



(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)



1-0028316

(51)⁷ A61K 47/48; A61K 38/26; A61K 39/395 (13) B

(21) 1-2016-00396

(22) 14/07/2014

(86) PCT/KR2014/006329 14/07/2014

(87) WO2015/005748 15/01/2015

(30) 10-2013-0082511 12/07/2013 KR

(45) 25/05/2021 398

(43) 27/06/2016 339A

(73) HANMI PHARM. CO., LTD. (KR)

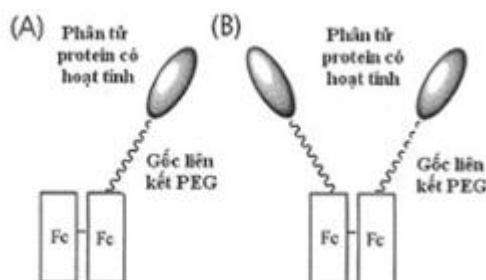
214, Muha-ro, Paltan-myeon, Hwaseong-si, Gyeonggi-do 445-958, Republic of Korea

(72) PARK, Sung Hee (KR); KIM, Min Young (KR); LIM, Hyung Kyu (KR); BAE, Sung Min (KR); JUNG, Sung Youb (KR); KWON, Se Chang (KR).

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

(54) DƯỢC PHẨM TÁC DỤNG KÉO DÀI VÀ PHƯƠNG PHÁP BẢO CHẾ DƯỢC PHẨM NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm tác dụng kéo dài chứa thể tiếp hợp chứa polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch và phương pháp bào chế dược phẩm này.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến được phẩm tác dụng kéo dài chứa thể tiếp hợp chứa polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch, trong đó được phẩm này chứa thể tiếp hợp monome chứa một phân tử của polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn, và chứa thể tiếp hợp multime chứa hai hoặc nhiều phân tử của cùng một polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn, với điều kiện là tỷ lệ mol giữa thể tiếp hợp monome và thể tiếp hợp multime trong được phẩm này ít nhất bằng 19; thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch trong đó monome polypeptit có hoạt tính sinh lý này được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch thông qua gốc liên kết không peptidyl, trong đó polypeptit có hoạt tính sinh lý này được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch ở dạng monome thông qua gốc liên kết không peptidyl, thể tiếp hợp này có khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể hoặc độ thanh thải qua trung gian thụ thể giảm hơn so với thể tiếp hợp dime chứa hai phân tử polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn thông qua gốc liên kết không peptidyl, hoặc thể tiếp hợp chứa dime polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết trong khung với mảnh Fc globulin miễn dịch; và phương pháp bào chế được phẩm tác dụng kéo dài này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Đã biết rằng các protein *in vivo* được thanh thải theo nhiều cơ chế khác nhau, bao gồm cơ chế thoái biến bởi proteaza trong huyết thanh, bài tiết thông qua thận, hoặc thanh thải bởi các thụ thể. Do đó, đã có nhiều nỗ lực để hạn chế các cơ chế thanh thải protein này nhằm làm tăng thời gian bán thải của các protein có hoạt tính sinh lý, nhờ đó tăng cường hiệu quả trị liệu của chúng. Đặc biệt là, các nghiên cứu đã được thực hiện trên các thể tiếp hợp protein chứa polyme polyetylen glycol (PEG), albumin, axit béo hoặc mảnh Fc của kháng thể (vùng hằng định) liên kết với protein để làm tăng thời gian bán thải của protein này. Các nghiên cứu như vậy nhằm mục đích cho chất này liên kết cộng hóa trị với protein có hoạt tính sinh lý để làm tăng thời gian bán thải trong huyết thanh của

protein có hoạt tính sinh lý này và giảm được số lần dùng thuốc, nhờ đó tạo điều kiện thuận lợi cho bệnh nhân. Đặc biệt là, để làm ổn định các protein và ngăn không cho chúng tiếp xúc với proteaza và bài tiết thông qua thận, phương pháp gắn kết hóa học của các polyme hòa tan mạnh như PEG với bề mặt của dược chất là protein được sử dụng. Trong phương pháp này, đã biết rằng polyme gắn kết không đặc hiệu với vị trí đặc hiệu hoặc các vị trí khác của protein đích để làm tăng độ hòa tan của protein, làm ổn định protein và ngăn cản quá trình thủy phân protein, và ngoài ra không làm xuất hiện các tác dụng phụ cụ thể (Sada *et al.*, J. Fermentation Bioengineering 71: 137-139, 1991). Tuy nhiên, phương pháp này có nhược điểm ở chỗ ngay cả khi PEG đã được liên kết với protein có hoạt tính sinh lý có thể làm tăng độ ổn định của protein này, nhưng nó lại làm giảm nồng độ protein một cách đáng kể, và nếu khối lượng phân tử của PEG tăng lên, thì khả năng phản ứng của nó với protein lại giảm xuống, dẫn đến làm giảm hiệu suất. Ngoài ra, khi gốc axit amin đặc hiệu của protein được cải biến bằng các axit béo, thì các axit béo đã được cải biến sẽ gắn kết thuận nghịch với albumin trong huyết thanh để làm tăng thời gian bán thải trong huyết thanh của protein, nhưng thời gian bán thải kéo dài trong khoảng từ một ngày đến một tuần, chứng tỏ rằng thời gian bán thải tăng không có ý nghĩa. Ngoài ra, phương pháp này còn có nhược điểm ở chỗ protein có hoạt tính sinh lý đã được tách một cách thuận nghịch ra khỏi albumin sẽ bị bài tiết qua thận một cách dễ dàng.

Với những lí do này, đã có nhiều nỗ lực trong việc sử dụng các mảnh globulin miễn dịch để làm tăng thời gian bán thải của các chất có hoạt tính sinh lý, kể cả các protein. Cụ thể, các nghiên cứu được tiến hành một cách tích cực để làm tăng độ ổn định của các protein trị liệu bằng cách dung hợp protein trị liệu này với các mảnh Fc globulin miễn dịch như vậy.

Đã biết cách biểu hiện interferon (Công bố đơn yêu cầu cấp patent Hàn Quốc số 2003-9464), thụ thể interleukin-4, thụ thể interleukin-7 hoặc thụ thể erythropoietin (Patent Hàn Quốc số 249572) ở dạng thể dung hợp với mảnh Fc globulin miễn dịch ở động vật có vú bằng phương pháp tái tổ hợp di truyền. Ngoài ra, Công bố đơn quốc tế số WO 01/03737 mô tả protein dung hợp chứa xytokin hoặc yếu tố sinh trưởng liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch thông qua một liên kết oligopeptit. Hơn nữa, Patent Mỹ số 5,116,964 mô tả protein dung hợp chứa LHR (lymphocyte cell surface glycoprotein -

glycoprotein bề mặt tế bào lympho) hoặc protein CD4 dung hợp với đầu tận cùng amino hoặc carboxy của mảnh Fc globulin miễn dịch bằng phương pháp tái tổ hợp di truyền, và Patent Mỹ số 5,349,053 mô tả protein dung hợp chứa IL-2 với mảnh Fc globulin miễn dịch. Ngoài ra, ví dụ về các protein dung hợp Fc đã được tạo ra bằng các phương pháp tái tổ hợp di truyền bao gồm protein dung hợp chứa interferon-beta hoặc dẫn xuất của nó với mảnh Fc globulin miễn dịch (Công bố đơn quốc tế số WO 00/23472), protein dung hợp chứa thụ thể IL-5 với mảnh Fc globulin miễn dịch (Patent Mỹ số 5,712,121), protein dung hợp chứa interferon-alpha với mảnh G4 Fc globulin miễn dịch (Patent Mỹ số 5,723,125), và protein dung hợp chứa protein CD4 với mảnh G2 Fc globulin miễn dịch (Patent Mỹ số 6,451,313). Ngoài ra, Patent Mỹ số 5,605,690 liên quan đến quá trình cải biến các gốc axit amin trong mảnh Fc globulin miễn dịch và mô tả protein dung hợp TNFR-IgG1 Fc đã được tạo ra bằng phương pháp tái tổ hợp di truyền bằng cách sử dụng mảnh Fc thu được bằng cách cải biến các gốc axit amin của vị trí gắn kết với bộ thể cụ thể hoặc vị trí gắn kết thụ thể trong mảnh Fc globulin miễn dịch. Hơn thế nữa, các phương pháp tạo ra protein dung hợp bằng phương pháp tái tổ hợp di truyền bằng cách sử dụng vùng Fc globulin miễn dịch đã được cải biến như nêu trên cũng được mô tả trong các Patent Mỹ số 6,277,375, 6,410,008 và 6,444,792. Tuy nhiên, các thuốc có nguồn gốc sinh học có mảnh Fc globulin miễn dịch đã được dung hợp vào đó cần phải giải quyết được các vấn đề gây độc tế bào gây ra bởi chức năng tác động vốn có của mảnh Fc này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Các tác giả sáng chế đã có nhiều nỗ lực để tạo ra thể tiếp hợp có thời gian bán thải *in vivo* trong huyết thanh tăng bằng cách cho mảnh Fc globulin miễn dịch liên kết với polypeptit có hoạt tính sinh lý. Do đó, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng khi polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch ở dạng monome, thì nó có độ thanh thải qua trung gian thụ thể giảm được một cách đáng kể và cũng có thời gian bán thải kéo dài ngay cả ở mô hình chuột, so với khi polypeptit có hoạt tính sinh lý có mặt ở dạng multime.

Mục đích của sáng chế là đề cập đến được phẩm tác dụng kéo dài chứa thể tiếp hợp chứa polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch, trong đó được phẩm này chứa thể tiếp hợp monome chứa một phân tử của polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn, và thể tiếp hợp

multime chứa hai hoặc nhiều phân tử của cùng một polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn, với điều kiện là tỷ lệ mol giữa thể tiếp hợp monome và thể tiếp hợp multime trong được phẩm này ít nhất bằng 19.

Sáng chế cũng đề cập đến thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch, trong đó monome polypeptit có hoạt tính sinh lý này được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch thông qua gốc liên kết không peptidyl, trong đó polypeptit có hoạt tính sinh lý này được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch thông qua gốc liên kết không peptidyl ở dạng monome, thể tiếp hợp này có khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể hoặc độ thanh thải qua trung gian thụ thể giảm hơn so với thể tiếp hợp chứa polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết trong khung với mảnh Fc globulin miễn dịch.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp bào chế được phẩm tác dụng kéo dài, phương pháp này bao gồm các bước: (a) cho polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch để tạo ra hỗn hợp của các thể tiếp hợp chứa polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch; và (b) phân tách ra khỏi hỗn hợp này thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch, trong đó một phân tử của polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn.

Như được mô tả nêu trên, thể tiếp hợp theo sáng chế chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với thể tiếp hợp Fc globulin miễn dịch có khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể hoặc độ thanh thải qua trung gian thụ thể giảm một cách đáng kể, và do đó làm tăng thời gian bán thải trong huyết thanh. Do đó, thể tiếp hợp theo sáng chế có thể làm cho được chất có thời gian bán thải trong huyết thanh tăng và thu được hiệu quả điều trị bệnh vượt trội.

Mô tả văn tắt hình vẽ

Fig.1 là sơ đồ thể hiện cấu trúc đại diện của thể tiếp hợp chứa Fc và monome polypeptit có hoạt tính sinh lý (Fig.1A) và cấu tạo phổ biến nhất của thể tiếp hợp chứa Fc và dime polypeptit có hoạt tính sinh lý (Fig.1B).

Fig.2 là biểu đồ so sánh mức độ tương tác nội nhập thụ thể giữa thể tiếp hợp chứa

mảnh Fc globulin miễn dịch và chất chủ vận GLP-1 (ví dụ theo sáng chế) và protein dung hợp chứa mảnh Fc globulin miễn dịch và chất chủ vận GLP-1, trong đó chất chủ vận GLP-1 có mặt ở dạng dime (ví dụ so sánh).

Fig.3 là biểu đồ so sánh được động học *in vivo* giữa thể tiếp hợp chứa chất chủ vận GLP-1 trong ví dụ theo sáng chế và thể tiếp hợp chứa chất chủ vận GLP-1 trong ví dụ so sánh.

Mô tả chi tiết sáng chế

Để đạt được các mục đích nêu trên, theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến được phẩm tác dụng kéo dài chứa thể tiếp hợp chứa polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch, trong đó được phẩm này chứa thể tiếp hợp monome chứa một phân tử của polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn, và thể tiếp hợp multime chứa hai hoặc nhiều phân tử của cùng một polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn, với điều kiện là tỷ lệ mol giữa thể tiếp hợp monome và thể tiếp hợp multime trong được phẩm này ít nhất bằng 19.

Theo một phương án, thể tiếp hợp nằm trong được phẩm tác dụng kéo dài có thể chứa gốc liên kết không peptidyl được bố trí xen giữa polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch để polypeptit có hoạt tính sinh lý này liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch.

Theo phương án khác, thể tiếp hợp monome có thể có khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể hoặc độ thanh thải qua trung gian thụ thể giảm hơn so với thể tiếp hợp dime chứa hai phân tử polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn thông qua gốc liên kết không peptidyl, hoặc thể tiếp hợp chứa dime polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết trong khung với mảnh Fc globulin miễn dịch.

Theo một phương án khác, polypeptit có hoạt tính sinh lý có thể được chọn từ nhóm bao gồm peptit tương tự glucagon 1, yếu tố kích thích tạo máu bạch cầu hạt, hormon sinh trưởng của người, erythropoietin, glucagon, oxyntomodulin, insulin, hormon giải phóng hormon sinh trưởng, peptit giải phóng hormon sinh trưởng, interferon, thụ thể

interferon, thụ thể liên hợp với protein G, interleukin, thụ thể interleukin, enzym, protein gắn kết với interleukin, protein gắn kết xytokin, yếu tố hoạt hóa đại thực bào, peptit đại thực bào, yếu tố tế bào B, yếu tố tế bào T, protein A, chất ức chế dị ứng, glycoprotein hoại tử tế bào, độc tố miễn dịch, lymphotoxin, yếu tố hoại tử khối u, chất kìm hãm khối u, yếu tố phát triển sự di căn, alpha-1 antitrypsin, albumin, α -lactalbumin, apolipoprotein-E, erythropoietin đã được glycosyl hóa ở mức cao, angiopoietin, hemoglobin, trombin, peptit hoạt hóa thụ thể trombin, trombomodulin, yếu tố đông máu VII, yếu tố đông máu VIIa, yếu tố đông máu VIII, yếu tố đông máu IX và yếu tố đông máu XIII, yếu tố hoạt hóa plasminogen, peptit gắn kết với fibrin, urokinaza, streptokinaza, hirudin, protein C, protein phản ứng C, chất ức chế renin, chất ức chế collagenaza, superoxit dismutaza, leptin, yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu, yếu tố sinh trưởng biểu mô, yếu tố sinh trưởng biểu bì, angiostatin, angiotensin, yếu tố sinh trưởng xương, protein kích thích sự tạo xương, calcitonin, atriopeptin, yếu tố tạo sụn, elcatonin, yếu tố hoạt hóa mô liên kết, chất ức chế quá trình của yếu tố mô, hormon kích thích nang, hormon tạo thể vàng, hormon giải phóng hormon tạo thể vàng, yếu tố sinh trưởng thần kinh, hormon tuyến cận giáp, relaxin, secretin, somatomedin, yếu tố sinh trưởng tương tự insulin, hormon vỏ tuyến thượng thận, cholexystokinin, polypeptit tuyến tụy, peptit giải phóng gastrin, yếu tố giải phóng corticotropin, hormon kích thích tuyến giáp, autotaxin, lactoferin, myostatin, kháng nguyên bề mặt tế bào, kháng nguyên vaccin có nguồn gốc từ virus, kháng thể đơn dòng, kháng thể đa dòng, và mảnh kháng thể.

Theo một phương án khác, polypeptit có hoạt tính sinh lý có thể được chọn từ nhóm bao gồm peptit tương tự glucagon 1, yếu tố kích thích tạo máu bạch cầu hạt, hormon sinh trưởng của người, erythropoietin, glucagon, oxyntomodulin, insulin và các dẫn xuất của chúng.

Theo một phương án khác, gốc liên kết không peptidyl có thể được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, polyol đã được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyl, polysacarit, dextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án khác, gốc liên kết không peptidyl có thể có khối lượng phân tử nằm trong khoảng từ 1 đến 100 kDa.

Theo một phương án khác, mảnh Fc globulin miễn dịch có thể chứa 1 đến 4 miền được chọn từ nhóm bao gồm miền CH1, miền CH2, miền CH3 và miền CH4.

Theo một phương án khác, mảnh Fc globulin miễn dịch có thể còn chứa vùng bản lề.

Theo một phương án khác, mảnh Fc globulin miễn dịch có thể được chọn từ nhóm bao gồm IgG, IgA, IgD, IgE, IgM, hỗn hợp của chúng và các thể lai của chúng.

Theo một phương án khác, mảnh Fc globulin miễn dịch có thể là mảnh Fc IgG4.

Theo một phương án khác, mảnh Fc globulin miễn dịch có thể ở dạng không được glycosyl hóa.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch, trong đó monome polypeptit có hoạt tính sinh lý này được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch thông qua gốc liên kết không peptidyl, trong đó polypeptit có hoạt tính sinh lý này được liên kết thông qua gốc liên kết không peptidyl với mảnh Fc globulin miễn dịch ở dạng monome, thể tiếp hợp có khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể hoặc độ thanh thải qua trung gian thụ thể giảm hơn so với thể tiếp hợp dime chứa hai phân tử polypeptit có hoạt tính sinh lý liên kết thông qua gốc liên kết không peptidyl với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn, hoặc thể tiếp hợp chứa dime polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết trong khung với mảnh Fc globulin miễn dịch.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp bào chế được phẩm tác dụng kéo dài, phương pháp này bao gồm các bước: (a) cho polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch để tạo ra hỗn hợp của các thể tiếp hợp chứa polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch; và (b) phân phân tách ra khỏi hỗn hợp này thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch chứa một phân tử của polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn.

Theo một phương án, polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch, nằm trong thể tiếp hợp trong phương pháp này, có thể được liên kết với nhau thông qua gốc liên kết không peptidyl.

Theo một phương án khác, thể tiếp hợp chứa một phân tử của polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn trong phương pháp này có thể có khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể hoặc độ thanh thải qua trung gian thụ thể giảm hơn so với thể tiếp hợp dime chứa hai phân tử polypeptit có hoạt tính sinh lý liên kết thông qua gốc liên kết không peptidyl với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn, hoặc thể tiếp hợp chứa dime polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết trong khung với mảnh Fc globulin miễn dịch.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến được phẩm tác dụng kéo dài chứa thể tiếp hợp chứa polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch, trong đó được phẩm này chứa thể tiếp hợp monome chứa một phân tử của polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn, và thể tiếp hợp multime chứa hai hoặc nhiều phân tử của cùng một polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn, với điều kiện là tỷ lệ mol giữa thể tiếp hợp monome và thể tiếp hợp multime trong được phẩm này ít nhất bằng 19.

Theo một phương án, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch có khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể và độ thanh thải qua trung gian thụ thể giảm hơn so với thể tiếp hợp chứa multime polypeptit có hoạt tính sinh lý, đặc biệt là dime polypeptit có hoạt tính sinh lý, được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch, và do đó có thể có thời gian bán thải trong huyết thanh tăng. Do đó, đã phát hiện ra rằng được chất chứa thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch để có độ thanh thải qua thụ thể giảm, có thể được sử dụng làm được chất có tác dụng kéo dài, do nó có khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể và độ thanh thải qua trung gian thụ thể giảm. Mặt khác, sáng chế đã dựa trên phát hiện rằng thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch có khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể và độ thanh thải qua trung gian thụ thể giảm hơn so với thể tiếp hợp multime, cụ thể là thể tiếp hợp dime.

Thuật ngữ “được phẩm tác dụng kéo dài” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ được phẩm chứa thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch có khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể và độ thanh thải qua trung gian thụ thể giảm hơn so với chính polypeptit có hoạt tính sinh lý hoặc

multime polypeptit có hoạt tính sinh lý-mảnh Fc globulin miễn dịch. Mặt khác, thuật ngữ này được sử dụng trong bản mô tả để chỉ được phẩm chứa thể tiếp hợp monome chứa một phân tử polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn. Ngoài ra, thuật ngữ “được phẩm” có thể được sử dụng thay cho thuật ngữ “chế phẩm”.

Trong được phẩm theo sáng chế, tỷ lệ mol giữa thể tiếp hợp monome chứa một phân tử polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn và thể tiếp hợp multime chứa hai hoặc nhiều phân tử của cùng một polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch có thể ít nhất bằng 19:1, tốt hơn nếu ít nhất là 99:1, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 500:1. Mặt khác, được phẩm tác dụng kéo dài được đặc trưng ở chỗ tỷ lệ mol giữa thể tiếp hợp monome và thể tiếp hợp multime ($[\text{thể tiếp hợp monome}]/[\text{thể tiếp hợp multime}]$) ít nhất bằng 19.

Theo một phương án của sáng chế, polypeptit có hoạt tính sinh lý trong thể tiếp hợp chứa polypeptit có hoạt tính sinh lý-polyme không phải là peptit-mảnh Fc globulin miễn dịch có mặt ở dạng monome, và trong trường hợp này, thể tiếp hợp này có thời gian tác dụng *in vivo* dài hơn so với trong trường hợp polypeptit có hoạt tính sinh lý có mặt ở dạng dime. Do đó, trong trường hợp được phẩm chỉ chứa thể tiếp hợp monome mà không chứa thể tiếp hợp multime hoặc trong đó tỷ lệ mol giữa thể tiếp hợp monome và thể tiếp hợp multime, cụ thể là thể tiếp hợp dime, ít nhất bằng 19, thì được phẩm này có tác dụng làm tăng đáng kể thời gian bán thải trong huyết thanh của polypeptit có hoạt tính sinh lý, hơn so với các được phẩm khác.

Đặc biệt là, thể tiếp hợp monome theo sáng chế có thời gian tác dụng *in vivo* dài, do khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể của polypeptit có hoạt tính sinh lý giảm hơn so với thể tiếp hợp multime chứa hai hoặc nhiều phân tử polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch. Cụ thể, đã biết rằng cơ chế bài tiết qua thận, cơ chế khác xác định thời gian bán thải của phân tử, là tùy thuộc vào khối lượng phân tử của phân tử đó. Do đó, nếu khả năng bài tiết qua thận là biến số quan trọng xác định thời gian bán thải, thì thời gian bán thải sẽ tăng lên khi tăng tỷ lệ của thể tiếp hợp multime có khối lượng phân tử lớn hơn. Tuy nhiên, theo sáng chế, đã phát hiện ra rằng thể tiếp hợp monome có thời gian tác dụng *in vivo* dài hơn. Về mặt này, có thể nhận thấy rằng khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể là yếu tố quan trọng để làm

tăng thời gian bán thải *in vivo* của thể tiếp hợp theo sáng chế. Các kết quả này có thể suy ra các tác dụng có lợi (ví dụ, cản trở không gian giảm) của thể tiếp hợp monome, mà chúng không thể có được trong thể tiếp hợp multime.

Do đó, được phẩm tác dụng kéo dài theo sáng chế có thể có thời gian tác dụng *in vivo* dài hơn so với được phẩm chứa thể tiếp hợp chứa multime polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch hoặc thể tiếp hợp chứa dime polypeptit có hoạt tính sinh lý liên kết trong khung với Fc globulin miễn dịch. Đặc biệt là, trong được phẩm theo sáng chế, tỷ lệ mol giữa thể tiếp hợp monome chứa một phân tử polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn và thể tiếp hợp multime chứa hai hoặc nhiều phân tử của cùng một polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch có thể ít nhất bằng 19:1, tốt hơn nếu ít nhất là 99:1, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 500:1, và trong trường hợp này, được phẩm chứa thể tiếp hợp monome và thể tiếp hợp multime tạo ra chế phẩm có tác dụng kéo dài vượt trội, do thời gian bán thải *in vivo* của được phẩm này không bị giảm xuống.

Thuật ngữ “thể tiếp hợp chứa polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ thể tiếp hợp chứa polypeptit có hoạt tính sinh lý được tiếp hợp với mảnh Fc globulin miễn dịch. Tốt hơn, nếu thể tiếp hợp này có thể chứa gốc liên kết không peptidyl được bố trí xen giữa polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch để polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch.

Thuật ngữ “thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý được tiếp hợp với mảnh Fc globulin miễn dịch. Thể tiếp hợp này có dạng trong đó polypeptit có hoạt tính sinh lý riêng rẽ được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn. Trong bản mô tả này, tốt hơn nếu mảnh Fc globulin miễn dịch đơn ở dạng trong đó hai chuỗi Fc được liên kết với nhau bởi, ví dụ, liên kết disulfua, nhưng không bị giới hạn bởi liên kết này. Cấu trúc của thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch này được minh họa trên Fig.1, nhưng không bị giới hạn bởi cấu trúc này. Thuật ngữ “thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch” được sử dụng thay cho thuật ngữ “thể tiếp hợp monome”.

Thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch được đặc trưng ở chỗ nó có khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể hoặc độ thanh thải qua trung gian thụ thể giảm hơn so với thể tiếp hợp multime chứa hai hoặc nhiều phân tử polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn, hoặc thể tiếp hợp chứa multime polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết trong khung với mảnh Fc globulin miễn dịch. Do đó, dược chất chứa thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch riêng lẻ hoặc chứa thể tiếp hợp với tỷ lệ cao, có thời gian tác dụng *in vivo* kéo dài và hiệu quả điều trị vượt trội.

Đồng thời, thể tiếp hợp multime chứa hai hoặc nhiều phân tử polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch ở dạng trong đó hai hoặc nhiều phân tử của polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn (ví dụ, bao gồm hai chuỗi Fc được liên kết với nhau bởi liên kết disulfua hoặc liên kết tương tự).

Đặc biệt là, thể tiếp hợp chứa dime polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch ở dạng trong đó hai phân tử polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn (ví dụ, bao gồm hai chuỗi Fc được liên kết với nhau bởi liên kết disulfua hoặc liên kết tương tự). Trong bản mô tả này, polypeptit có hoạt tính sinh lý có thể được liên kết thông qua gốc liên kết không peptidyl với một trong số hai chuỗi cấu thành nên mảnh Fc globulin miễn dịch, nhưng không bị giới hạn bởi liên kết này. Cấu trúc này được thể hiện trên Fig.1(B).

Ngoài ra, thể tiếp hợp trong khung ở dạng trong đó multime polypeptit có hoạt tính sinh lý, đặc biệt là dime polypeptit có hoạt tính sinh lý, được liên kết trong khung với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn, và còn gọi là multime, trong đó hai hoặc nhiều polypeptit dung hợp bao gồm polypeptit có hoạt tính sinh lý được ngưng tụ với mảnh Fc globulin miễn dịch được tạo ra.

Đồng thời, trong monome polypeptit có hoạt tính sinh lý-mảnh Fc globulin miễn dịch theo sáng chế, monome polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết cộng hóa trị với mảnh Fc globulin miễn dịch thông qua gốc liên kết không peptidyl.

Thuật ngữ “gốc liên kết không peptidyl” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ polyme tương hợp sinh học cấu thành từ hai hoặc nhiều đơn vị lặp lại liên kết với nhau, trong đó các đơn vị lặp lại này được liên kết với nhau bởi liên kết cộng hóa trị không phải peptit bất kỳ. Gốc liên kết không peptidyl này có thể có hai đầu hoặc ba đầu.

Gốc liên kết không peptidyl được sử dụng theo sáng chế có thể được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme của etylen glycol với propylen glycol, polyol đã được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyllic, polysacarit, dextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học như axit polylactic (PLA) và axit polylactic-glycolic (PLGA), polyme lipit, kitin, axit hyaluronic và hỗn hợp của chúng, nhưng không bị giới hạn bởi các liên kết này. Tốt hơn, nếu nó là polyetylen glycol.

Ngoài ra, các dẫn xuất của chúng đã biết trong lĩnh vực này và các dẫn xuất có thể được điều chế một cách dễ dàng trong tình trạng kỹ thuật này là cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Liên kết peptit được sử dụng trong protein dung hợp đã được tạo ra bằng phương pháp dung hợp trong khung thông thường có nhược điểm ở chỗ nó bị phân giải một cách dễ dàng bởi proteaza *in vivo*, và do đó không thể thu được tác dụng vượt trội trong việc làm tăng thời gian bán thải trong huyết thanh của dược chất bởi chất mang. Với lý do này, ngoài liên kết peptit, gốc liên kết không peptidyl có thể được sử dụng theo sáng chế để tạo ra thể tiếp hợp. Gốc liên kết không peptidyl có thể là polyme có tính kháng với proteaza để duy trì thời gian bán thải trong huyết thanh của peptit, tương tự với đặc tính của chất mang. Do đó, gốc liên kết không peptidyl bất kỳ có thể được sử dụng theo sáng chế mà không bị giới hạn theo cách bất kỳ, với điều kiện là nó được tạo ra từ polyme có chức năng nêu trên, tức là polyme có tính kháng với proteaza *in vivo*. Gốc liên kết không peptidyl có khối lượng phân tử nằm trong khoảng từ 1 đến 100 kDa, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1 đến 20 kDa, nhưng không bị giới hạn bởi các khối lượng phân tử này.

Ngoài ra, gốc liên kết không peptidyl được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch theo sáng chế có thể được tạo ra không những từ một loại polyme, mà còn được tạo ra từ hỗn hợp của các loại polyme khác nhau.

Gốc liên kết không peptidyl được sử dụng trong sáng chế có các nhóm phản ứng có khả năng gắn kết với mảnh Fc globulin miễn dịch và dược chất protein.

Tốt hơn, nếu các nhóm phản ứng ở cả hai đầu của polyme không phải là peptit được chọn từ nhóm bao gồm nhóm aldehyt phản ứng, nhóm propionaldehyt, nhóm butyraldehyt, nhóm maleimit và dẫn xuất succinimit. Trong bản mô tả này, dẫn xuất succinimit có thể là succinimidyl propionat, hydroxy succinimidyl, succinimidyl carboxymetyl, hoặc succinimidyl cacbonat. Cụ thể, khi polyme không phải là peptit có nhóm aldehyt phản ứng ở cả hai đầu của nó, thì polypeptit có hoạt tính sinh lý và globulin miễn dịch gắn kết một cách hiệu quả lần lượt với cả hai đầu của gốc liên kết không peptidyl, đồng thời giảm đến mức tối thiểu các phản ứng không đặc hiệu. Thành phẩm tạo ra bằng cách alkyl hóa khử thông qua liên kết aldehyt có độ ổn định hơn nhiều so với thành phẩm đã liên kết thông qua liên kết amit. Nhóm aldehyt phản ứng có thể gắn kết một cách có chọn lọc với đầu tận cùng N ở độ pH thấp và có thể tạo ra liên kết cộng hoá trị với gốc lysin ở độ pH cao, ví dụ, độ pH = 9,0.

Các nhóm phản ứng ở cả hai đầu của gốc liên kết không peptidyl có thể là giống nhau hoặc khác nhau. Ví dụ, một đầu của gốc liên kết không peptidyl có thể có nhóm maleimit, và đầu còn lại có thể có nhóm aldehyt, nhóm propionaldehyt, hoặc butyl aldehyt. Nếu polyetylen glycol có các nhóm hydroxyl phản ứng ở cả hai đầu được dùng làm gốc liên kết không peptidyl, thì các nhóm hydroxy này có thể được hoạt hóa thành các nhóm phản ứng khác nhau bằng phản ứng hóa học đã biết. Theo cách khác, polyetylen glycol đang có trên thị trường có nhóm phản ứng cải biến có thể được sử dụng để tạo ra thể tiếp hợp theo sáng chế.

Thuật ngữ “polypeptit có hoạt tính sinh lý” thường được sử dụng trong bản mô tả để chỉ các polypeptit có hoạt tính sinh lý *in vivo* bất kỳ, thường có cấu trúc polypeptit và có các hoạt tính sinh lý khác nhau. Các polypeptit có hoạt tính sinh lý bao gồm polypeptit có chức năng điều hòa mức biểu hiện di truyền và chức năng sinh lý và sửa chữa tình trạng bất thường gây ra bởi sự thiếu hụt hoặc tiết quá mức có liên quan đến quá trình điều hòa chức năng *in vivo*. Các polypeptit có hoạt tính sinh lý có thể bao gồm các tác nhân trị liệu protein thông thường.

Trong thể tiếp hợp theo sáng chế, loại và kích cỡ của polypeptit có hoạt tính sinh lý là không bị giới hạn cụ thể, với điều kiện là nó có thể được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch ở dạng monome sao cho khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể hoặc độ thanh thải qua trung gian thụ thể giảm hơn so với khi nó được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch ở dạng multimer. Ngoài ra, tốt hơn nữa nếu nó là polypeptit có hoạt tính sinh lý, khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể và độ thanh thải qua trung gian thụ thể của nó là các cơ chế thanh thải protein *in vivo* chính.

Polypeptit có hoạt tính sinh lý có thể được chọn từ nhóm bao gồm peptit tương tự glucagon 1, yếu tố kích thích tạo máu bạch cầu hạt, hormon sinh trưởng của người, erythropoietin, glucagon, oxyntomodulin, insulin, hormon giải phóng hormon sinh trưởng, peptit giải phóng hormon sinh trưởng, interferon, thụ thể interferon, thụ thể liên hợp với protein G, interleukin, thụ thể interleukin, enzymes, protein gắn kết với interleukin, protein gắn kết xytokin, yếu tố hoạt hóa đại thực bào, peptit đại thực bào, yếu tố tế bào B, yếu tố tế bào T, protein A, chất ức chế dị ứng, glycoprotein hoại tử tế bào, độc tố miễn dịch, lymphotoxin, yếu tố hoại tử khối u, chất kìm hãm khối u, yếu tố phát triển sự di căn, alpha-1 antitrypsin, albumin, α -lactalbumin, apolipoprotein-E, erythropoietin đã được glycosyl hóa ở mức cao, angiopoietin, hemoglobin, trombin, peptit hoạt hóa thụ thể trombin, trombomodulin, yếu tố đông máu VII, yếu tố đông máu VIIa, yếu tố đông máu VIII, yếu tố đông máu IX và yếu tố đông máu XIII, yếu tố hoạt hóa plasminogen, peptit gắn kết với fibrin, urokinaza, streptokinaza, hirudin, protein C, protein phản ứng C, chất ức chế renin, chất ức chế collagenaza, superoxit dismutaza, leptin, yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu, yếu tố sinh trưởng biểu mô, yếu tố sinh trưởng biểu bì, angiostatin, angiotensin, yếu tố sinh trưởng xương, protein kích thích sự tạo xương, calcitonin, atriopeptin, yếu tố tạo sụn, elcatonin, yếu tố hoạt hóa mô liên kết, chất ức chế quá trình của yếu tố mô, hormon kích thích nang, hormon tạo thể vàng, hormon giải phóng hormon tạo thể vàng, yếu tố sinh trưởng thần kinh, hormon tuyến cận giáp, relaxin, secretin, somatomedin, yếu tố sinh trưởng tương tự insulin, hormon vỏ tuyến thượng thận, cholexystokinin, polypeptit tuyến tụy, peptit giải phóng gastrin, yếu tố giải phóng corticotropin, hormon kích thích tuyến giáp, autotaxin, lactoferin, myostatin, kháng nguyên bề mặt tế bào, kháng nguyên vacxin có nguồn gốc từ virus, kháng thể đơn dòng, kháng thể đa dòng và mảnh kháng thể. Tốt hơn, nếu polypeptit có hoạt tính sinh lý có thể được chọn từ nhóm bao gồm peptit tương tự glucagon 1, yếu tố kích thích tạo máu

bạch cầu hạt, hormon sinh trưởng của người, erythropoietin, glucagon, oxyntomodulin, insulin và các dẫn xuất của chúng, nhưng không bị giới hạn bởi.

Ngoài ra, thuật ngữ “polypeptit có hoạt tính sinh lý”, như được sử dụng trong bản mô tả này, có nghĩa không những bao gồm polypeptit có hoạt tính sinh lý tự nhiên, mà còn bao gồm chất chủ vận, tiền chất, dẫn xuất, mảnh hoặc các biến thể của mỗi polypeptit.

Polypeptit có hoạt tính sinh lý được sử dụng trong sáng chế có thể là chất chủ vận GLP-1, và ví dụ về polypeptit này có thể là (1H-imidazol-4-yl)-axetyl-1 (GEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNNGPSSGAPPPS (SEQ ID NO.1) (Bachem) hoặc HEGTFTSDV SSYLEEQAAK EFWLVKG (SEQ ID NO.2) (Bachem)), nhưng không bị giới hạn cụ thể ở các loại này. Trình tự axit amin được sắp xếp theo hướng từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C.

(1H-imidazol-4-yl)-axetyl-1 (GEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNNGPSSGAPPPS (Bachem)) được sử dụng để tạo ra chất chủ vận GLP-1-mảnh Fc globulin miễn dịch trong ví dụ theo sáng chế.

Trong bản mô tả này, ví dụ về các dẫn xuất oxyntomodulin bao gồm tất cả các dẫn xuất đã được bộc lộ trong Công bố đơn yêu cầu cấp patent Hàn Quốc số 10-2012-0137271, và ví dụ về các dẫn xuất peptit giải phóng insulin bao gồm các dẫn xuất được bộc lộ trong Công bố đơn yêu cầu cấp patent Hàn Quốc số 10-2009-0008151, nhưng không chỉ giới hạn ở các dẫn xuất này.

Do vùng Fc globulin miễn dịch là polypeptit có thể phân hủy sinh học được chuyển hoá *in vivo*, nên nó là loại an toàn để dùng làm dược chất mang. Ngoài ra, do vùng Fc globulin miễn dịch có khối lượng phân tử thấp hơn so với toàn bộ phân tử globulin miễn dịch, nên nó là loại có lợi để điều chế, làm sạch và hiệu suất thu được thể tiếp hợp. Ngoài ra, do vùng Fab, không có tính đồng nhất cao do sự khác nhau về trình tự axit amin giữa các kháng thể, được loại bỏ, nên vùng Fc này có tính đồng nhất về chất tăng lên một cách đáng kể và có khả năng tạo ra tính kháng nguyên trong huyết thanh thấp.

Thuật ngữ “vùng Fc globulin miễn dịch”, như được sử dụng trong bản mô tả này, được sử dụng trong bản mô tả để chỉ protein chứa vùng hằng định chuỗi nặng 2 (CH2) và vùng hằng định chuỗi nặng 3 (CH3) của globulin miễn dịch, loại trừ vùng cải biến chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, vùng hằng định chuỗi nặng 1 (CH1) và vùng hằng định chuỗi nhẹ 1 (CL1) của globulin miễn dịch này. Vùng Fc globulin miễn dịch có thể còn chứa vùng bản lề nằm trong vùng hằng định chuỗi nặng. Ngoài ra, vùng Fc globulin miễn dịch theo sáng chế có thể là vùng Fc kéo dài chứa một phần hoặc toàn bộ vùng hằng định chuỗi nặng 1 (CH1) và/hoặc vùng hằng định chuỗi nhẹ 1 (CL1), ngoại trừ vùng cải biến chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, với điều kiện là nó có chức năng sinh lý về cơ bản là bằng hoặc tốt hơn so với dạng nguyên thể. Ngoài ra, nó có thể là mảnh có đoạn khuyết nằm trong phần tương đối dài của trình tự axit amin của CH2 và/hoặc CH3.

Mặt khác, vùng Fc globulin miễn dịch theo sáng chế có thể bao gồm 1) miền CH1, miền CH2, miền CH3 và miền CH4, 2) miền CH1 và miền CH2, 3) miền CH1 và miền CH3, 4) miền CH2 và miền CH3, 5) hỗn hợp của một hoặc nhiều miền và vùng bản lề globulin miễn dịch (hoặc một phần vùng bản lề), và 6) dime của mỗi miền trong số các vùng hằng định chuỗi nặng và vùng hằng định chuỗi nhẹ.

Theo sáng chế, mảnh Fc globulin miễn dịch không những bao gồm trình tự axit amin nguyên thể, mà còn bao gồm đột biến trình tự của chúng. Thuật ngữ “đột biến trình tự axit amin” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ trình tự khác với trình tự axit amin nguyên thể do khuyết, cải xen, thể không bảo toàn hoặc bảo toàn hoặc dạng kết hợp của chúng của một hoặc nhiều gốc axit amin. Ví dụ, trong trường hợp IgG Fc, gốc axit amin ở các vị trí từ 214 đến 238, từ 297 đến 299, từ 318 đến 322 hoặc từ 327 đến 331, đã biết là các gốc quan trọng trong quá trình gắn kết, có thể được sử dụng làm đích thích hợp để cải biến.

Ngoài ra, các đột biến khác nhau cũng có thể có mặt, bao gồm các đột biến có đoạn khuyết của vùng có khả năng tạo liên kết disulfua, đoạn khuyết của một số gốc axit amin ở đầu tận cùng N của Fc nguyên thể, hoặc bổ sung gốc methionin vào đầu tận cùng N của Fc nguyên thể. Ngoài ra, để loại bỏ chức năng tác động, vị trí gắn kết với bổ thể, ví dụ, vị trí gắn kết C1q, có thể được loại bỏ, và vị trí gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) cũng có thể được loại bỏ. Kỹ thuật tạo ra các dẫn xuất trình

tự của mảnh Fc globulin miễn dịch như vậy được bộc lộ trong các Công bố đơn quốc tế số WO 97/34631 và WO 96/32478.

Việc trao đổi axit amin trong các protein và peptit, thường không làm thay đổi hoạt tính của các phân tử, là đã biết trong lĩnh vực này (H. Neurath, R. L. Hill, The proteins, Academic Press, New York, 1979). Các cặp trao đổi axit amin thường gặp nhất là Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Thy/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu, Asp/Gly, ở cả hai hướng.

Trong một số trường hợp, mảnh Fc globulin miễn dịch cũng có thể được cải biến bằng cách, ví dụ, phosphoryl hoá, sulfat hóa, acrylat hoá, glycosyl hoá, metyl hóa, farnesylat hóa, axetyl hóa hoặc amit hóa.

Các đột biến Fc nêu trên là các đột biến có hoạt tính sinh học tương đương như hoạt tính của vùng Fc theo sáng chế, nhưng có độ ổn định cấu trúc đối với nhiệt, độ pH, hoặc các yếu tố tương tự được cải thiện hơn.

Ngoài ra, các mảnh Fc này có thể thu được từ các dạng nguyên thể được phân lập từ người và động vật bao gồm bò, dê, lợn, chuột nhắt, thỏ, chuột đồng, chuột và chuột lang, hoặc có thể là dạng tái tổ hợp hoặc các dẫn xuất của chúng, thu được từ các tế bào động vật hoặc vi sinh vật chuyển gen. Trong bản mô tả này, chúng có thể thu được từ globulin miễn dịch nguyên thể bằng cách phân lập toàn bộ globulin miễn dịch ra khỏi cơ thể sống của người hoặc động vật và xử lý nó bằng proteaza. Khi toàn bộ globulin miễn dịch được xử lý bằng papain, thì nó được phân giải thành Fab và Fc. Đồng thời, khi nó được xử lý bằng pepsin, thì nó được phân giải thành pF'c và F(ab)₂. Các mảnh này có thể được dùng, ví dụ, cho sắc ký loại cỡ để phân lập Fc hoặc pF'c.

Tốt hơn, nếu nó là mảnh Fc globulin miễn dịch tái tổ hợp thu được từ vi sinh vật bằng cách sử dụng mảnh Fc của người.

Ngoài ra, vùng Fc globulin miễn dịch có thể là ở dạng có chuỗi đường nguyên thể, chuỗi đường dài hơn so với dạng nguyên thể hoặc chuỗi đường ngắn hơn so với dạng nguyên thể, hoặc có thể ở dạng được khử glycosylat hóa. Quá trình kéo dài, rút ngắn hoặc loại bỏ chuỗi đường của Fc globulin miễn dịch có thể được tiến hành bằng cách sử dụng

các phương pháp thông thường, như phương pháp hóa học, phương pháp enzym và phương pháp kỹ thuật di truyền bằng cách sử dụng vi sinh vật. Mảnh Fc globulin miễn dịch thu được bằng cách loại bỏ chuỗi đường ra khỏi Fc có mức giảm rõ rệt về ái lực gắn kết với bổ thể (C1q) và làm giảm hoặc mất tính gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể hoặc tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể, và do đó không tạo ra các đáp ứng miễn dịch *in vivo* không cần thiết. Liên quan tới vấn đề này, mảnh Fc globulin miễn dịch ở dạng được khử glycosyl hóa hoặc aglycosyl hóa có thể là thích hợp hơn để dùng làm dược chất mang.

Thuật ngữ “khử glycosyl hóa” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ quá trình loại enzym của các gốc đường ra khỏi mảnh Fc, và thuật ngữ “aglycosyl hóa” có nghĩa là mảnh Fc không được glycosyl hóa tạo ra trong các sinh vật nhân sơ, tốt hơn là trong *E. coli*.

Đồng thời, mảnh Fc globulin miễn dịch có thể có nguồn gốc từ người hoặc động vật như gia súc, dê, lợn, chuột nhắt, thỏ, chuột đồng, chuột hoặc chuột lang. Tốt hơn, nếu mảnh này có nguồn gốc từ người. Ngoài ra, mảnh Fc globulin miễn dịch có thể là mảnh Fc có nguồn gốc từ IgG, IgA, IgD, IgE và IgM, dạng kết hợp của chúng, hoặc các thể lai của chúng. Tốt hơn, nếu nó có nguồn gốc từ IgG hoặc IgM, là các protein phổ biến nhất trong máu người, và tốt nhất nếu nó có nguồn gốc từ IgG đã biết để làm tăng thời gian bán thải của các protein gắn kết phối tử.

Thuật ngữ “kết hợp” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ polypeptit mã hóa mảnh Fc globulin miễn dịch chuỗi đơn có cùng nguồn gốc được liên kết với polypeptit chuỗi đơn có nguồn gốc khác để tạo ra dime hoặc multime. Mặt khác, dime hoặc multime có thể được tạo ra từ hai hoặc nhiều mảnh được chọn từ nhóm bao gồm các mảnh Fc IgG Fc, IgA Fc, IgM Fc, IgD Fc và IgE.

Thuật ngữ “thể lai” có nghĩa là các trình tự mã hóa hai hoặc nhiều mảnh Fc globulin miễn dịch có nguồn gốc khác nhau có mặt trong mảnh Fc globulin miễn dịch chuỗi đơn. Theo sáng chế, các thể lai khác nhau có thể có mặt. Mặt khác, các miền lai có thể được cấu thành từ một đến bốn miền được chọn từ nhóm bao gồm CH1, CH2, CH3 và CH4 của IgG Fc, IgM Fc, IgA Fc, IgE Fc và IgD Fc, và có thể chứa vùng bản lề.

Mặt khác, IgG có thể được phân loại thành các phân nhóm IgG1, IgG2, IgG3 và IgG4, và hỗn hợp hoặc các thể lai của chúng có thể được sử dụng theo sáng chế. Tốt hơn, nếu là các phân nhóm IgG2 và IgG4, và tốt nhất là mảnh Fc của IgG4 hiếm có các chức năng tác động như CDC (tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể). Mặt khác, mảnh Fc globulin miễn dịch được ưu tiên nhất để dùng làm được chất mang theo sáng chế là mảnh Fc không được glycosyl hóa có nguồn gốc từ IgG4 của người. Mảnh Fc của người được ưu tiên hơn so với mảnh Fc không phải của người, có thể có tác dụng làm kháng nguyên trong cơ thể người và gây ra các đáp ứng miễn dịch không mong muốn như sản sinh kháng thể mới kháng lại kháng nguyên.

Trong một ví dụ của sáng chế, thể tiếp hợp được tạo ra bằng cách cho monome polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch thông qua polyme không phải peptidyl (ví dụ), và nhận thấy rằng thể tiếp hợp đã tạo ra có khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể giảm, và do đó có thời gian bán thải *in vivo* dài hơn so với thể tiếp hợp trong polypeptit có hoạt tính sinh lý có mặt ở dạng dimer (các Fig.2 và Fig.3).

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch, trong đó monome polypeptit có hoạt tính sinh lý này được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch thông qua gốc liên kết không peptidyl, trong đó polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch ở dạng monome thông qua gốc liên kết không peptidyl, thể tiếp hợp này có khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể hoặc độ thanh thải qua trung gian thụ thể giảm hơn so với thể tiếp hợp dimer chứa hai phân tử polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn thông qua gốc liên kết không peptidyl, hoặc thể tiếp hợp chứa dimer polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết trong khung với mảnh Fc globulin miễn dịch.

Trong bản mô tả này, polypeptit có hoạt tính sinh lý, mảnh Fc globulin miễn dịch, gốc liên kết không peptidyl và thể tiếp hợp là như được nêu trên.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp bào chế dược phẩm tác dụng kéo dài, phương pháp này bao gồm các bước: (a) cho polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch để tạo ra hỗn hợp của các thể tiếp

hợp chứa polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch; và (b) phân phân tách ra khỏi hỗn hợp này thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch chứa một phân tử của polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn.

Trong bản mô tả này, polypeptit có hoạt tính sinh lý, mảnh Fc globulin miễn dịch, gốc liên kết không peptidyl và được phẩm tác dụng kéo dài là như được nêu trên.

Bước (a) trong phương pháp theo sáng chế là bước liên kết cộng hóa trị của polypeptit có hoạt tính sinh lý với mảnh Fc globulin miễn dịch thông qua gốc liên kết không peptidyl. Bước (a) có thể chứa các bước: (i) cho một chất bất kỳ trong số polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch liên kết với nhóm phản ứng ở một đầu của gốc liên kết không peptidyl; và (ii) cho chất còn lại liên kết với nhóm phản ứng ở đầu còn lại của gốc liên kết không peptidyl. Bước (a) có thể còn bao gồm, được bố trí xen giữa bước (i) và (ii), bước tách polypeptit có hoạt tính sinh lý hoặc mảnh Fc globulin miễn dịch đã được liên kết với một đầu của gốc liên kết không peptidyl. Để tạo ra thể tiếp hợp này, phần mô tả của Patent Hàn Quốc số 10-0725315 được kết hợp vào sáng chế bằng cách viện dẫn.

Khi thể tiếp hợp được tạo ra bằng quy trình này, thì thể tiếp hợp này chứa polypeptit có hoạt tính sinh lý ở dạng dime hoặc multime có thể được tạo ra ở dạng các sản phẩm phụ ngoài thể tiếp hợp chứa monome có hoạt tính sinh lý liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch.

Do đó, phương pháp theo sáng chế có thể còn bao gồm, sau bước (a) tạo ra hỗn hợp chứa thể tiếp hợp, bước (b) phân phân tách ra khỏi hỗn hợp này thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch, trong đó monome polypeptit có hoạt tính sinh lý này được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch.

Các điều kiện tách ở bước (b) có thể thay đổi tùy thuộc vào loại gốc liên kết không peptidyl, polypeptit có hoạt tính sinh lý và loại tương tự đã được sử dụng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Dưới đây, sáng chế sẽ được mô tả một cách chi tiết hơn trong các Ví dụ sau. Tuy nhiên, cần phải hiểu rằng các Ví dụ theo sáng chế chỉ nhằm mục đích minh họa chứ không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ: Điều chế thể tiếp hợp chứa mảnh Fc globulin miễn dịch và chất chủ vận GLP-1

PEG ALD2 chứa phân có kích cỡ 3,4 kDa (IDB, Hàn Quốc) được cho phản ứng đặc hiệu vị trí với gốc lysin của chất chủ vận GLP-1. Để thu được thể tiếp hợp trong đó PEG và chất chủ vận GLP-1 được liên kết với nhau theo tỷ lệ là 1:1, sau đó hỗn hợp phản ứng này được cho qua cột sắc ký trao đổi cation để làm sạch chất chủ vận GLP-1 đã được mono-PEGyl hóa. Để tạo ra thể tiếp hợp chứa mảnh Fc globulin miễn dịch và chất chủ vận GLP-1, trong đó GLP-1 đã được mono-PEGyl hóa được liên kết đặc hiệu với đầu tận cùng N của mảnh Fc globulin miễn dịch, phản ứng này được thực hiện ở độ pH nằm trong khoảng từ 5,0 đến 8,2. Sau phản ứng liên hợp, quy trình làm sạch hai bước được thực hiện bằng cách sử dụng cột kỵ nước và cột trao đổi anion, nhờ đó thu được thể tiếp hợp chứa mảnh Fc globulin miễn dịch và chất chủ vận GLP-1, trong đó chất chủ vận GLP-1 này được liên kết đặc hiệu vị trí với mảnh Fc globulin miễn dịch.

Thể tiếp hợp chứa mảnh Fc globulin miễn dịch và chất chủ vận GLP-1 đã được tạo ra bằng quy trình này được phân tích, và do đó đã nhận thấy rằng chỉ có thể tiếp hợp chứa monome chất chủ vận GLP-1 và mảnh Fc globulin miễn dịch có mặt trong thể tiếp hợp đã được tạo ra, hoặc thể tiếp hợp multimer chứa lượng rất nhỏ của thể tiếp hợp chứa dime của chất chủ vận GLP-1 và mảnh Fc globulin miễn dịch có mặt với lượng là 5% (khối lượng/khối lượng) hoặc nhỏ hơn tính theo tổng khối lượng của thể tiếp hợp đã được tạo ra.

Ví dụ so sánh: Điều chế thể tiếp hợp chứa dime chất chủ vận GLP-1 và mảnh Fc globulin miễn dịch

Trình tự ADN chứa chất chủ vận GLP-1 liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch được tạo dòng vào vector biểu hiện tế bào động vật. ADN mã hóa protein tái tổ hợp được chuyển nhiễm vào dòng tế bào 293-F của động vật (tế bào Freestyle 293-F, Invitrogen) bằng cách sử dụng dung dịch chuyển nhiễm (chất phản ứng FreeStyle™ MAX, Invitrogen), và sau đó các tế bào này được nuôi cấy trong 48 giờ và môi trường nuôi cấy

được thu nhận. Thử tiếp hợp chứa dime chất chủ vận và mảnh Fc globulin miễn dịch đã được biểu hiện được làm sạch khỏi môi trường nuôi cấy bằng cách sử dụng cột ái lực.

Ví dụ thử nghiệm 1: Đánh giá khả năng tương tác nội nhập của thụ thể

Thử nghiệm tương tác nội nhập GPCR đã được hoạt hóa PathHunter® eXpress được sử dụng để đánh giá khả năng tương tác nội nhập của thụ thể. Đặc biệt, các tế bào U2OS biểu hiện thụ thể GLP-1 của người được nuôi cấy trong đĩa trắng gồm 96 giếng và được nuôi cấy trong thời gian 24-48 giờ. Thử tiếp hợp chứa mảnh Fc globulin miễn dịch và chất chủ vận GLP-1 trong ví dụ theo sáng chế được pha loãng gấp 4 lần từ nồng độ 3 μM , và thử tiếp hợp trong khung chứa mảnh Fc globulin miễn dịch và chất chủ vận GLP-1 trong ví dụ so sánh được pha loãng gấp 4 lần từ nồng độ 15 μM , và mỗi dịch pha loãng được bổ sung vào đĩa chứa giếng. Tiếp theo, khả năng tương tác nội nhập của thụ thể của mỗi thử tiếp hợp này được tạo ra trong tủ áp CO_2 ở nhiệt độ 37°C trong 3 giờ. Sau đó, cơ chất để phát hiện thụ thể đã được nhập bào được bổ sung vào đĩa chứa giếng và cho phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 60 phút, và khả năng phát quang của đĩa này được đo bằng máy đọc đĩa phát quang. Các kết quả đo được thể hiện trên Fig.2.

Do đó, như được thể hiện trên Fig.2, thử tiếp hợp trong ví dụ theo sáng chế có EC_{50} là 377nM, và thử tiếp hợp trong ví dụ so sánh có EC_{50} là 14,59nM, chứng tỏ rằng thử tiếp hợp chứa mảnh Fc globulin miễn dịch và chất chủ vận GLP-1 theo sáng chế có khả năng tương tác nội nhập của thụ thể giảm được một cách đáng kể khi so sánh với thử tiếp hợp chứa mảnh Fc globulin miễn dịch và chất chủ vận GLP-1 trong ví dụ so sánh. Các kết quả như vậy đề cập đến rằng thử tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch có thể có khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể và thanh thải giảm khi so sánh với thử tiếp hợp trong đó polypeptit có hoạt tính sinh lý này có mặt ở dạng dime.

Ví dụ thử nghiệm 2: Thử nghiệm so sánh được động học *in vivo* giữa các thử tiếp hợp chứa chất chủ vận GLP-1- mảnh globulin miễn dịch

Để so sánh được động học *in vivo* giữa thử tiếp hợp chứa mảnh Fc globulin miễn dịch và chất chủ vận GLP-1 trong ví dụ và thử tiếp hợp chứa mảnh Fc globulin miễn dịch và chất chủ vận GLP-1, mức thay đổi nồng độ trong huyết thanh của thử tiếp hợp được phân tích bằng cách sử dụng chuột SD khỏe mạnh.

Đặc biệt, mỗi thể tiếp hợp chứa mảnh Fc globulin miễn dịch và chất chủ vận GLP-1 (400 mcg/kg) và thể tiếp hợp chứa mảnh Fc globulin miễn dịch và chất chủ vận GLP-1 (400 mcg/kg) được pha loãng trong nước muối sinh lý và được tiêm dưới da các chuột với liều 2mL/kg. Ở 4, 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240, 288, 312 và 336 giờ sau khi dùng các chất thử nghiệm, máu được thu nhận từ tĩnh mạch cổ của các chuột, và huyết thanh được phân tách ra khỏi máu. Tiếp theo, nồng độ được chất trong mỗi mẫu huyết thanh được định lượng bằng thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym, và các kết quả định lượng được thể hiện trên Fig.3.

Do đó, thời gian bán thải trong huyết thanh của thể tiếp hợp chứa mảnh Fc globulin miễn dịch và chất chủ vận GLP-1 trong ví dụ theo sáng chế và thể tiếp hợp chứa mảnh Fc globulin miễn dịch và chất chủ vận GLP-1 trong ví dụ so sánh lần lượt là 40,9 giờ và 28 giờ, và nồng độ tối đa trong huyết thanh của các thể tiếp hợp lần lượt là 1758,6 ng/mL và 742,7 ng/mL. Mặt khác, khi các thuốc được tiêm dưới da chuột khỏe mạnh với liều tương đương, thì nhận thấy rằng thể tiếp hợp monome chứa mảnh Fc globulin miễn dịch và chất chủ vận GLP-1 theo sáng chế có khả năng hấp thu và thời gian bán thải *in vivo* vượt trội hơn so với thể tiếp hợp dime chứa mảnh Fc globulin miễn dịch và chất chủ vận GLP-1 (Fig.3).

Mặc dù sáng chế đã được mô tả bởi các phương án minh họa cụ thể, nhưng người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng các phương án khác có thể được tạo ra mà không làm sai lệch bản chất hoặc các dấu hiệu cơ bản của sáng chế. Do đó, các phương án nêu trên được coi là chỉ nhằm mục đích minh họa cho tất cả các khía cạnh chứ không chỉ giới hạn ở các khía cạnh này. Ngoài ra, phạm vi của sáng chế được xác định bởi yêu cầu bảo hộ kèm theo chứ không phải là phần mô tả chi tiết sáng chế, và cần phải hiểu rằng tất cả các cải biến hoặc biến đổi xuất phát từ phạm vi của sáng chế và dạng tương đương của nó đều nằm trong phạm vi của yêu cầu bảo hộ kèm theo.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm tác dụng kéo dài chứa thể tiếp hợp chứa polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch,

trong đó dược phẩm này chứa thể tiếp hợp monome chứa một phân tử của polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn, và thể tiếp hợp multime chứa hai hoặc nhiều phân tử của cùng một polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn, với điều kiện là tỷ lệ mol giữa thể tiếp hợp monome và thể tiếp hợp multime trong dược phẩm này ít nhất bằng 19;

trong đó mỗi trong số hai chuỗi Fc globulin miễn dịch trong thể tiếp hợp multime được liên kết với một hoặc nhiều phân tử của polypeptit có hoạt tính sinh lý;

trong đó thể tiếp hợp monome có khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể hoặc độ thanh thải qua trung gian thụ thể giảm hơn so với thể tiếp hợp dime chứa hai phân tử của polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn thông qua gốc liên kết không peptidyl, hoặc thể tiếp hợp chứa dime polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết trong khung với mảnh Fc globulin miễn dịch; và

trong đó polypeptit có hoạt tính sinh lý được chọn từ nhóm bao gồm peptit tương tự glucagon 1, yếu tố kích thích tạo máu bạch cầu hạt, hormon sinh trưởng của người, erythropoietin, glucagon, oxyntomodulin, insulin, hormon giải phóng hormon sinh trưởng, peptit giải phóng hormon sinh trưởng, interferon, thụ thể interferon, thụ thể liên hợp với protein G, interleukin, thụ thể interleukin, enzym, protein gắn kết với interleukin, protein gắn kết xytokin, yếu tố hoạt hóa đại thực bào, peptit đại thực bào, yếu tố tế bào B, yếu tố tế bào T, protein A, chất ức chế dị ứng, glycoprotein hoại tử tế bào, độc tố miễn dịch, lymphotoxin, yếu tố hoại tử khối u, chất kìm hãm khối u, yếu tố phát triển sự di căn, alpha-1 antitrypsin, albumin, α -lactalbumin, apolipoprotein-E, erythropoietin đã được glycosyl hóa ở mức cao, angiopoietin, hemoglobin, trombin, peptit hoạt hóa thụ thể trombin, trombomodulin, yếu tố đông máu VII, yếu tố đông máu VIIa, yếu tố đông máu VIII, yếu tố đông máu IX và yếu tố đông máu XIII, yếu tố hoạt hóa plasminogen, peptit gắn kết với fibrin, urokinaza, streptokinaza, hirudin, protein C, protein phản ứng C, chất ức chế renin, chất ức chế collagenaza, superoxit dismutaza, leptin, yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu, yếu tố sinh trưởng biểu mô, yếu tố sinh trưởng biểu bì,

angiostatin, angiotensin, yếu tố sinh trưởng xương, protein kích thích sự tạo xương, calcitonin, atriopeptin, yếu tố tạo sụn, elcatonin, yếu tố hoạt hóa mô liên kết, chất ức chế quá trình của yếu tố mô, hormon kích thích nang, hormon tạo thể vàng, hormon giải phóng hormon tạo thể vàng, yếu tố sinh trưởng thần kinh, hormon tuyến cận giáp, relaxin, secretin, somatomedin, yếu tố sinh trưởng tương tự insulin, hormon vỏ tuyến thượng thận, cholexystokinin, polypeptit tuyến tụy, peptit giải phóng gastrin, yếu tố giải phóng corticotropin, hormon kích thích tuyến giáp, autotaxin, lactoferin, myostatin, kháng nguyên bề mặt tế bào, kháng nguyên vacxin có nguồn gốc từ virus, kháng thể đơn dòng, kháng thể đa dòng và mảnh kháng thể.

2. Dược phẩm tác dụng kéo dài theo điểm 1, trong đó thể tiếp hợp còn chứa gốc liên kết không peptidyl được bố trí xen giữa polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch để liên kết polypeptit có hoạt tính sinh lý này với mảnh Fc globulin miễn dịch.

3. Dược phẩm tác dụng kéo dài theo điểm 1, trong đó polypeptit có hoạt tính sinh lý được chọn từ nhóm bao gồm peptit tương tự glucagon 1, yếu tố kích thích tạo máu bạch cầu hạt, hormon sinh trưởng của người, erythropoietin, glucagon, oxyntomodulin, insulin và các dẫn xuất của chúng.

4. Dược phẩm tác dụng kéo dài theo điểm 2, trong đó gốc liên kết không peptidyl được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme etylen glycol-propylen glycol, polyol đã được polyoxyetyl hóa, rượu polyvinyl, polysacarit, dextran, polyvinyl etyl ete, polyme có thể phân hủy sinh học, polyme lipid, kitin, axit hyaluronic và hỗn hợp của chúng.

5. Dược phẩm tác dụng kéo dài theo điểm 2, trong đó gốc liên kết không peptidyl có khối lượng phân tử nằm trong khoảng từ 1 kDa đến 100 kDa.

6. Dược phẩm tác dụng kéo dài theo điểm 1, trong đó mảnh Fc globulin miễn dịch chứa 1 đến 4 miền được chọn từ nhóm bao gồm miền CH1, miền CH2, miền CH3 và miền CH4.

7. Dược phẩm tác dụng kéo dài theo điểm 1, trong đó mảnh Fc globulin miễn dịch còn chứa vùng bản lề.

8. Dược phẩm tác dụng kéo dài theo điểm 1, trong đó mảnh Fc globulin miễn dịch được chọn từ nhóm bao gồm IgG, IgA, IgD, IgE, IgM, hỗn hợp của chúng và các thể lai của chúng.

9. Dược phẩm tác dụng kéo dài theo điểm 1, trong đó mảnh Fc globulin miễn dịch là mảnh Fc IgG4.

10. Dược phẩm tác dụng kéo dài theo điểm 1, trong đó mảnh Fc globulin miễn dịch không được glycosyl hóa.

11. Phương pháp bào chế dược phẩm tác dụng kéo dài theo điểm 1 bao gồm các bước:

(a) cho polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch để tạo ra hỗn hợp của các thể tiếp hợp chứa polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch; và

(b) phân tách ra khỏi hỗn hợp này thể tiếp hợp chứa monome polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch chứa một phân tử của polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn.

12. Phương pháp theo điểm 11, trong đó polypeptit có hoạt tính sinh lý và mảnh Fc globulin miễn dịch được liên kết với nhau thông qua gốc liên kết không peptidyl.

13. Phương pháp theo điểm 11, trong đó thể tiếp hợp của dược phẩm tác dụng kéo dài, chứa một phân tử của polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn, có khả năng tương tác nội nhập qua trung gian thụ thể hoặc độ thanh thải qua trung gian thụ thể giảm hơn so với thể tiếp hợp dime chứa hai phân tử polypeptit có hoạt tính sinh lý được liên kết với mảnh Fc globulin miễn dịch đơn thông qua gốc liên kết không peptidyl, hoặc dime polypeptit có hoạt tính sinh lý liên kết trong khung với mảnh Fc globulin miễn dịch.

FIG.1

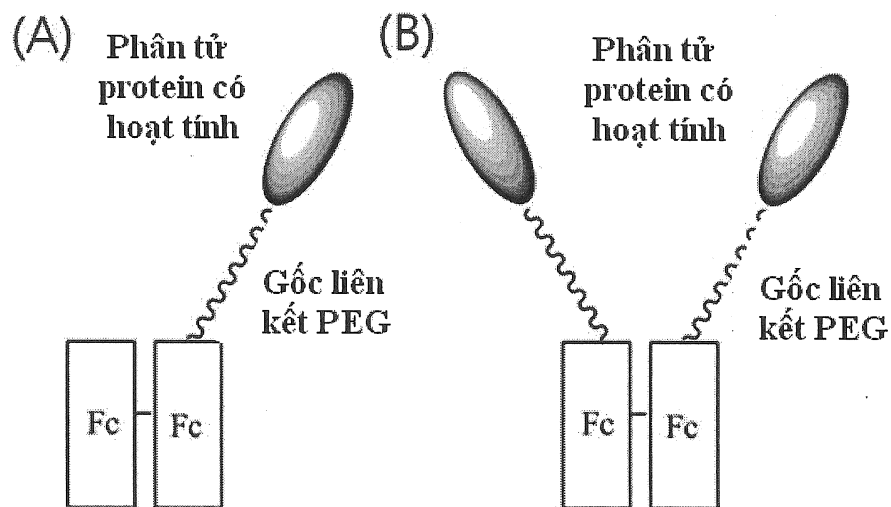


FIG.2

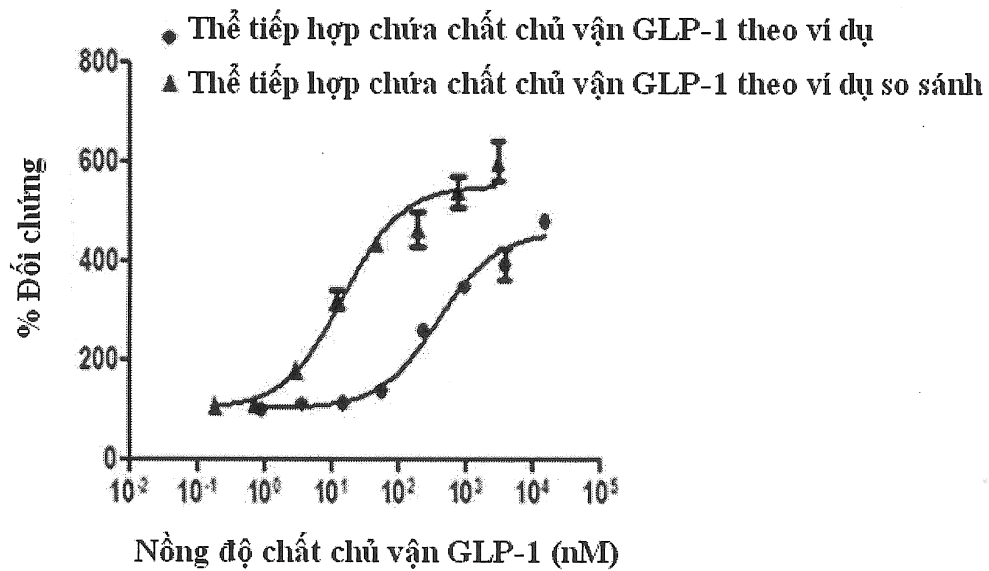
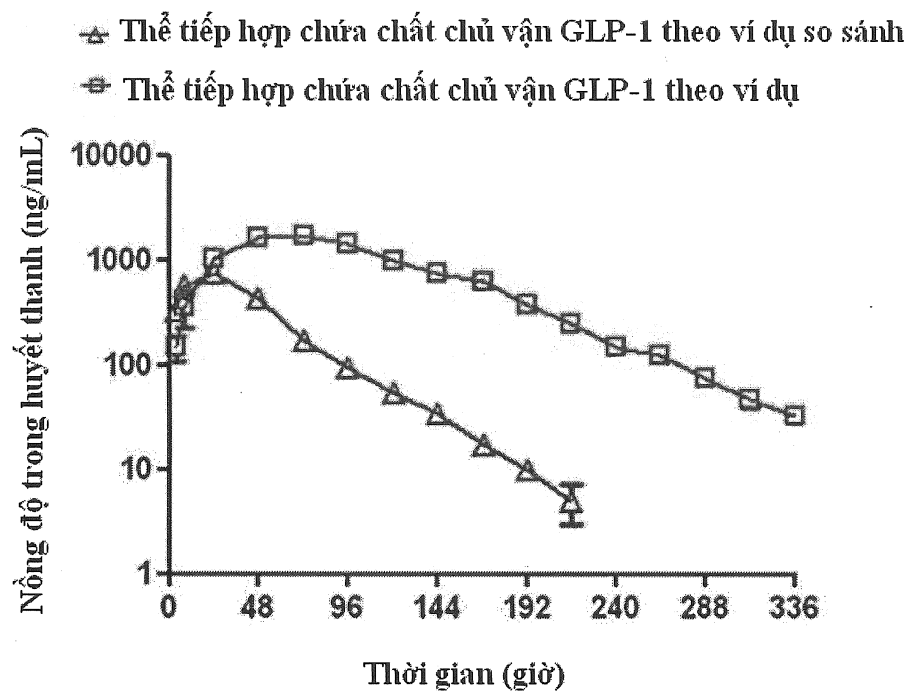


FIG.3



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> HANMI PHARM. CO., LTD.

<120> DƯỢC PHẨM TÁC DỤNG KÉO DÀI VÀ PHƯƠNG PHÁP BẢO CHẾ DƯỢC PHẨM NÀY

<130> OPA14111

<150> KR 10-2013-0082511

<151> 2013-07-12

<160> 2

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 38

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chất chủ vận GLP-1

<220>

<221> Trình tự lỗi

<222> 1)

<223> 1H-imidazol-4-yl)-axetyl được liên kết với nhóm amin của Gly

<400> 1

Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu Glu

1

5

10

15

Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser Ser

20

25

30

Gly Ala Pro Pro Pro Ser

35

<210> 2

<211> 29

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chất chủ vận GLP-1

<400> 2

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu

1

5

10

15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly

20

25