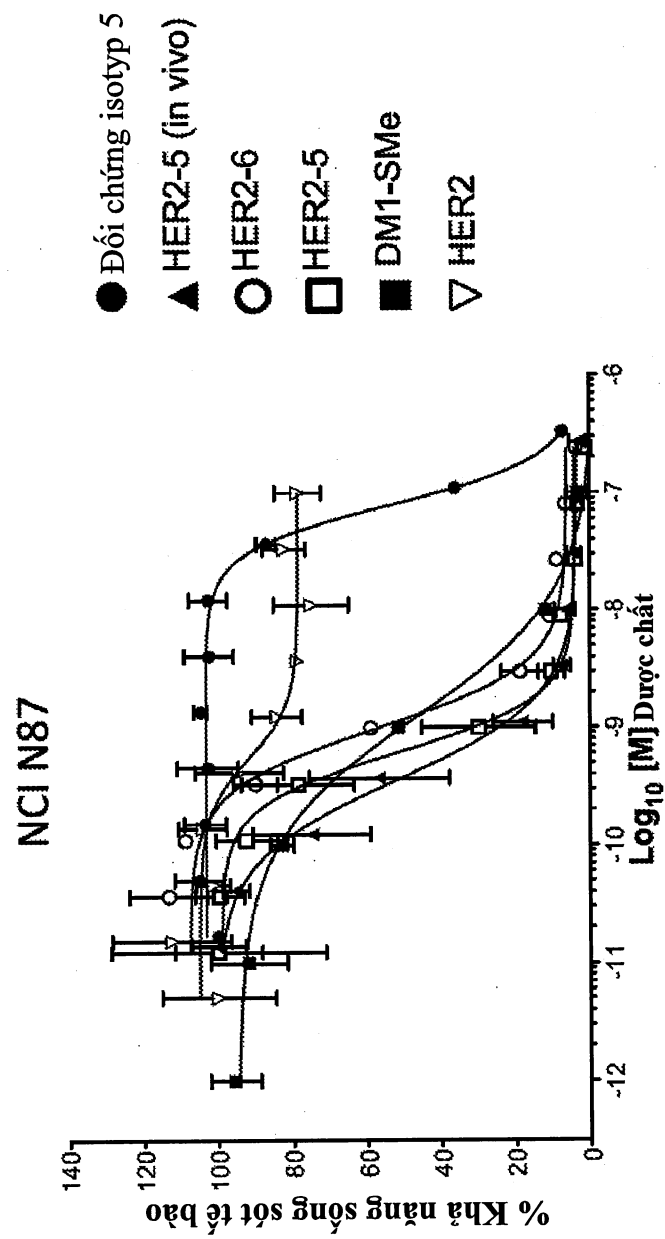


Fig. 5

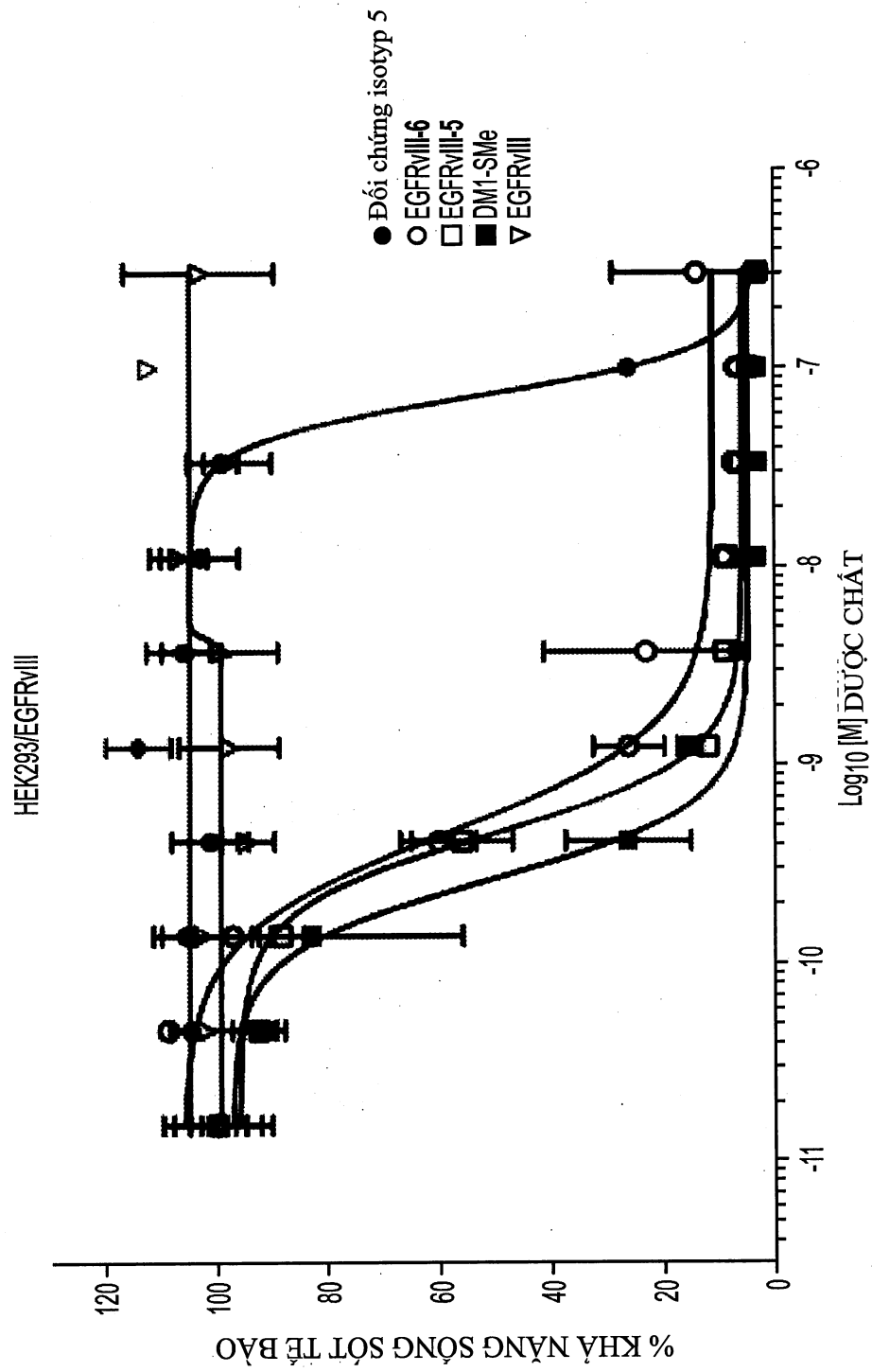


Fig. 6

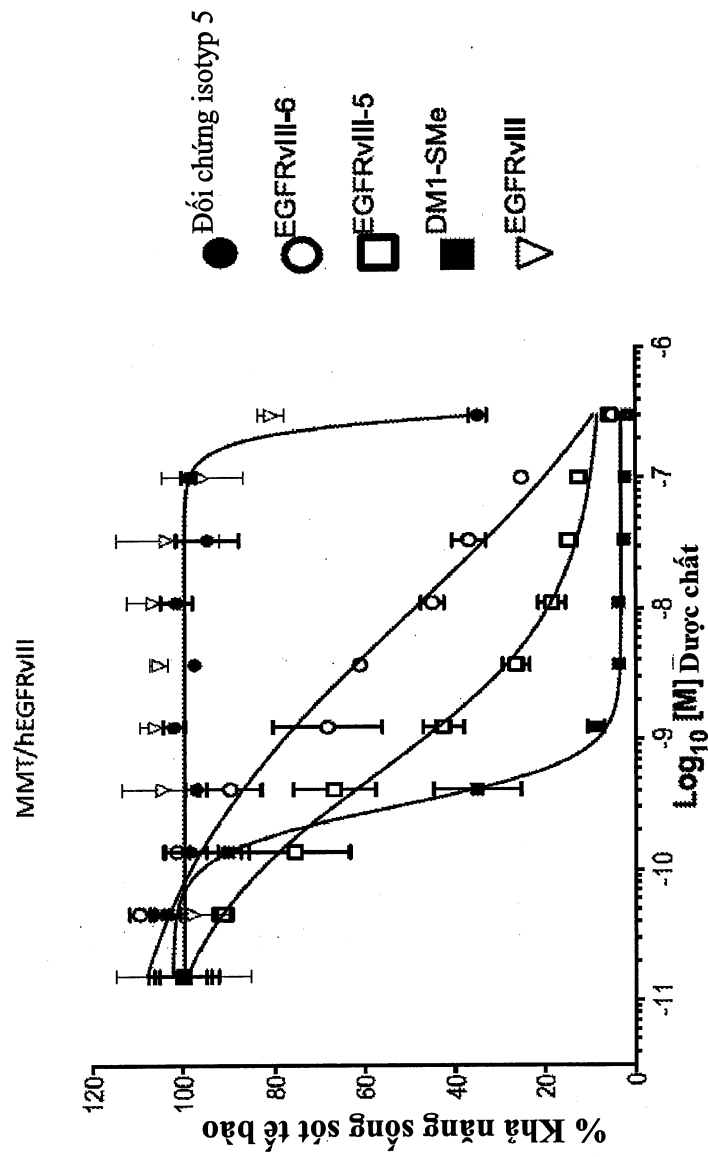


Fig. 7

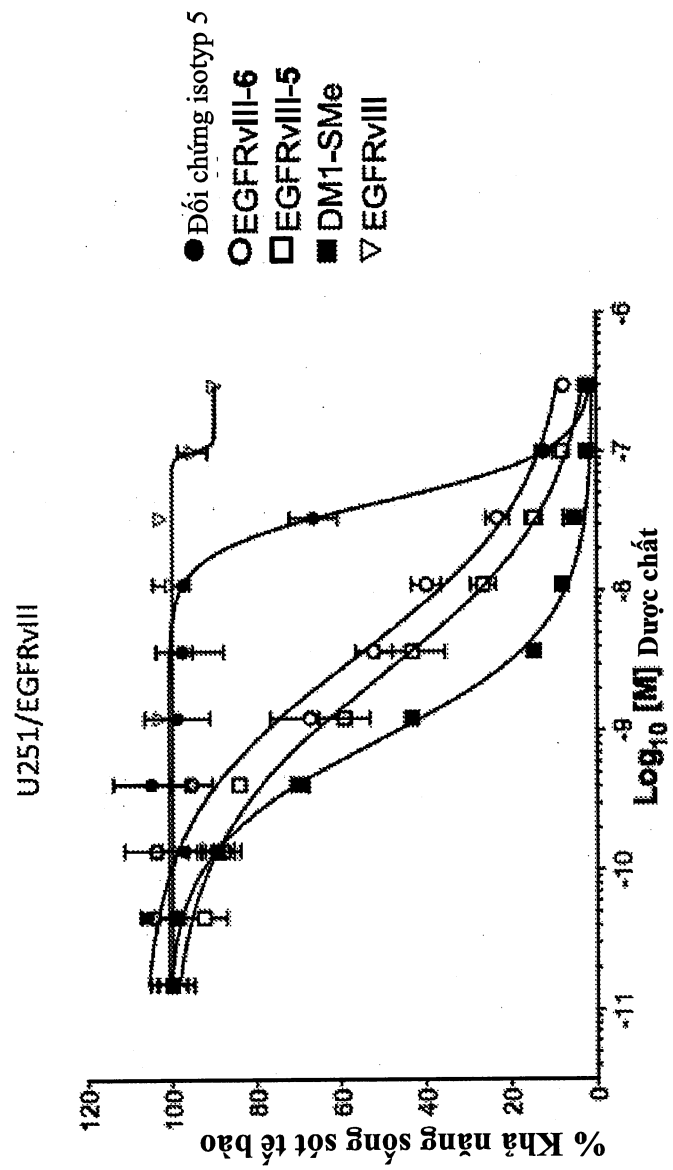


Fig. 8

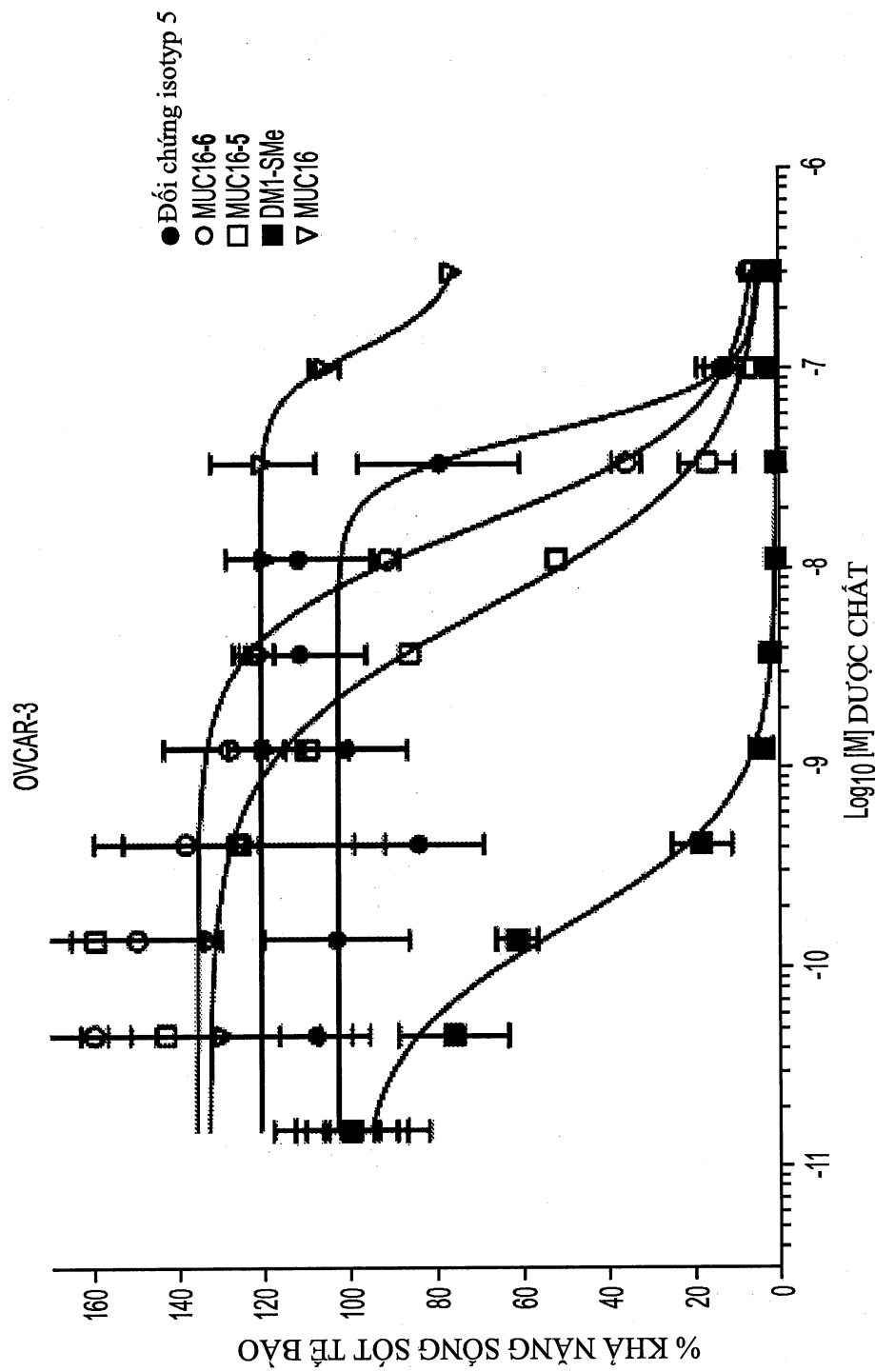


Fig. 9

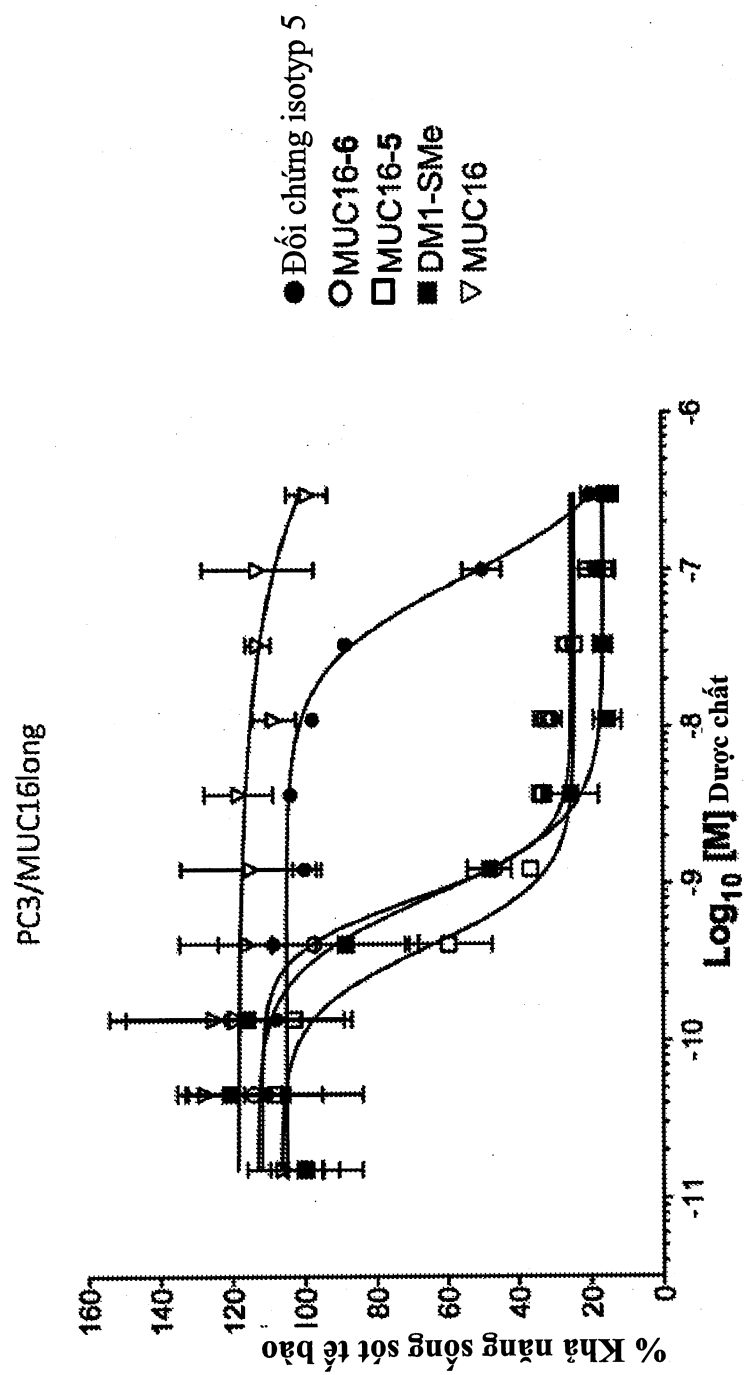


Fig. 10



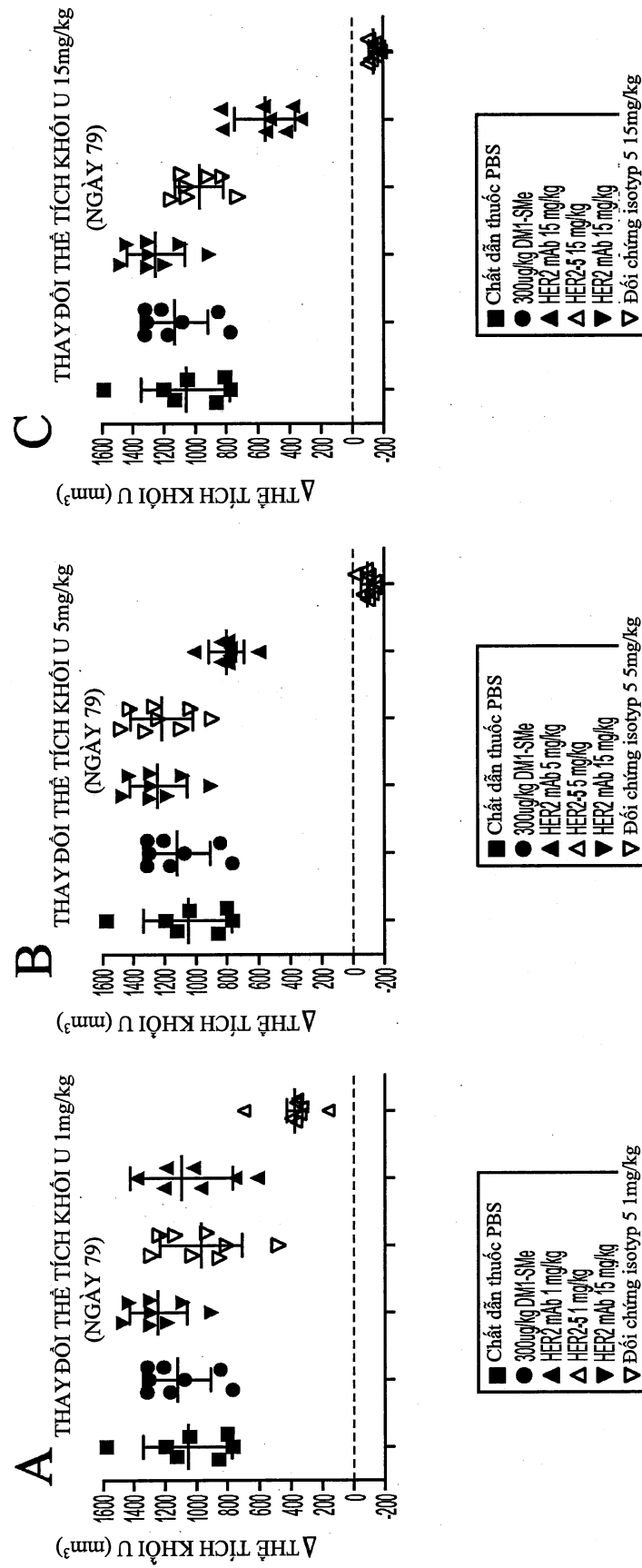


Fig. 12 GIÁ TRỊ TRUNG BÌNH $\pm$ SD

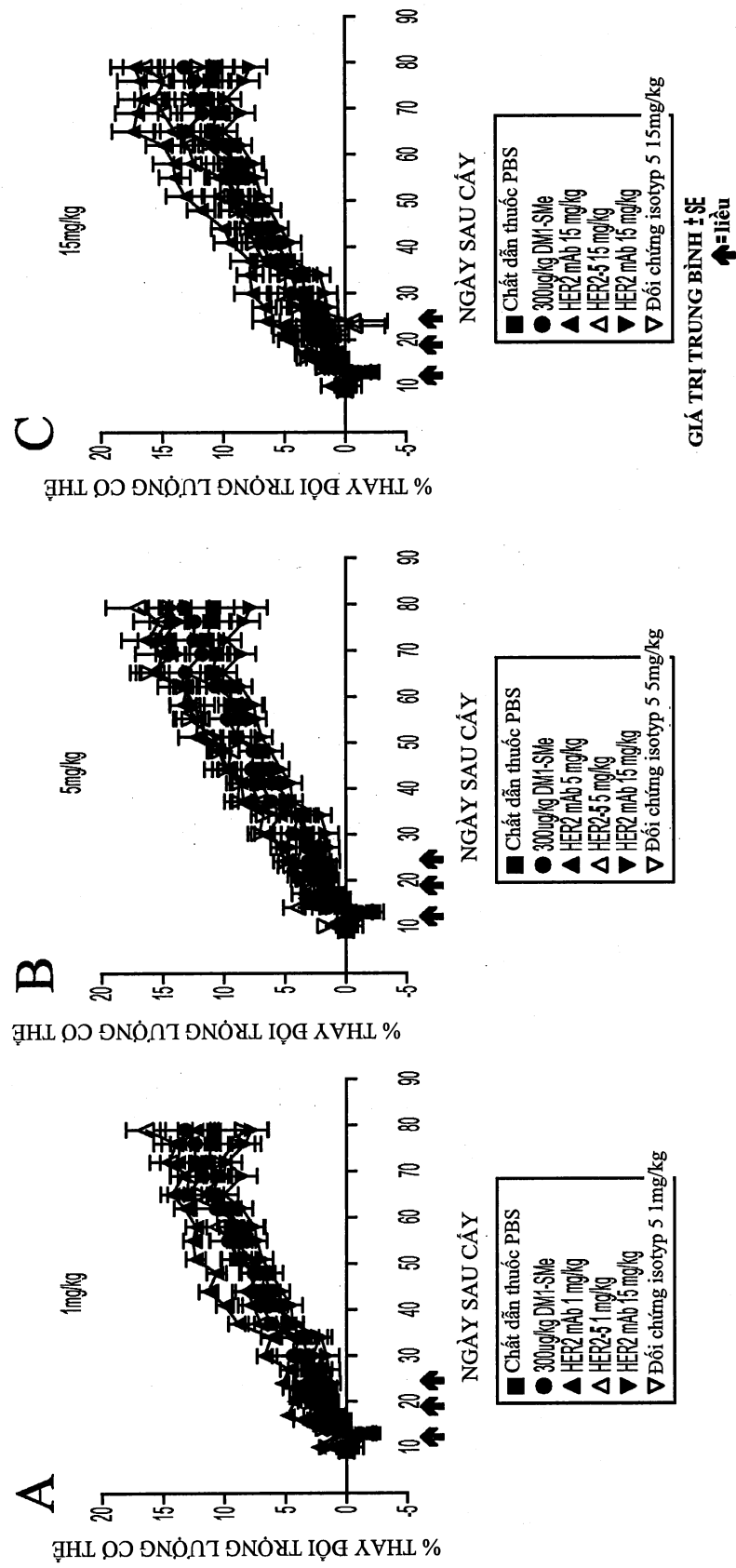


Fig. 13