



(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)



1-0034777

(51)⁷ A61K 47/48; A61P 35/00

(13) B

(21) 1-2015-03609

(22) 14/03/2014

(86) PCT/US2014/029757 14/03/2014

(87) WO2014/145090 18/09/2014

(30) 61/792,216 15/03/2013 US

(45) 25/01/2023 418

(43) 25/02/2016 335A

(73) REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. (US)

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

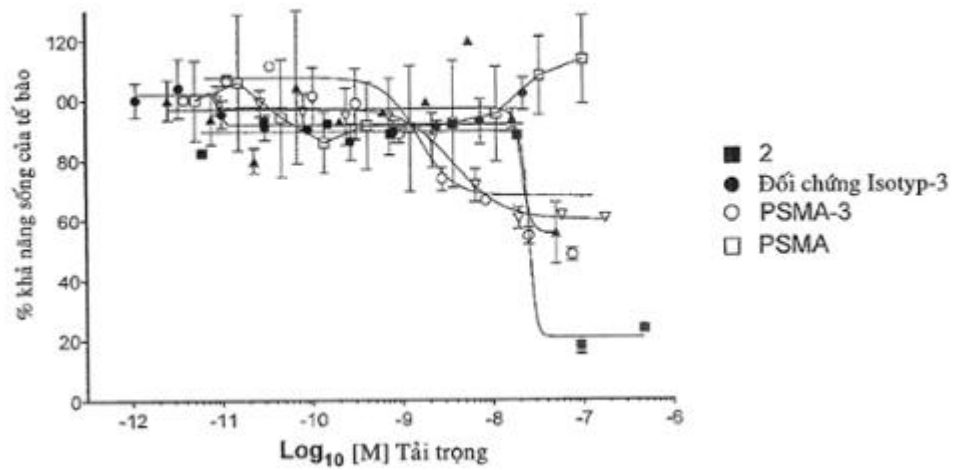
(72) NITTOLI, Thomas (US).

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

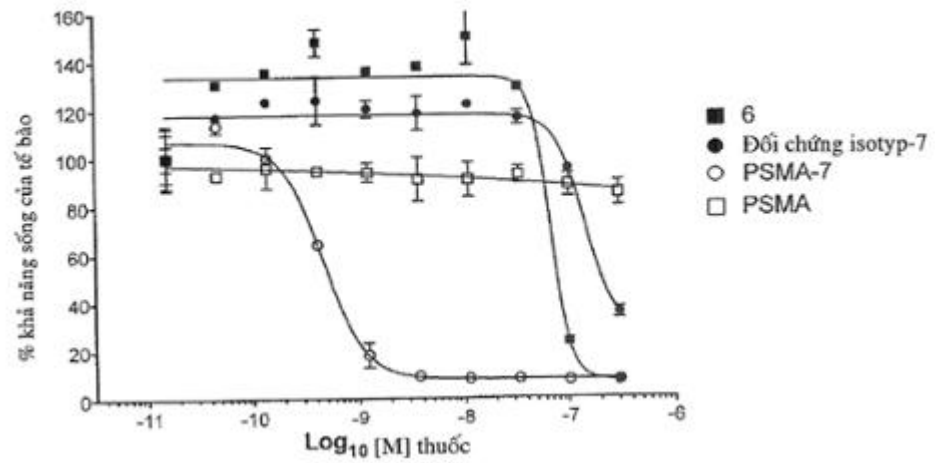
(54) HỢP CHẤT DÙNG ĐỂ LÀM GIẢM SỰ TĂNG SINH CỦA KHỐI U VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất liên kết mà hữu ích để liên kết cộng hóa trị các phân tử có hoạt tính sinh học với phối tử. Hợp chất được bộc lộ còn liên quan đến phân tử có hoạt tính sinh học và hợp chất tiếp hợp phối tử, trong đó phân tử có hoạt tính sinh học được liên kết với phối tử thông qua hợp chất liên kết. Sáng chế còn đề cập đến chế phẩm chứa hợp chất tiếp hợp phân tử có hoạt tính sinh học-phối tử, phương pháp biến đổi sự sinh trưởng của tế bào bất thường và phương pháp điều trị bệnh bằng cách sử dụng hợp chất tiếp hợp hoặc chế phẩm nêu trên.

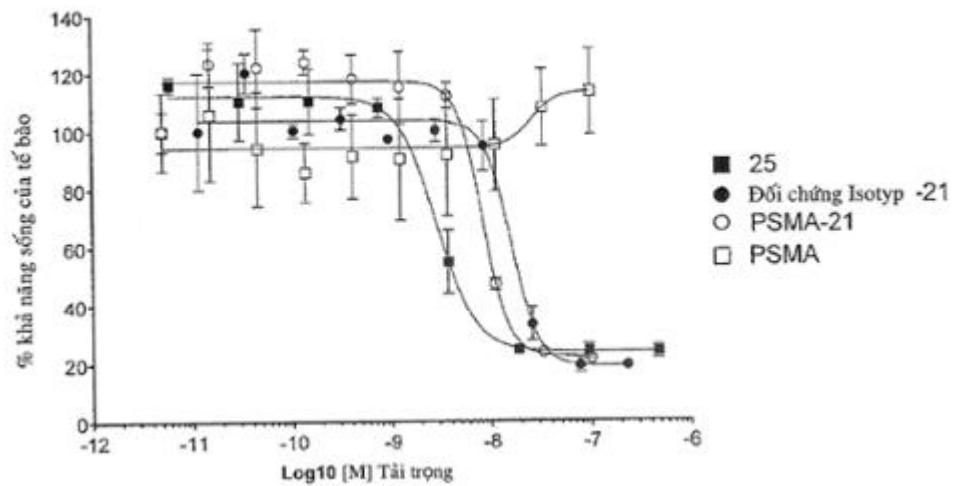
C4-2



C4-2



C4-2



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất tiếp hợp phổi tử-phân tử có hoạt tính sinh học, trong đó phổi tử được liên kết với phân tử có hoạt tính sinh học thông qua hợp chất liên kết. Sáng chế còn đề cập đến hợp chất tiếp hợp trong dược phẩm để sử dụng trong các ứng dụng điều trị bệnh khác nhau.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh tăng sinh được đặc trưng bởi sự sinh trưởng và lan rộng không được kiểm soát của các tế bào bất thường. Nếu sự lan rộng không được kiểm soát, nó có thể dẫn đến tử vong. Sự tăng sinh bất thường, ví dụ, bệnh ung thư, gây ra bởi cả các yếu tố bên ngoài (ví dụ, thuốc lá, hóa chất, bức xạ và các vi sinh vật lây nhiễm) và các yếu tố bên trong (các đột biến di truyền, tình trạng của hệ miễn dịch, các đột biến xuất hiện do sự chuyển hóa). Các yếu tố nguyên nhân này có thể cùng tác động hoặc tuần tự để kích thích hoặc thúc đẩy sự tăng sinh bất thường. Bệnh ung thư được điều trị bằng cách phẫu thuật, bức xạ, hóa trị, hormon và liệu pháp miễn dịch. Tuy nhiên, vẫn có nhu cầu về thuốc chống tăng sinh hiệu quả hơn.

Liệu pháp chống tăng sinh lý tưởng sẽ làm phân phối hướng đích các chất gây độc tế bào nồng độ cao vào các tế bào khối u và giữ cho các tế bào bình thường không bị ảnh hưởng. Việc điều trị bằng phương pháp hóa trị thông thường, cùng với maytansin ví dụ, bị hạn chế do các tác dụng phụ độc hại phát sinh bởi các tác động của thuốc lên các tế bào không ung thư. Các phương pháp khác nhau để phân phối thuốc hướng đích đã được thử, bao gồm việc sử dụng hợp chất tiếp hợp của các đầu dò hướng đích khối u (như các kháng thể hoặc yếu tố sinh trưởng) với các độc tố như độc tố *Pseudomonas* hoặc độc tố bệnh bạch hầu, mà làm ngừng sự tổng hợp của các protein và tế bào. Tuy nhiên, các tác dụng phụ này bao gồm phản ứng của hệ miễn dịch do các thành phần không phải ở người của các hợp chất tiếp hợp này. Hơn nữa, thời gian bán thải của hợp chất tiếp hợp thuốc bị hạn chế do sự đào thải khỏi tuần hoàn qua quá trình lọc ở thận, và sự suy thoái theo sơ đồ, được hấp thụ bởi hệ lưới nội mô

(reticuloendothelial system - RES), và tích tụ trong các cơ quan và mô không hướng đích.

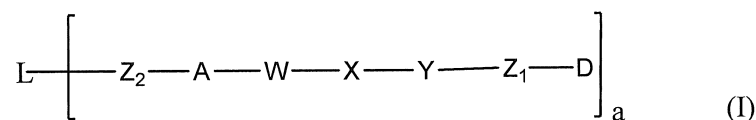
US 2013/029900 A1 (WIDDISON WAYNE C [US]) bộc lộ thể tiếp hợp của kháng thể với maytansinoit thông qua mỗi liên kết bao gồm valin và xitruilin hoặc hai gốc alanin. J. A. REDDY ET AL: “Folate Receptor-Specific Antitumor Activity of EC131, a Folate-Maytansinoid Conjugate”, (CANCER RESEARCH, vol. 67, no. 13, 1 July 2007, pages 6376-6382, XP055135216) bộc lộ thể tiếp hợp của axit folic với maytansinoit thông qua mỗi liên kết tetrapeptit. J. A. DAVIS ET AL: “In Vitro Characterization of the Drug-Drug Interaction Potential of Catabolites of Antibody-Maytansinoid Conjugates”, (DRUG METABOLISM AND DISPOSITION, vol. 40, no. 10, 29 June 2012, pages 1927-1934, XP055135213) bộc lộ lysin-SMCC-DM1.

Một phương pháp khác sử dụng các chất dẫn thuốc thụ động như polyme, liposom, và vi hạt polyme để tận dụng khả năng siêu thấm của nội mô mạch trong mô khối u. Thuốc polyme và các đại phân tử tích tụ trong khối u rắn do khả năng thấm và cơ chế lưu giữ được tăng cường. Tuy nhiên, các hàng rào sử dụng các phân phối hướng đích này bao gồm sự thanh thải nhanh các hạt ngoại lai ra khỏi máu, và sự cản trở bằng phương pháp kỹ thuật để thu được hệ phân phối thuốc được dùng, được chuẩn hóa cao có tính đặc hiệu và chọn lọc cần thiết để liên kết các tế bào khối u.

Do vậy, tồn tại nhu cầu về các hợp chất chống tăng sinh hướng đích.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến hợp chất tiếp hợp có công thức cấu tạo (I) sau:



trong đó:

L không có mặt hoặc là phối tử;

và trong đó:

khi L là phối tử, L có khả năng liên kết với tế bào hoặc quần thể tế bào;

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

mỗi Z_2 và Z_1 độc lập là không có mặt hoặc là gốc đệm;

D là phân tử có hoạt tính sinh học;

A là axit amin có trong tự nhiên hoặc không có trong tự nhiên, hoặc peptit có chứa 2 đến 20 axit amin;

W không có mặt, là -O-, -S-, -CR₅R₆-, -NR₄-;

và trong đó: mỗi R₄, R₅, và R₆ độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, hoặc heterocyclyl được thế hoặc không được thế;

X không có mặt, là aryl, heteroaryl, xycloalkyl, heterocyclyl, trong đó aryl, heteroaryl, xycloalkyl, và heterocyclyl này tùy ý được thế; và

Y không có mặt, hoặc là gốc đệm.

Sáng chế còn đề xuất chất liên kết - hợp chất có hoạt tính sinh học có công thức cấu tạo (V) sau:



trong đó:

mỗi Z_2 và Z_1 độc lập là không có mặt hoặc là gốc đệm;

D là phân tử có hoạt tính sinh học;

A là axit amin có trong tự nhiên hoặc không có trong tự nhiên, hoặc peptit có chứa 2 đến 20 axit amin;

W không có mặt, là -O-, -S-, -CR₅R₆-, -NR₄-;

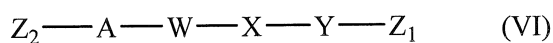
và trong đó: mỗi R₄, R₅, và R₆ độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, hoặc heterocyclyl được thế hoặc không được thế;

X không có mặt, là aryl, heteroaryl, xycloalkyl, heterocyclyl, trong đó aryl, heteroaryl, xycloalkyl, và heterocyclyl này tùy ý được thế; và

Y không có mặt, hoặc là gốc đệm.

Sáng chế còn đề xuất hợp chất liên kết có công thức cấu tạo (VI) sau.

Theo một phương án, hợp chất liên kết có công thức (VI):



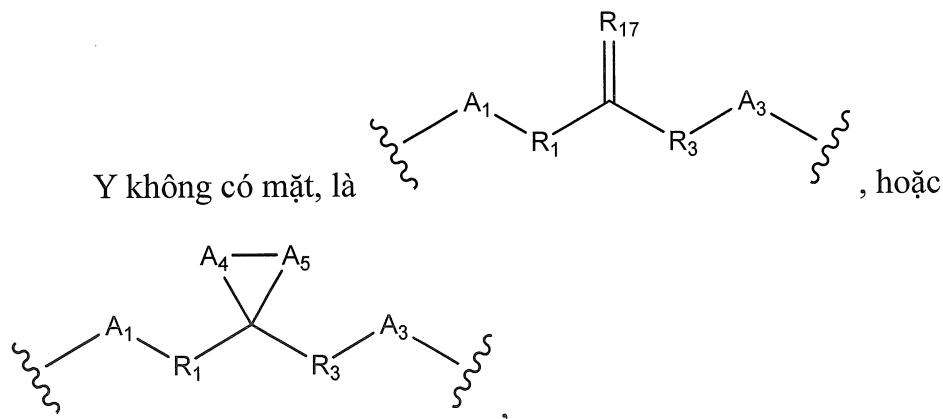
trong đó:

mỗi Z_2 và Z_1 độc lập là không có mặt hoặc là gốc đệm;

A là axit amin có trong tự nhiên hoặc không có trong tự nhiên, hoặc peptit có chứa 2 đến 20 axit amin;

W không có mặt, là -O-, -S-, -CR₅R₆-, -NR₄-;

X không có mặt, là aryl, heteroaryl, xycloalkyl, heteroxyclyl, trong đó aryl, heteroaryl, xycloalkyl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế;



trong đó mỗi A₁, A₃, R₁ và R₃ độc lập là không có mặt, là axit amin, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, -CR₅R₆-, -O-, -C(=O)-, -O-C(=O)-, -C(=O)-O-, -O-C(=O)-O-, -C(=O)-(CH_x)_{p1}-, -C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-, -(CH_x)_{p1}-C(=O)-, -(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-, -(O-(CH₂)_{p2})_{p3}-, -((CH₂)_{p2}-O-) _{p3}-, -C(=S)-, -C(=S)-S-, -S-C(=S)-, -C(=S)-NH-, -S-C(=S)-S-, -S-, -SO-, -SO₂-, -NR₄-, -N(R₄)-C(=O)-N(R₈)-, -N(R₄)-C(=O)O-, -N(R₄)-C(=O)-, -C(=O)-N(R₄)-, -C(=O)-N(R₄)-C(=O)-, -O-C(=O)-NR₄-, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế;

mỗi A₄ và A₅ độc lập là -O-, -S-, -NR₁₈-, -CR₅R₆-;

R₁₇ được chọn từ nhóm bao gồm O, S, NR₁₈, CR₅R₆;

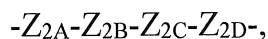
R₁₈ được chọn từ nhóm bao gồm H, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, và axyl, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, và axyl này tùy ý được thế;

mỗi R₄, R₅, R₆ và R₈ độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, hoặc heteroxyclyl được thế hoặc không được thế;

mỗi p₁, p₂ và p₃ độc lập là 0, hoặc số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 100; và

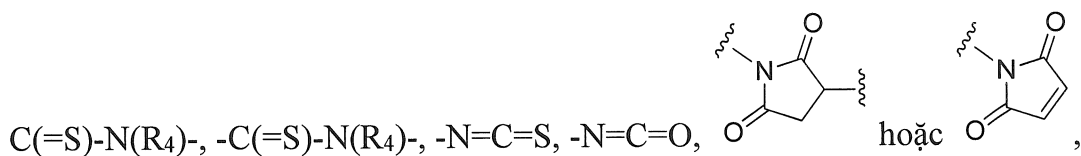
x là 0, 1 hoặc 2.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (VI), trong đó Z_2 có công thức cấu tạo sau:



trong đó:

mỗi Z_{2A} , Z_{2B} , Z_{2C} và Z_{2D} độc lập là không có mặt, là axit amin, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, $-CR_5R_6-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-O-C(=O)-O-$, $-C(=O)-(CH_x)_{p1}$, $-C(=O)-O-(CH_x)_{p1}$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2}-)_{p3}-$, $-((CH_2)_{p2}-O-)_{p3}-$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-S-$, $-C(=S)-NH-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR_4-$, $-N(R_4)-C(=O)-N(R_8)-$, $-N(R_4)-C(=O)O-$, $-N(R_4)-C(=O)-$, $-C(=O)-N(R_4)-$, $-C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $-O-C(=O)-N(R_4)$, $-O-$



trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl tùy ý được thế và mỗi R_4 , R_5 , R_6 và R_8 độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, hoặc heteroxyclyl được thế hoặc không được thế.

Sáng chế còn đề xuất dược phẩm chứa lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh của hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của nó và một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược dược dụng.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp làm giảm, làm chậm hoặc làm ngừng sự sinh trưởng của tế bào bất thường bao gồm bước cho tế bào bất thường này tiếp xúc với hợp chất có công thức (I), với lượng đủ để làm chậm, làm giảm hoặc làm ngừng sự sinh trưởng của tế bào bất thường, và trong đó sự sinh trưởng của tế bào bất thường này được làm chậm, làm giảm hoặc làm ngừng lại.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp diệt tế bào, bao gồm bước cho tế bào này tiếp xúc với hợp chất có công thức (I), với lượng đủ để tiêu diệt tế bào, và trong đó tế bào này bị tiêu diệt.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp điều trị rối loạn y học ở cá thể mắc rối loạn y học này, bao gồm bước cho cá thể này sử dụng một lượng hữu hiệu của chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I).

Sáng chế còn đề cập đến chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I) để sử dụng để làm giảm kích thước của khối u, làm ngừng sự tăng kích thước của khối u, làm giảm sự tăng sinh của khối u, hoặc ngăn chặn sự tăng sinh của khối u ở cá thể cần điều trị bao gồm bước cho cá thể này sử dụng một lượng hữu hiệu của chế phẩm để làm giảm kích thước của khối u, làm ngừng sự tăng kích thước của khối u, làm giảm sự tăng sinh của khối u, hoặc ngăn chặn sự tăng sinh của khối u, trong đó chế phẩm này chứa hợp chất có công thức (I).

Sáng chế còn đề cập đến hợp chất liên kết phân tử có hoạt tính sinh học dạng tiền chất có công thức (V). Hợp chất có công thức (V) tạo ra các khối kiến trúc cho hợp chất tiếp hợp có công thức (I). Ngoài ra, hợp chất có công thức (V) có thể được tạo ra ở dạng chế phẩm, dược phẩm và muối dược dụng của nó.

Sáng chế còn bao gồm việc sử dụng chế phẩm bất kỳ chứa hợp chất có công thức (I) và/hoặc dược phẩm để sản xuất thuốc dùng trong điều trị, ngăn ngừa và/hoặc làm thuyên giảm rối loạn y học.

Sáng chế còn bao gồm chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I) và/hoặc dược phẩm để sử dụng trong sản xuất thuốc dùng trong điều trị, ngăn ngừa và/hoặc làm thuyên giảm khối u.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Các hình vẽ từ **Fig.1** đến **Fig.8** thể hiện các kết quả của thử nghiệm về khả năng sống sót của tế bào, trong đó các dòng tế bào ung thư khác nhau được phát triển *in vitro* và được điều trị bằng các phân pha loãng theo thứ tự của kháng thể, thuốc tự do, hoặc thể tiếp hợp kháng thể-thuốc như được thể hiện. Tỷ lệ sống sót theo phần trăm được xác định theo phương pháp nêu trong Ví dụ 14.

Fig. 1A thể hiện các kết quả về khả năng sống sót tế bào của các tế bào C4-2 (dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt) được điều trị bằng hợp chất 2, kháng thể đối chứng isotyp được tiếp hợp với hợp chất 3 ("Đối chứng isotyp-3"), kháng thể kháng PSMA

được tiếp hợp với hợp chất 3 ("PSMA-3"), và kháng thể kháng PSMA không được tiếp hợp ("PSMA").

Fig. 1B thể hiện các kết quả về khả năng sống sót tế bào của các tế bào C4-2 (dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt) được điều trị bằng hợp chất 6, kháng thể đối chứng isotyp được tiếp hợp với hợp chất 7 ("Đối chứng isotyp-7"), kháng thể kháng PSMA được tiếp hợp với hợp chất 7 ("PSMA-7"), và kháng thể kháng PSMA không được tiếp hợp ("PSMA").

Fig. 1C thể hiện các kết quả về khả năng sống sót tế bào của các tế bào C4-2 (dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt) được điều trị bằng hợp chất 25, kháng thể đối chứng isotyp được tiếp hợp với hợp chất 21 ("Đối chứng isotyp-21"), kháng thể kháng PSMA được tiếp hợp với hợp chất 21 ("PSMA-21"), và kháng thể kháng PSMA không được tiếp hợp ("PSMA").

Fig. 2 thể hiện các kết quả về khả năng sống sót tế bào của các tế bào PC3/hSTEAP1 (dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt biểu hiện hSTEAP1 ngoại sinh) được điều trị bằng hợp chất 6, kháng thể đối chứng isotyp được tiếp hợp với hợp chất 7 ("Đối chứng isotyp-7"), kháng thể kháng STEAP1 được tiếp hợp với hợp chất 7 ("STEAP1-7"), và kháng thể kháng STEAP1 không được tiếp hợp ("STEAP1").

Fig. 3 thể hiện các kết quả về khả năng sống sót tế bào của các tế bào T47D (dòng tế bào ung thư vú) được điều trị bằng hợp chất 6, kháng thể đối chứng isotyp được tiếp hợp với hợp chất 7 ("Đối chứng isotyp-7"), kháng thể kháng PRLR được tiếp hợp với hợp chất 7 ("PRLR-7"), và kháng thể kháng PRLR không được tiếp hợp ("PRLR").

Fig. 4 thể hiện các kết quả về khả năng sống sót tế bào của các tế bào HEK293/hEGFRvIII (tế bào HEK293 biểu hiện hEGFRvIII ngoại sinh) được điều trị bằng hợp chất 6, kháng thể đối chứng isotyp được tiếp hợp với hợp chất 7 ("Đối chứng isotyp-7"), kháng thể kháng EGFRvIII được tiếp hợp với hợp chất 7 ("EGFRvIII-7"), và kháng thể kháng EGFRvIII không được tiếp hợp ("EGFRvIII").

Fig. 5 thể hiện các kết quả về khả năng sống sót tế bào của các tế bào MMT/hEGFRvIII (tế bào MMT biểu hiện hEGFRvIII ngoại sinh) được điều trị bằng

hợp chất 6, kháng thể đối chứng isotyp được tiếp hợp với hợp chất 7 ("Đối chứng isotyp-7"), kháng thể kháng EGFRvIII được tiếp hợp với hợp chất 7 ("EGFRvIII-7"), và kháng thể kháng EGFRvIII không được tiếp hợp ("EGFRvIII").

Fig. 6 thể hiện các kết quả về khả năng sống sót tế bào của các tế bào U251/hEGFRvIII (tế bào U251 biểu hiện hEGFRvIII ngoại sinh) được điều trị bằng hợp chất 6, kháng thể đối chứng isotyp được tiếp hợp với hợp chất 7 ("Đối chứng isotyp-7"), kháng thể kháng EGFRvIII được tiếp hợp với hợp chất 7 ("EGFRvIII-7"), và kháng thể kháng EGFRvIII không được tiếp hợp ("EGFRvIII").

Các hình vẽ **Fig. 7A** và **Fig. 7B** lần lượt thể hiện các kết quả về khả năng sống sót tế bào của các tế bào HEK293 và U87MG, được điều trị bằng các hợp chất 6, 27, 29 và 31 (tất cả đều được tiếp hợp).

Các hình vẽ từ **Fig. 8A** đến **Fig. 8E** lần lượt thể hiện các kết quả về khả năng sống sót tế bào của các tế bào HEK293, U251, C4-2, PC3 và MMT, được điều trị bằng các hợp chất 6, 9, 33 và 35 (tất cả đều được tiếp hợp).

Mô tả chi tiết sáng chế

Việc tham khảo các phương án đã biết nêu trong phần mô tả sau được xem là chỉ nhằm minh họa cho các nguyên lý trong bản mô tả. Ngoài ra, nhiều cải biến và thay đổi sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, và không dùng để giới hạn sáng chế ở các cấu trúc và quy trình chính xác được thể hiện như được nêu trong bản mô tả. Do đó, tất cả các cải biến thích hợp và dạng tương đương thích hợp có thể được sử dụng nằm trong phạm vi của sáng chế và được xác định bởi các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Cụm từ “chứa”, “bao gồm” và “gồm” khi được sử dụng trong bản mô tả và trong các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo dùng để chỉ rõ sự có mặt của các dấu hiệu, số nguyên, thành phần, hoặc bước được nêu, nhưng chúng không loại trừ sự có mặt hoặc bổ sung của một hoặc nhiều dấu hiệu, số nguyên, thành phần, hoặc bước bổ sung của chúng.

Các thuật ngữ chung được sử dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án của bản mô tả có thể được xác định như sau; tuy nhiên, nghĩa của chúng được nêu không nên được hiểu là làm giới hạn phạm vi của chính thuật ngữ này.

Thuật ngữ “hợp chất tiếp hợp” được sử dụng ở đây dùng để chỉ hợp chất có chứa phối tử, chất liên kết và phân tử có hoạt tính sinh học. Các ví dụ minh họa bao gồm hợp chất có công thức (I), (III) và (IV).

Thuật ngữ “gốc đệm” được sử dụng ở đây dùng để chỉ khối kiến trúc hóa học của hợp chất liên kết được sử dụng để tách về mặt không gian phối tử khỏi phân tử có hoạt tính sinh học và để cho hiện tượng dị hóa hợp chất liên kết xảy ra bên trong các tế bào. Gốc đệm này có thể được thể hiện bởi Z_1 và Z_2 .

Thuật ngữ “macrolit” được sử dụng ở đây dùng để chỉ phân tử có hoạt tính sinh học bất kỳ có vòng macrolit.

Thuật ngữ “alkyl” được sử dụng ở đây dùng để chỉ nhóm hydrocacbon có công thức chung C_nH_{2n+1} . Các ví dụ về alkyl bao gồm: metyl, etyl, 1-propyl, 2-propyl, 1-butyl, và hợp chất tương tự. Alkyl điển hình có 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.

Thuật ngữ “aryl” được sử dụng ở đây dùng để chỉ hydrocacbon thơm hóa trị một hoặc đa vòng thường có 6 đến 18 nguyên tử cacbon. Ví dụ về aryl bao gồm phenyl (giống như benzen), benzen được thế, naphtalen, anthraxen, indenyl, tetrahydronaptyl và hợp chất tương tự.

Thuật ngữ “alkenyl” được sử dụng ở đây dùng để chỉ gốc hydrocacbon béo mạch thẳng hoặc mạch nhánh hóa trị một có hai hoặc nhiều nguyên tử cacbon có ít nhất một vị trí không no. Alkenyl có công thức chung là $R_2C=CR_2$. Các ví dụ về alkenyl bao gồm: etylenyl, vinyl, allyl, và dạng tương tự.

Thuật ngữ “alkynyl” được sử dụng ở đây dùng để chỉ gốc hydrocacbon béo hóa trị một chứa một liên kết ba. Alkynyl điển hình có hai đến hai mươi nguyên tử

cacbon (và bao gồm ít nhất một liên kết ba). Các ví dụ về alkynyl bao gồm etynyl, propynyl, 1-butylnyl, 2-butylnyl, 1-pentylnyl, hexynyl và hợp chất tương tự.

Thuật ngữ “xycloalkyl” được sử dụng ở đây, dùng để chỉ gốc vòng cacbon no hóa trị một. Xycloalkyl điển hình là gốc vòng đơn vòng có 3 đến 7 cạnh. Một ví dụ về xycloalkyl là xyclohexyl.

Thuật ngữ “heteroaryl” được sử dụng ở đây, dùng để chỉ gốc thơm hóa trị một của vòng có 5 hoặc 6 cạnh. Heteroaryl bao gồm các hệ vòng ngưng tụ (ít nhất một vòng phải là vòng thơm) mà bao gồm lên đến 5 đến 18 nguyên tử, chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, lưu huỳnh hoặc oxy. Heteroaryl nêu làm ví dụ là pyridinyl, triazolyl, furyl, pyrazinyl, thienyl, isoxazolyl, indazolyl, furazanyl, benzothiazolyl, quinazolinyl, và furopyridinyl.

Thuật ngữ “heteroxycycl” được sử dụng ở đây dùng để chỉ gốc vòng cacbon no hoặc no một phần thường có 3 đến 18 nguyên tử cacbon trong đó ít nhất một nguyên tử trong vòng là nguyên tử khác loại được chọn từ nitơ, oxy, phospho, và lưu huỳnh. Heteroxycycl có thể là, ví dụ, một vòng hoặc hai vòng. Heteroxycycl chẳng hạn là pyrolidinyl, tetrahydrofuranyl, dihydropyranlyl, thioxanyl, 2H-pyranlyl, dioxanyl, dithianyl, piperidino, và hợp chất tương tự.

Cụm từ “muối được dụng” được sử dụng ở đây dùng để chỉ cả muối hữu cơ và muối vô cơ của các hợp chất tiếp hợp được nêu trong bản mô tả, ví dụ, hợp chất có công thức (I), (III), (IV) và (V). Các muối này là được dụng và bao gồm: sulfat, xitrat, nitrat, phosphat, ascorbat, bromua, gluconat, benzoat, oxalat, pantothenat, và hợp chất tương tự. Lưu ý rằng muối được dụng ở đây có thể bao gồm nhiều hơn một nguyên tử tích điện trong cấu tạo của nó cũng như một hoặc nhiều ion đối. Việc điều chế hợp chất tiếp hợp trong bản mô tả dưới dạng muối được dụng đã được biết bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này.

Thuật ngữ “kháng thể người” được sử dụng ở đây bao gồm các kháng thể có vùng biến đổi và vùng hằng định có nguồn gốc từ trình tự globulin miễn dịch ở người. mAb ở người theo sáng chế có thể bao gồm các gốc axit amin mà không được mã hóa bằng trình tự globulin miễn dịch ở người (ví dụ, các thể đột biến được tạo ra bằng cách gây đột biến ngẫu nhiên hoặc đặc hiệu điểm *in vitro* hoặc bằng đột biến sinh dưỡng *in*

vivo), ví dụ, trong các CDR và cụ thể là CDR3. Tuy nhiên, thuật ngữ “kháng thể người”, được sử dụng ở đây, không bao gồm mAb trong đó trình tự CDR có nguồn gốc từ dòng mầm của một loài động vật có vú khác được ghép lên trên trình tự FR ở người.

Thuật ngữ “lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh” được sử dụng ở đây dùng để chỉ lượng để tạo ra tác dụng mong muốn cho đối tượng sử dụng. Lượng chính xác sẽ phụ thuộc vào mục đích điều trị, và sẽ được biết chắc chắn bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết (xem, ví dụ, Lloyd (1999) *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding*).

Phối tử và hợp chất liên kết kèm theo

Tính hữu hiệu của các phương án về hợp chất tiếp hợp được nêu trong bản mô tả phụ thuộc vào tính chọn lọc của phối tử để liên kết hợp chất liên kết kèm theo phối tử của nó.

Theo một phương án, phối tử là phân tử bất kỳ có khả năng liên kết có một phần đặc hiệu với hợp chất liên kết kèm theo đã biết ở động vật có vú mà sự tương tác này có thể được sử dụng để điều trị bệnh. Theo một số khía cạnh, phối tử có khả năng liên kết với một tế bào hoặc quần thể tế bào.

Phối tử sử dụng trong bản mô tả bao gồm các kháng thể, lymphokin, hormon, yếu tố sinh trưởng, thụ thể virus, interleukin, hoặc phân tử hoặc cơ chất liên kết tế bào hoặc liên kết peptit bất kỳ khác.

Theo một phương án, phối tử là kháng thể. Như được xác định trong bản mô tả, kháng thể dùng để chỉ kháng thể đơn dòng, kháng thể đa dòng, mảnh kháng thể (Fab, Fab', và F(ab)₂, kháng thể nhỏ, kháng thể thể hai, kháng thể thể ba, và kháng thể tương tự), và kháng thể đặc hiệu kép. Kháng thể trong bản mô tả có thể được nhân tính hóa bằng cách sử dụng các phương pháp được mô tả trong patent Mỹ số 6596541 và công bố đơn Mỹ số 2012/0096572, mỗi tài liệu được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Nếu phối tử là kháng thể, thì nó sẽ liên kết với hợp chất liên kết kèm theo kháng nguyên mà là polypeptit và có thể là phân tử xuyên màng (ví dụ, thụ thể) hoặc yếu tố

sinh trưởng. Các kháng nguyên nêu làm ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các phân tử như renin; hormon sinh trưởng, bao gồm hormon sinh trưởng ở người và hormon sinh trưởng ở bò; yếu tố giải phóng hormon sinh trưởng; hormon tuyến cận giáp; hormon kích thích tuyến giáp; lipoprotein; alpha1-kháng trypsin; insulin chuỗi A; insulin chuỗi B; proinsulin; hormon kích thích nang; canxitonin; hormon lutein hóa; glucagon; yếu tố tạo cục đông như yếu tố vmc, yếu tố IX, yếu tố mô (TF), và yếu tố von Willebrands; yếu tố chống tạo cục đông như Protein C; yếu tố lợi niệu tâm nhĩ; chất hoạt động bề mặt phổi; chất hoạt hóa plasminogen, như urokinaza hoặc chất hoạt hóa plasminogen biểu mô (t-PA) hoặc trong nước tiểu của người; bombesin; thrombin; yếu tố sinh trưởng sinh huyết; yếu tố alpha và beta hoại tử khối u; enkephalinaza; RANTES (được điều hòa đối với sự hoạt hóa tế bào T bình thường được biểu hiện và tiết ra); protein viêm đại thực bào ở người (MIP-I-alpha); albumin huyết thanh, như albumin huyết thanh người; cơ chất ức chế Muellierian; relaxin chuỗi A; relaxin chuỗi B; prorelaxin; peptit liên kết gonadotropin ở chuột; protein vi khuẩn, như betalactamaza; DNaza; 19E; kháng nguyên liên kết tế bào lympho T gây độc tế bào (CTLA), như CTLA-4; inhibin; activin; yếu tố sinh trưởng nội mô mạch (VEGF); thụ thể đối với hormon hoặc yếu tố sinh trưởng; protein A hoặc D; yếu tố thấp khớp; yếu tố dinh dưỡng thần kinh như yếu tố dinh dưỡng thần kinh có nguồn gốc từ xương (BDNF), yếu tố dinh dưỡng thần kinh 3, 4, 5, hoặc 6 (NT-3, NT4, NT-5, hoặc NT-6), hoặc yếu tố sinh trưởng thần kinh như NGF- β ; yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu (PDGF); yếu tố sinh trưởng nguyên bào sợi như aFGF và bFGF; yếu tố sinh trưởng nguyên bào sợi thụ thể 2 (FGFR2), yếu tố sinh trưởng biểu bì (EGF); yếu tố sinh trưởng biến nạp (TGF) như TGF-alpha và TGF-beta, bao gồm TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, TGF- β 4, hoặc TGF- β 5; yếu tố sinh trưởng-I và -II giống insulin (IGF-I và IGF-II); des(I-3)-IGF-I (IGF-I trong não), protein liên kết với yếu tố sinh trưởng giống insulin, EpCAM, GD3, FLT3, PSMA, PSCA, MUCI, MUCI6, STEAP, CEA, TENB2, thụ thể EphA, thụ thể EphB, thụ thể folat, FOLRI, mesothelin, cripto, alphavbeta6, integrin, VEGF, VEGFR, EGFR, thụ thể transferin, IRTAI, IRTA2, IRTA3, IRTA4, IRTA5; protein CD như CD2, CD3, CD4, CD5, CD6, CD8, CDII, CDI4, CDI9, CD20, CD21, CD22, CD25, CD26, CD28, CD30, CD33, CD36, CD37, CD38, CD40, CD44, CD52, CD55, CD56, CD59, CD70, CD79, CD80, CD81, CD103, CD105, CD134, CD137,

CD138, CD152, hoặc kháng thể mà liên kết với một hoặc nhiều kháng nguyên liên kết khối u hoặc thụ thể bề mặt tế bào được bộc lộ trong công bố đơn Mỹ số 2008/0171040 hoặc công bố đơn Mỹ số 2008/0305044 và được đưa vào đây bằng cách viện dẫn; erythropoietin; yếu tố dẫn truyền xương; độc tố miễn dịch; protein tạo hình thái xương (BMP); interferon, như interferon-alpha, beta, và gamma; yếu tố kích thích khuẩn lạc (CSF), ví dụ, M-CSF, GM-CSF, và G-CSF; interleukin (IL), ví dụ, từ IL-1 đến IL-10; superoxit dismutaza; thụ thể tế bào T; protein màng bề mặt; yếu tố làm tăng sự phân rã; kháng nguyên virus như, ví dụ, một phần của vỏ HIV; protein vận chuyển; thụ thể định cư; addressin; protein điều hòa; integrin, như CD11a, CD11b, CD11c, CD18, ICAM, VLA-4 và VCAM; kháng nguyên liên kết khối u như AFP, ALK, B7H4, protein BAGE, β -catenin, bcr-abl, BRCA1, BORIS, CA9 (cacbonic anhydrase IX), caspase-8, CD20, CD40, CD123, CDK4, CEA, CLEC12A, c-kit, cMET, CTLA4, cyclin-B1, CYP1B1, EGFR, EGFRvIII, endoglin, Epcam, EphA2, ErbB2/Her2, ErbB3/Her3, ErbB4/Her4, ETV6-AML, Fra-1, FOLR1, protein GAGE (ví dụ, GAGE-1, -2), GD2, GD3, GloboH, glypican-3, GM3, gp100, Her2, HLA/B-raf, HLA/EBNA1, 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, NGEP, 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, PSCA, PSGR, PSMA (FOLH1), protein RAGE, Ras, RGS5, Rho, SART-1, SART-3, Steap-1, Steap-2, STn, survivin, TAG-72, TGF- β , TMPRSS2, Tn, TNFRSF17, TRP-1, TRP-2, tyrosinaza, và uroplakin-3, và các mảnh của polypeptit bất kỳ trong số các polypeptit được liệt kê ở trên.

Phối tử cũng có thể bao gồm protein lặp ankyrin, interferon, lymphokin như IL-2 hoặc IL-3, hormon giống insulin và glucocorticoid, yếu tố sinh trưởng như EGF, transferrin, fibronectin typ III, v.v..

Các phương án nêu trong bản mô tả là đặc hiệu đích để sử dụng trong điều trị bệnh. Theo một phương án, phối tử được chuẩn bị để tương tác và liên kết với kháng nguyên được xác định là kháng nguyên khối u, mà bao gồm kháng nguyên đặc hiệu với kiểu khối u hoặc kháng nguyên tham gia vào, biểu hiện quá mức hoặc cải biến về

loại khối u cụ thể. Các ví dụ bao gồm: alpha-actinin-4 với bệnh ung thư phổi, ARTC1 với u hắc sắc tố, protein dung hợp BCR-ABL với bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính, B-RAF, CLPP hoặc Cdc27 với u hắc sắc tố, CASP-8 với caxinom tế bào vảy, và hsp70-2 với caxinom tế bào thận cũng như các kháng nguyên đặc hiệu khối u tham gia vào sau, ví dụ: BAGE-1, GAGE, GnTV, KK-LC-1, MAGE-A2, NA88-A, TRP2-INT2.

Phân tử có hoạt tính sinh học

Phân tử có hoạt tính sinh học trong bản mô tả gồm các phân tử bất kỳ được sử dụng để điều trị bệnh ở động vật có vú. Theo các phương án điển hình, phân tử này được phân phối theo cách có lợi đến vị trí đích trong động vật có vú và đặc biệt được phân phối theo cách có lợi đến tế bào và sau đó vào trong tế bào này (ví dụ, sự nhập bào) so với các phân tử được giải phóng vào hệ mạch hoặc hệ bạch huyết.

Theo một khía cạnh, phân tử có hoạt tính sinh học là hợp chất mà dẫn đến sự ức chế, làm chậm, làm giảm, và/hoặc ngăn chặn sự sinh trưởng tế bào. Phân tử có hoạt tính sinh học cũng có thể dẫn đến sự chết tế bào do sự hoại tử hoặc sự chết tế bào theo chương trình. Phân tử có hoạt tính sinh học nêu làm ví dụ để sử dụng trong các hợp chất tiếp hợp được nêu trong bản mô tả bao gồm: maytansinoit (ví dụ, DM1, DM4, v.v.), auristatin (ví dụ, MMAE, MMAD, MMAF, v.v.), duocarmyxin (ví dụ, MGBA), dolastatin, toxoit, và các thuốc hữu hiệu dùng để hóa trị khác.

Các ví dụ cụ thể khác về phân tử có hoạt tính sinh học mà có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế bao gồm, ví dụ, 1-dehydrotestosteron, 2-pyrolinodoxorubixin, 5-flouraxil, 6-mercaptapurin, 6-thioguanin, actinomycin D, anthraxyclin, anthramyxin (AMC), bleomycin, busulfan, calicheamixin, carmustin, xisplatin, colchixin, xyanomorpholino-doxorubixin, xyclophosphamit, xytarabin, xytochalasin B, dactinomycin, daunorubixin, decarbazin, dibromomannitol, dihydroxy anthraxin dion, doxorubixin, emetin, epirubixin, ethidium bromua, etoposit, gramixidin D, glucocorticoit, lidocain, lomustin (CCNU), mecloretamin, melphalan, metotrexat, mithramycin, mitomycin, mitoxantron, morpholino-doxorubixin, procain, propranolol, puromycin, pyrolobenzodiazapin, sibiromycin, streptozotoxin, taxol, tenoposit, tetracain, thioepa clorambuxil, trichothexen, tubulysin, vincristin, và chất

đồng phân lập thể, chất đẳng vị, chất tương tự hoặc dẫn xuất của hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất nêu trên.

Theo một phương án, phân tử có hoạt tính sinh học là maytansinoit hoặc chất tương tự maytansinoit. Maytansinoit nêu làm ví dụ để sử dụng trong bản mô tả được mô tả trong Widdison et al., J. Med. Chem., 2006, 49, 4392-4408, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

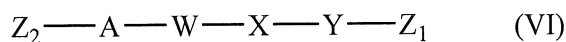
Vật liệu liên kết

Sáng chế bao gồm hợp chất liên kết mà có khả năng liên kết hóa học cộng hóa trị với hai gốc hóa học đặt cách nhau. Hợp chất liên kết đặt cách nhau và liên kết hai gốc, ví dụ, hợp chất liên kết có thể liên kết phối tử và phân tử có hoạt tính sinh học. Theo một khía cạnh, hợp chất liên kết tự tiêu, trong đó hợp chất liên kết liên kết với hai hoặc nhiều gốc hóa học khác nhau và giải phóng ít nhất một trong các gốc hóa học này với sự có mặt của enzym. Theo một khía cạnh khác, hợp chất liên kết có thể được gắn vào các gốc hóa học khác, gồm, nhưng không giới hạn ở, chất phân tích, phân tử sinh học, chất hướng đích, nguyên tử đánh dấu phát hiện được, chất chẩn đoán, và chất tương tự. Theo một phương án, hợp chất liên kết gắn phân tử có hoạt tính sinh học và phối tử. Theo một phương án khác, hợp chất liên kết gắn macrolit có hoạt tính sinh học và phối tử. Theo một phương án khác nữa, hợp chất liên kết gắn macrolit có hoạt tính sinh học và kháng thể hoặc mảnh của nó.

Theo một khía cạnh, hợp chất liên kết hữu ích để liên kết cộng hóa trị phối tử với chất dùng để điều trị bệnh và chất chỉ thị. Theo một khía cạnh khác, hợp chất liên kết cải thiện tính ổn định hóa học và/hoặc tính ổn định hệ thống của các gốc được gắn vào. Theo một khía cạnh khác, hợp chất liên kết làm giảm độc tính *in vivo* của các gốc được gắn. Theo một khía cạnh khác, hợp chất liên kết cải thiện tính dược động học, tính dược lực học, và/hoặc sinh khả dụng của các gốc được gắn. Theo một khía cạnh, hợp chất liên kết phân tách và giải phóng phân tử có hoạt tính sinh học tại vị trí trong hoặc gần tế bào hoặc quần thể tế bào đích ở dạng hữu hiệu về mặt dược lý. Theo một khía cạnh, việc phân tách được thực hiện bằng enzym. Theo một khía cạnh, nhóm phân tách được trên hợp chất liên kết để phân tách enzym gồm, nhưng không giới hạn

ở, liên kết peptit, liên kết este, và liên kết disulfua. Theo một khía cạnh khác, hợp chất liên kết được phân tách thông qua sự thay đổi độ pH.

Theo một phương án, hợp chất liên kết có công thức (VI):



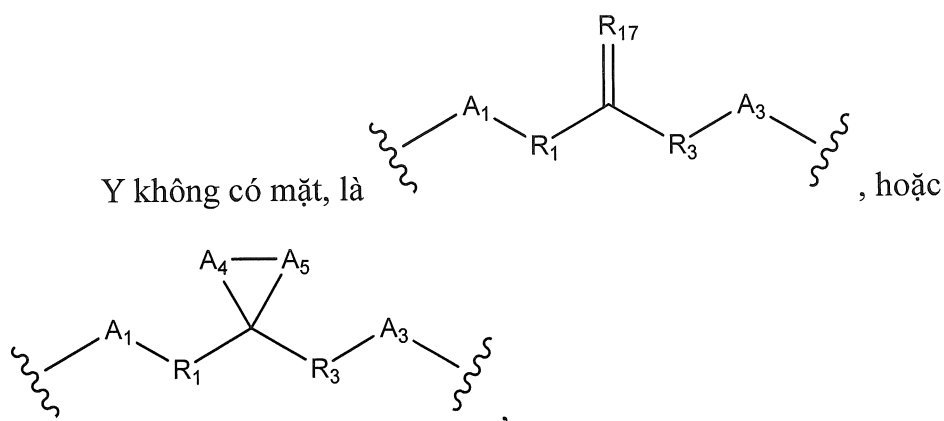
trong đó:

mỗi Z_2 và Z_1 độc lập là không có mặt hoặc là gốc đệm;

A là axit amin có trong tự nhiên hoặc không có trong tự nhiên, hoặc peptit có chứa 2 đến 20 axit amin;

W không có mặt, là -O-, -S-, -CR₅R₆-, -NR₄-;

X không có mặt, là aryl, heteroaryl, xycloalkyl, heteroxyclyl, trong đó aryl, heteroaryl, xycloalkyl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế;



trong đó mỗi A_1 , A_3 , R_1 và R_3 độc lập là không có mặt, là axit amin, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, -CR₅R₆-, -O-, -C(=O)-, -O-C(=O)-, -C(=O)-O-, -O-C(=O)-O-, -C(=O)-(CH_x)_{p1}-, -C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-, -(CH_x)_{p1}-C(=O)-, -(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-, -(O-(CH₂)_{p2})_{p3}-, -((CH₂)_{p2}-O)_{p3}-, -C(=S)-, -C(=S)-S-, -C(=S)-NH-, -S-C(=S)-, -S-C(=S)-S-, -S-, -SO-, -SO₂-, -NR₄-, -N(R₄)-C(=O)-N(R₈)-, -N(R₄)-C(=O)O-, -N(R₄)-C(=O)-, -C(=O)-N(R₄)-, -C(=O)-N(R₄)-C(=O)-, -O-C(=O)-NR₄-, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế;

mỗi A_4 và A_5 độc lập là -O-, -S-, -NR₁₈-, -CR₅R₆-;

R_{17} được chọn từ nhóm bao gồm O, S, NR_{18} , CR_5R_6 ;

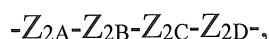
R_{18} được chọn từ nhóm bao gồm H, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, và axyl, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, và axyl này tùy ý được thế;

mỗi R_4 , R_5 , R_6 và R_8 độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, hoặc heteroxyclyl được thế hoặc không được thế;

mỗi p_1 , p_2 và p_3 độc lập là 0, hoặc số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 100; và

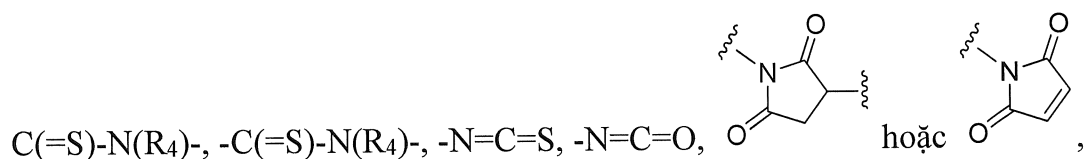
x là 0, 1 hoặc 2.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (VI), trong đó Z_2 có công thức cấu tạo sau:



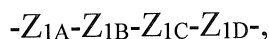
trong đó:

mỗi Z_{2A} , Z_{2B} , Z_{2C} và Z_{2D} độc lập là không có mặt, là axit amin, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, $-CR_5R_6-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-O-C(=O)-O-$, $-C(=O)-(CH_x)_{p1}$, $-C(=O)-O-(CH_x)_{p1}$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2})_{p3}-$, $-((CH_2)_{p2}-O-)_{p3}-$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-S-$, $-C(=S)-NH-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR_4-$, $-N(R_4)-C(=O)-N(R_8)-$, $-N(R_4)-C(=O)O-$, $-N(R_4)-C(=O)-$, $-C(=O)-N(R_4)-$, $-C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $-O-C(=O)-N(R_4)$, $-O-$



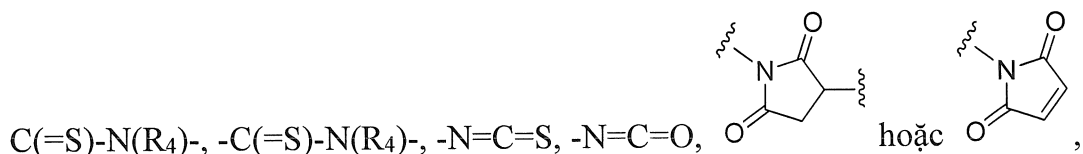
trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl tùy ý được thế và mỗi R_4 , R_5 , R_6 và R_8 độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, hoặc heteroxyclyl được thế hoặc không được thế.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (VI), trong đó Z_1 có công thức cấu tạo sau:



trong đó:

mỗi Z_{1A} , Z_{1B} , Z_{1C} và Z_{1D} độc lập là không có mặt, là axit amin, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, $-CR_5R_6-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-O-C(=O)-O-$, $-C(=O)-(CH_x)_{p1}$, $-C(=O)-O-(CH_x)_{p1}$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2}-)_{p3}$, $-((CH_2)_{p2}-O-)_{p3}$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-S-$, $-C(=S)-NH-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR_4-$, $-N(R_4)-C(=O)-N(R_8)-$, $-N(R_4)-C(=O)O-$, $-N(R_4)-C(=O)-$, $-C(=O)-N(R_4)-$, $C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $-O-C(=O)-N(R_4)$, $-O-$

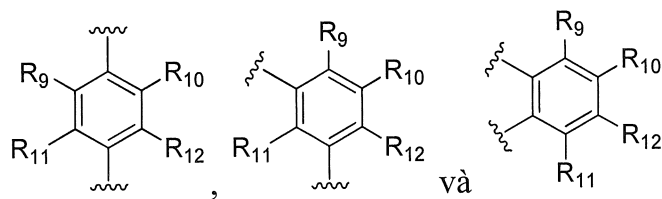


trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế và mỗi R_4 , R_5 , R_6 và R_8 độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, hoặc heteroxyclyl được thế hoặc không được thế.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (VI), trong đó A là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm alanin, axit aspartic, axit glutamic, phenylalanin, glyxin, histidin, isoleuxin, lysin, leuxin, methionin, asparagin, prolin, glutamin, arginin, serin, threonin, valin, tryptophan, tyrosin, xystein, và xitrulin.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (VI), trong đó A là peptit được chọn từ nhóm bao gồm valin-xitrulin, xitrulin-valin, lysin-phenylalanin, phenylalanin-lysin, valin-asparagin, asparagin-valin, threonin-asparagin, serin-asparagin, asparagin-serin, phenylalanin-asparagin, asparagin-phenylalanin, leuxin-asparagin, asparagin-leuxin, isoleuxin-asparagin, asparagin-isoleuxin, glyxin-asparagin, asparagin-glyxin, axit glutamic-asparagin, asparagin-axit glutamic, xitrulin-asparagin, asparagin-xitrulin, alanin-asparagin, asparagin-alanin.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (VI), trong đó X là aryl được chọn từ nhóm bao gồm:



trong đó mỗi R_9 , R_{10} , R_{11} , và R_{12} độc lập là H, alkyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, halogen, $NR_{13}R_{14}$, nitro, xyano, -OH, -O-C(=O)- R_{15} , -C(=O)- R_{15} , -C(=O)-O- R_{15} , -C(=O)- $NR_{13}R_{14}$; và

và trong đó, alkyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế;

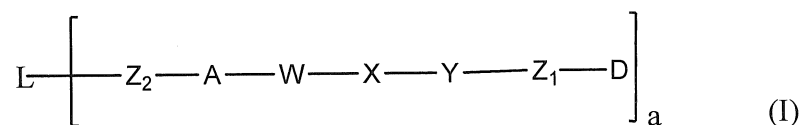
mỗi R_{13} và R_{14} độc lập là H hoặc alkyl tùy ý được thế; và R_{15} là alkyl tùy ý được thế.

Theo một số phương án đã biết, hợp chất liên kết, phân tử có hoạt tính sinh học, và các hợp chất khác theo sáng chế có thể được liên kết với kháng thể hoặc phân tử liên kết kháng nguyên thông qua điểm gắn tại axit amin cụ thể trong kháng thể hoặc phân tử liên kết kháng nguyên. Các điểm gắn axit amin nêu làm ví dụ có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của bản mô tả gồm, ví dụ, lysin (xem, ví dụ, US 5208020; US 2010/0129314; Hollander et al., *Bioconjugate Chem.*, 2008, 19:358-361; WO 2005/089808; US 5714586; US 2013/0101546; và US 2012/0585592), xystein (xem, ví dụ, US 2007/0258987; WO 2013/055993; WO 2013/055990; WO 2013/053873; WO 2013/053872; WO 2011/130598; US 2013/0101546; và US 7750116), selenoxystein (xem, ví dụ, WO 2008/122039; và Hofer et al., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2008, 105:12451-12456), formyl glyxin (xem, ví dụ, Carrico et al., *Nat. Chem. Biol.*, 2007, 3:321-322; Agarwal et al., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2013, 110:46-51, và Rabuka et al., *Nat. Protocols*, 2012, 10:1052-1067), axit amin không có trong tự nhiên (xem, ví dụ, WO 2013/068874, và WO 2012/166559), và axit amin có tính axit (xem, ví dụ, WO 2012/05982). Hợp chất liên kết cũng có thể được tiếp hợp với protein liên kết kháng nguyên thông qua việc liên kết với hydrat cacbon (xem, ví dụ, US 2008/0305497, và Ryan et al., *Food & Agriculture Immunol.*, 2001, 13:127-130) và hợp chất liên kết disulfua (xem, ví dụ, WO 2013/085925, WO 2010/010324, WO 2011/018611, và Shaunak et al., *Nat. Chem. Biol.*, 2006, 2:312-313).

Theo một số phương án đã biết khác, hợp chất liên kết, phân tử có hoạt tính sinh học như thuốc có thể được liên kết với kháng thể hoặc phân tử liên kết kháng nguyên thông qua điểm gắn tại axit amin cụ thể trong kháng thể hoặc phân tử liên kết kháng nguyên mà tạo thành thể tiếp hợp kháng thể-thuốc (ADC).

Hợp chất

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất tiếp hợp phối tử và các phân tử có hoạt tính sinh học có công thức cấu tạo (I) sau:



trong đó:

L không có mặt hoặc là phối tử;

và trong đó:

khi L là phối tử, L có khả năng liên kết với một tế bào hoặc quần thể tế bào;

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

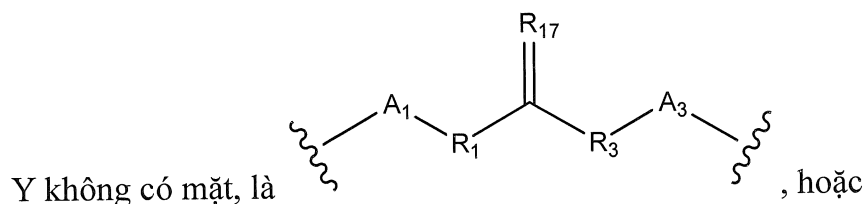
mỗi Z_2 và Z_1 độc lập là không có mặt hoặc là gốc đệm;

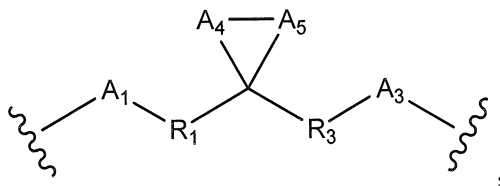
D là phân tử có hoạt tính sinh học;

A là axit amin có trong tự nhiên hoặc không có trong tự nhiên, hoặc peptit có chứa 2 đến 20 axit amin;

W không có mặt, là -O-, -S-, - CR_5R_6 -, - NR_4 -;

X không có mặt, aryl, heteroaryl, xycloalkyl, heteroxyclyl, trong đó aryl, heteroaryl, xycloalkyl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế;





trong đó mỗi A_1 , A_3 , R_1 và R_3 độc lập là không có mặt, là axit amin, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, $-CR_5R_6-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-O-C(=O)-O-$, $-C(=O)-(CH_x)_{p1}-$, $-C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2})_{p3}-$, $-((CH_2)_{p2}-O)_{p3}-$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-S-$, $-C(=S)-NH-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR_4-$, $-N(R_4)-C(=O)-N(R_8)-$, $-N(R_4)-C(=O)O-$, $-N(R_4)-C(=O)-$, $-C(=O)-N(R_4)-$, $-C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $-O-C(=O)-NR_4-$, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế;

mỗi A_4 và A_5 độc lập là $-O-$, $-S-$, $-NR_{18}-$, $-CR_5R_6-$;

R_{17} được chọn từ nhóm bao gồm O, S, NR_{18} , CR_5R_6 ;

R_{18} được chọn từ nhóm bao gồm H, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, và axyl, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, và axyl này tùy ý được thế;

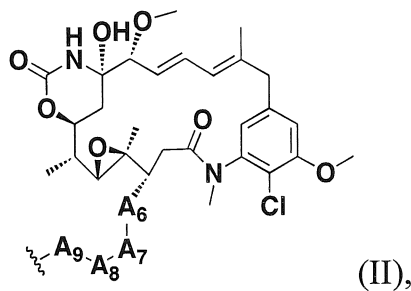
mỗi R_4 , R_5 , R_6 và R_8 độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, hoặc heteroxyclyl được thế hoặc không được thế;

mỗi p_1 , p_2 và p_3 độc lập là 0, hoặc số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 100; và

x là 0, 1 hoặc 2.

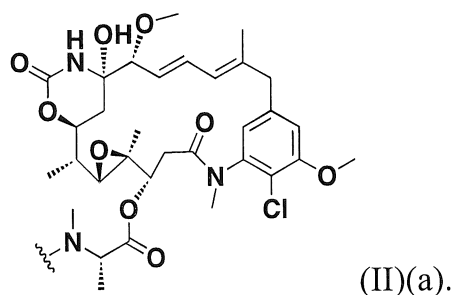
Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất trong đó phân tử có hoạt tính sinh học là macrolit có hoạt tính sinh học gây độc tế bào.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất maytansinoid có công thức (II) làm macrolit có hoạt tính sinh học:



trong đó mỗi A_6 , A_7 , A_8 , A_9 độc lập là không có mặt, là axit amin, axit amin của N-alkyl, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkenyl, alkynyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, $-CR_5R_6-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-O-C(=O)-O-$, $-C(=O)-(CH_x)_{p1}$, $-C(=O)-O-(CH_x)_{p1}$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2})_{p3}-$, $-((CH_2)_{p2}-O-)_{p3}-$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-NH-$, $-C(=S)-S-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR_4-$, $-N(R_4)-C(=O)-N(R_8)-$, $-N(R_4)-C(=O)O-$, $-N(R_4)-C(=O)-$, $-C(=O)-N(R_4)-$, $-C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $-O-C(=O)-NR_4$, và trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế; và mỗi R_4 , R_5 , R_6 và R_8 độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, hoặc heteroxyclyl được thế hoặc không được thế.

Theo một phương án khác, maytansinoit có công thức cấu tạo (II)(a) sau:



Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó phối tử (L) có khả năng liên kết với quần thể tế bào hướng đích đặc hiệu.

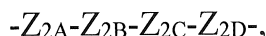
Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó phối tử (L) được chọn từ nhóm bao gồm protein, kháng thể, mảnh kháng thể, axit nucleic, khung liên kết kháng nguyên, và hydrat cacbon.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó phối tử (L) là kháng thể hoặc mảnh của nó.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó phối tử (L) là kháng thể hoặc mảnh của nó mà liên kết đặc hiệu kháng nguyên liên kết khối u.

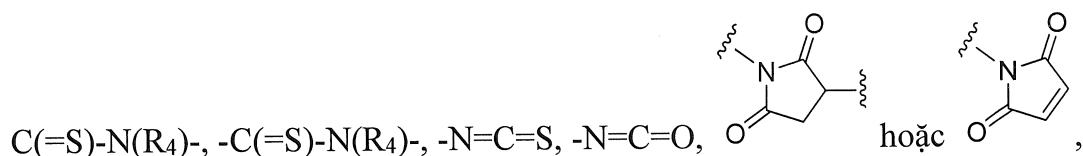
Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó kháng thể hoặc mảnh của nó chứa nhóm lưu huỳnh mà được gắn cộng hóa trị với Z_2 .

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó Z_2 có công thức cấu tạo sau:



trong đó:

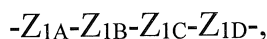
mỗi Z_{2A} , Z_{2B} , Z_{2C} và Z_{2D} độc lập là không có mặt, là axit amin, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, $-CR_5R_6-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-O-C(=O)-O-$, $-C(=O)-(CH_x)_{p1}$, $-C(=O)-O-(CH_x)_{p1}$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2})_{p3}-$, $-((CH_2)_{p2}-O-)_{p3}-$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-S-$, $-C(=S)-NH-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR_4-$, $-N(R_4)-C(=O)-N(R_8)-$, $-N(R_4)-C(=O)O-$, $-N(R_4)-C(=O)-$, $-C(=O)-N(R_4)-$, $-C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $-O-C(=O)-N(R_4)-$, $-O-$



trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế và mỗi R_4 , R_5 , R_6 và R_8 độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, hoặc heteroxyclyl được thế hoặc không được thế.

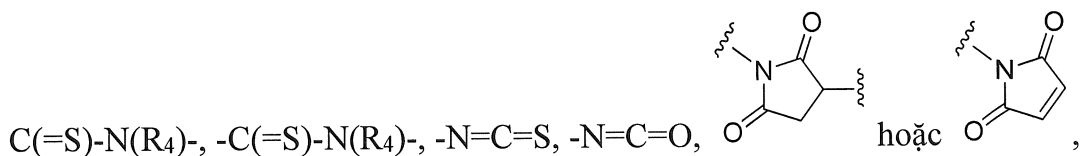
Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó kháng thể hoặc mảnh của nó chứa nhóm lưu huỳnh mà được gắn cộng hóa trị với Z_{2A} .

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó Z_1 có công thức cấu tạo sau đây:



trong đó:

mỗi Z_{1A} , Z_{1B} , Z_{1C} và Z_{1D} độc lập là không có mặt, là axit amin, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, $-CR_5R_6-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-O-C(=O)-O-$, $-C(=O)-(CH_x)_{p1}$, $-C(=O)-O-(CH_x)_{p1}$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2}-)_{p3}-$, $-((CH_2)_{p2}-O-)_{p3}-$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-S-$, $-C(=S)-NH-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR_4-$, $-N(R_4)-C(=O)-N(R_8)-$, $-N(R_4)-C(=O)O-$, $-N(R_4)-C(=O)-$, $-C(=O)-N(R_4)-$, $C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $-O-C(=O)-N(R_4)$, $-O-$



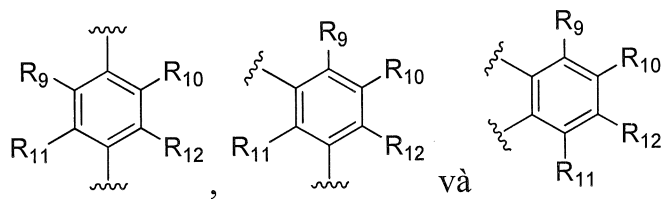
trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế và mỗi R_4 , R_5 , R_6 và R_8 độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, hoặc heteroxyclyl được thế hoặc không được thế.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó phân tử có hoạt tính sinh học (D) được gắn cộng hóa trị với Z_1 .

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó A là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm alanin, axit aspartic, axit glutamic, phenylalanin, glyxin, histidin, isoleuxin, lysin, leuxin, methionin, asparagin, prolin, glutamin, arginin, serin, threonin, valin, tryptophan, tyrosin, xystein, và xitrulin.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó A là peptit được chọn từ nhóm bao gồm valin-xitrulin, xitrulin-valin, lysin-phenylalanin, phenylalanin-lysin, valin-asparagin, asparagin-valin, threonin-asparagin, serin-asparagin, asparagin-serin, phenylalanin-asparagin, asparagin-phenylalanin, leuxin-asparagin, asparagin-leuxin, isoleuxin-asparagin, asparagin-isoleuxin, glyxin-asparagin, asparagin-glyxin, axit glutamic-asparagin, asparagin-axit glutamic, xitrulin-asparagin, asparagin-xitrulin, alanin-asparagin, asparagin-alanin.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó X là aryl được chọn từ nhóm bao gồm:

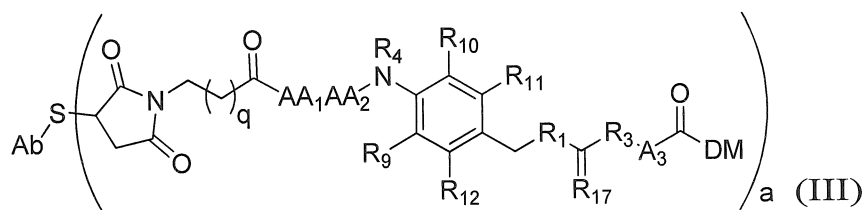


trong đó mỗi R_9 , R_{10} , R_{11} , và R_{12} độc lập là H, alkyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, halogen, $NR_{13}R_{14}$, nitro, xyano, -OH, -O-C(=O)- R_{15} , -C(=O)- R_{15} , -C(=O)-O- R_{15} , -C(=O)- $NR_{13}R_{14}$; và

và trong đó, alkyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế;

mỗi R_{13} và R_{14} độc lập là H hoặc alkyl tùy ý được thế; và R_{15} là alkyl tùy ý được thế.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (III):



trong đó:

Ab là kháng thể hoặc mảnh của nó;

AA_1 - AA_2 là peptit được chọn từ nhóm bao gồm valin-xitrulin, xitrulin-valin, lysin-phenylalanin, phenylalanin-lysin, valin-asparagin, asparagin-valin, threonin-asparagin, serin-asparagin, asparagin-serin, phenylalanin-asparagin, asparagin-phenylalanin, leuxin-asparagin, asparagin-leuxin, isoleuxin-asparagin, asparagin-isoleuxin, glyxin-asparagin, asparagin-glyxin, axit glutamic- asparagin, asparagin-axit glutamic, xitrulin-asparagin, asparagin-xitrulin, alanin-asparagin, asparagin-alanin;

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

q là 0 hoặc số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 5;

mỗi A_3 , R_1 và R_3 độc lập là không có mặt, là axit amin, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, $-CR_5R_6-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-O-C(=O)-O-$, $-C(=O)-(CH_x)_{p1}-$, $-C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2})_{p3}-$, $-((CH_2)_{p2}-O-)_{p3}-$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-S-$, $-C(=S)-NH-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR_4-$, $-N(R_4)-C(=O)-N(R_8)-$, $-N(R_4)-C(=O)O-$, $-N(R_4)-C(=O)-$, $-C(=O)-N(R_4)-$, $-C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $-O-C(=O)-NR_4-$, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế;

R_{17} được chọn từ nhóm bao gồm O, S, NR_{18} , CR_5R_6 ;

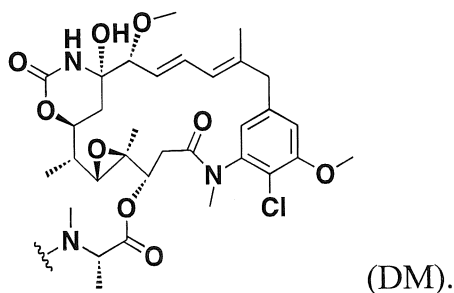
mỗi R_4 , R_5 , R_6 và R_8 độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl được thế hoặc không được thế;

mỗi R_9 , R_{10} , R_{11} , và R_{12} độc lập là H, halogen, $NR_{13}R_{14}$, nitro, xyano, -OH, $-O-C(=O)-R_{15}$, $-C(=O)-R_{15}$, $-C(=O)-O-R_{15}$, $-C(=O)-NR_{13}$ R_{14} , alkyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl được thế hoặc không được thế;

mỗi R_{13} và R_{14} độc lập là H hoặc alkyl tùy ý được thế; và R_{15} là alkyl tùy ý được thế;

mỗi p_1 , p_2 và p_3 độc lập là 0, hoặc số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 100;

x là 0, 1 hoặc 2; và DM có công thức cấu tạo sau (ví dụ, hợp chất có công thức (II)(a)):



Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (III):

trong đó:

q là 4;

mỗi R_1 và R_3 độc lập là $-O-$, $-S-$, NR_4 , $-CR_5R_6-$;

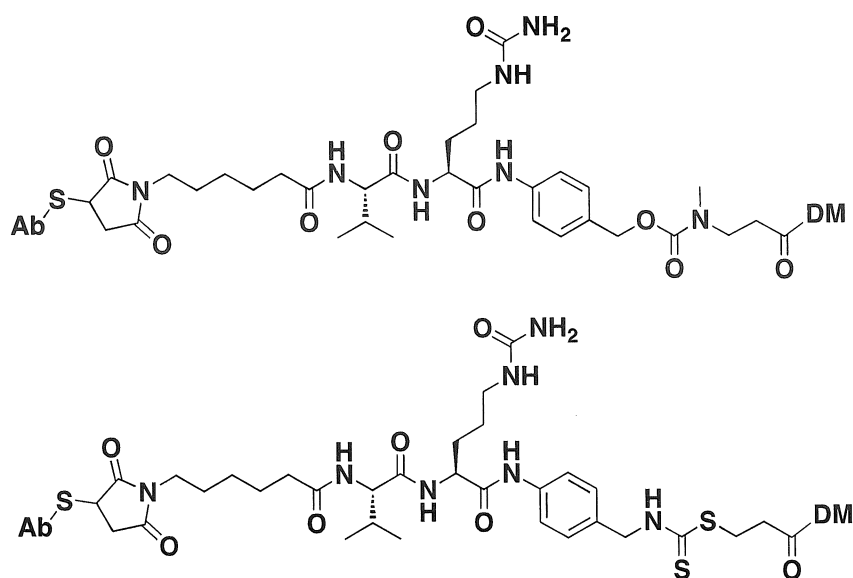
R_{17} được chọn từ nhóm bao gồm O, S, NR_{18} , CR_5R_6 ;

R_{18} được chọn từ nhóm bao gồm H, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, và axyl, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, và axyl này tùy ý được thế;

mỗi R_4 , R_5 , R_6 , R_9 , R_{10} , R_{11} , R_{12} độc lập là H hoặc alkyl; và

A_3 là alkyl.

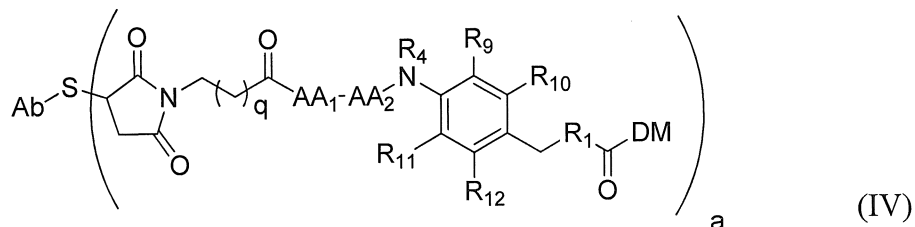
Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (III) có công thức cấu tạo (III)(a) và (III)(b) sau:



(III)(a) và (III)(b)

trong đó Ab là kháng thể hoặc mảnh của nó.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IV):



trong đó:

Ab là kháng thể hoặc mảnh của nó;

AA_1 - AA_2 là peptit được chọn từ nhóm bao gồm valin-xitrulin, xitrulin-valin, lysin-phenylalanin, phenylalanin-lysin, valin-asparagin, asparagin-valin, threonin-asparagin, serin-asparagin, asparagin-serin, phenylalanin-asparagin,

asparagin-phenylalanin, leuxin-asparagin, asparagin-leuxin, isoleuxin-asparagin, asparagin-isoleuxin, glyxin-asparagin, asparagin-glyxin, axit glutamic- asparagin, asparagin-axit glutamic, xitrulin-asparagin, asparagin-xitrulin, alanin-asparagin, asparagin-alanin;

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

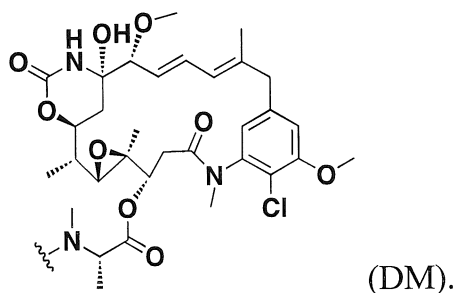
q là 0 hoặc số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 5;

R_1 không có mặt, là axit amin, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, $-CR_5R_6-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-O-C(=O)-O-$, $-C(=O)-(CH_x)_{p1}-$, $-C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2})_{p3}-$, $-((CH_2)_{p2}-O)_{p3}-$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-S-$, $-C(=S)-NH-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR_4-$, $-N(R_4)-C(=O)-N(R_8)-$, $-N(R_4)-C(=O)O-$, $-N(R_4)-C(=O)-$, $-C(=O)-N(R_4)-$, $-C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $-O-C(=O)-NR_4-$, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế;

R_4 , là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl được thế hoặc không được thế;

mỗi R_9 , R_{10} , R_{11} , và R_{12} độc lập là H, halogen, $NR_{13}R_{14}$, nitro, xyano, $-OH$, $-O-C(=O)-R_{15}$, $-C(=O)-R_{15}$, $-C(=O)-O-R_{15}$, $-C(=O)-NR_{13}$ R_{14} , alkyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl được thế hoặc không được thế; và

DM có công thức cấu tạo sau:



Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IV):

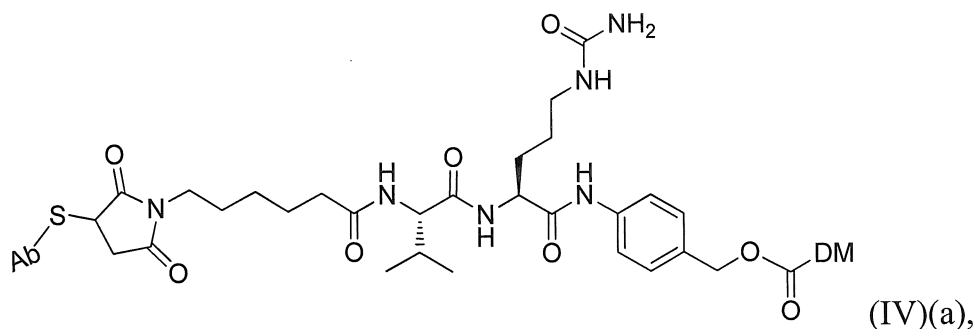
trong đó:

q là 4; và

R_1 được chọn từ nhóm bao gồm $-O-$, $-S-$, NR_4 , và $-CR_5R_6-$; và

và trong đó mỗi R_4 , R_5 , và R_6 độc lập là H hoặc alkyl.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IV) có công thức cấu tạo sau (IV)(a):



trong đó Ab là kháng thể hoặc mảnh của nó.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (V):



trong đó:

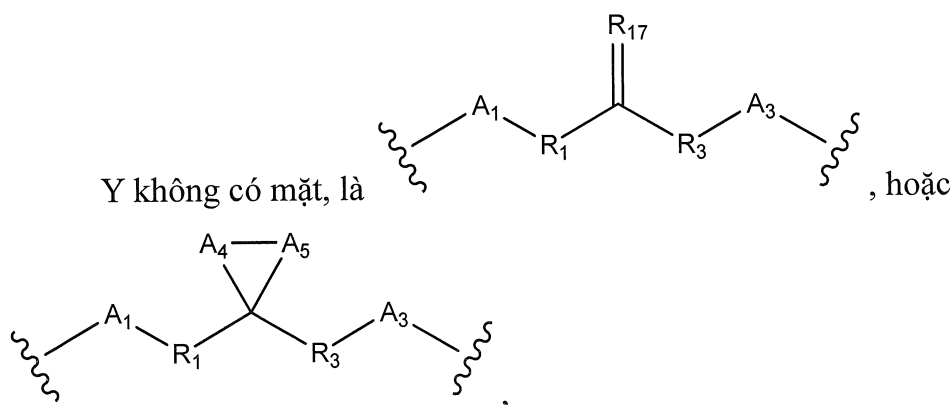
mỗi Z_2 và Z_1 độc lập là không có mặt hoặc là gốc đệm;

D là phân tử có hoạt tính sinh học;

A là axit amin có trong tự nhiên hoặc không có trong tự nhiên, hoặc peptit có chứa 2 đến 20 axit amin;

W không có mặt, là -O-, -S-, -CR₅R₆-, hoặc -NR₄-;

X không có mặt, hoặc là aryl, heteroaryl, xycloalkyl, heteroxyclyl được thế hoặc không được thế;



trong đó mỗi A_1 , A_3 , R_1 và R_3 độc lập là không có mặt, là axit amin, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, -CR₅R₆-, -O-, -C(=O)-, -O-C(=O)-, -C(=O)-O-, -O-C(=O)-O-, -C(=O)-(CH_x)_{p1}-, -C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-, -(CH_x)_{p1}-C(=O)-, -(CH_x)_{p1}-

$C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2})_{p3}-$, $-((CH_2)_{p2}-O-)_{p3}-$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-S-$, $-C(=S)-NH-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR_4-$, $-N(R_4)-C(=O)-N(R_8)-$, $-N(R_4)-C(=O)O-$, $-N(R_4)-C(=O)-$, $-C(=O)-N(R_4)-$, $-C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $-O-C(=O)-NR_4-$, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế;

mỗi A_4 và A_5 độc lập là $-O-$, $-S-$, $-NR_{18}-$, $-CR_5R_6-$;

R_{17} được chọn từ nhóm bao gồm O, S, NR_{18} , CR_5R_6 ;

R_{18} được chọn từ nhóm bao gồm H, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, và axyl, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, và axyl này tùy ý được thế;

mỗi R_4 , R_5 , R_6 và R_8 độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl được thế hoặc không được thế;

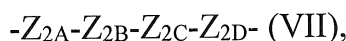
mỗi p_1 , p_2 và p_3 độc lập là 0, hoặc số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 100; và

x là 0, 1 hoặc 2.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (V),

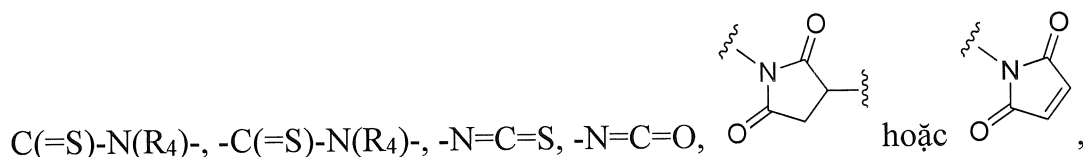
trong đó:

Z_2 có công thức (VII):



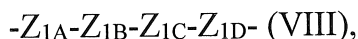
và trong đó:

mỗi Z_{2A} , Z_{2B} , Z_{2C} và Z_{2D} độc lập là không có mặt, là axit amin, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, $-CR_5R_6-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-O-C(=O)-O-$, $-C(=O)-(CH_x)_{p1}$, $-C(=O)-O-(CH_x)_{p1}$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2})_{p3}-$, $-((CH_2)_{p2}-O-)_{p3}-$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-S-$, $-C(=S)-NH-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR_4-$, $-N(R_4)-C(=O)-N(R_8)-$, $-N(R_4)-C(=O)O-$, $-N(R_4)-C(=O)-$, $-C(=O)-N(R_4)-$, $-C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $-O-C(=O)-N(R_4)$, $-O-$



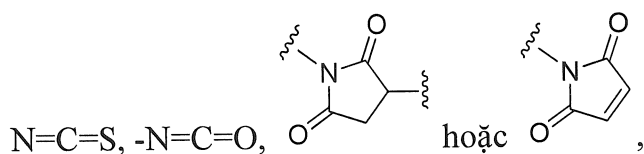
trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế và mỗi R_4 , R_5 , R_6 và R_8 độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl được thế hoặc không được thế;

Z_1 có công thức (VIII):



trong đó:

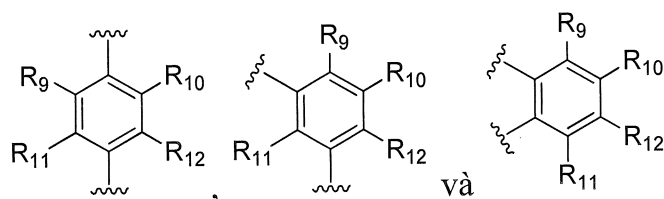
mỗi Z_{1A} , Z_{1B} , Z_{1C} và Z_{1D} độc lập là không có mặt, là axit amin, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, $-CR_5R_6-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-O-C(=O)-O-$, $-C(=O)-(CH_x)_{p1}$, $-C(=O)-O-(CH_x)_{p1}$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2})_{p3}-$, $-((CH_2)_{p2}-O-)_{p3}-$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-S-$, $-C(=S)-NH-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR_4-$, $-N(R_4)-C(=O)-N(R_8)-$, $-N(R_4)-C(=O)O-$, $-N(R_4)-C(=O)-$, $-C(=O)-N(R_4)-$, $-C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $-O-C(=O)-NR_4-$, $-$



trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế và mỗi R_4 , R_5 , R_6 , R_8 độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl được thế hoặc không được thế;

A là peptit được chọn từ nhóm bao gồm valin-xitrulin, xitrulin-valin, lysin-phenylalanin, phenylalanin-lysin, valin-asparagin, asparagin-valin, threonin-asparagin, serin-asparagin, asparagin-serin, phenylalanin-asparagin, asparagin-phenylalanin, leuxin-asparagin, asparagin-leuxin, isoleuxin-asparagin, asparagin-isoleuxin, glyxin-asparagin, asparagin-glyxin, axit glutamic-asparagin, asparagin-axit glutamic, xitrulin-asparagin, asparagin-xitrulin, alanin-asparagin, asparagin-alanin; và

X là aryl được chọn từ nhóm bao gồm:

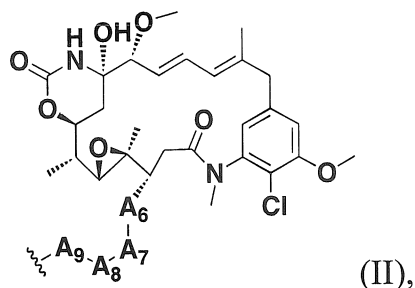


trong đó mỗi R_9 , R_{10} , R_{11} , và R_{12} độc lập là H, alkyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, halogen, $NR_{13}R_{14}$, nitro, xyano, -OH, -O-C(=O)- R_{15} , -C(=O)- R_{15} , -C(=O)-O- R_{15} , -C(=O)- $NR_{13}R_{14}$,

và trong đó, alkyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế;

mỗi R_{13} và R_{14} độc lập là H hoặc alkyl tùy ý được thế; và R_{15} là alkyl tùy ý được thế.

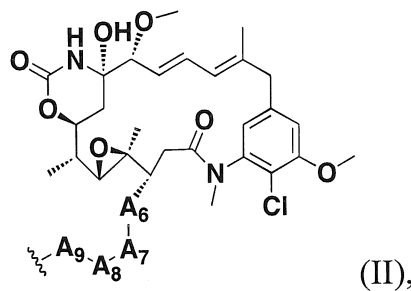
Phân tử có hoạt tính sinh học (D) có thể tùy ý là maytansinoit được thế có công thức II:



trong đó:

mỗi A_6 , A_7 , A_8 , A_9 độc lập là không có mặt, là axit amin, axit amin của N-alkyl, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkenyl, alkynyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, - CR_5R_6 -, -O-, -C(=O)-, -O-C(=O)-, -C(=O)-O-, -O-C(=O)-O-, -C(=O)-(CH_x)_{p1}-, -C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-, -(CH_x)_{p1}-C(=O)-, -(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-, -(O-(CH₂)_{p2})_{p3}-, -((CH₂)_{p2}-O)_{p3}-, -C(=S)-, -C(=S)-S-, -C(=S)-NH-, -S-C(=S)-, -S-C(=S)-S-, -S-, -SO-, -SO₂-, -NR₄-, -N(R₄)-C(=O)-N(R₈)-, -N(R₄)-C(=O)O-, -N(R₄)-C(=O)-, -C(=O)-N(R₄)-, C(=O)-N(R₄)-C(=O)-, O-C(=O)-NR₄, và trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế, và mỗi R_4 , R_5 , R_6 và R_8 độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl được thế hoặc không được thế.

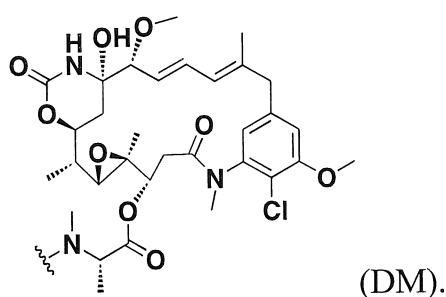
Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (V), trong đó phân tử có hoạt tính sinh học là maytansinoit tùy ý được thế có công thức cấu tạo sau:



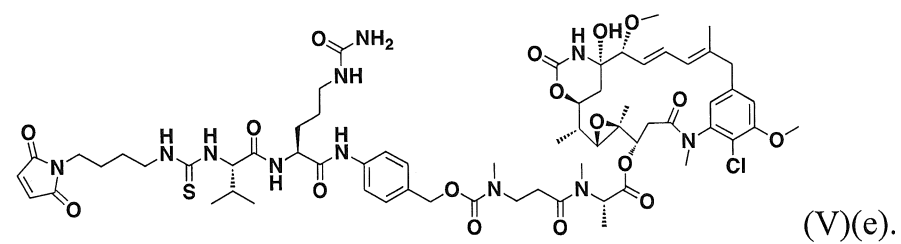
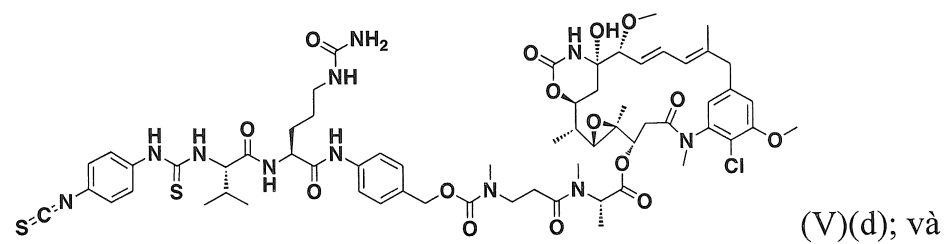
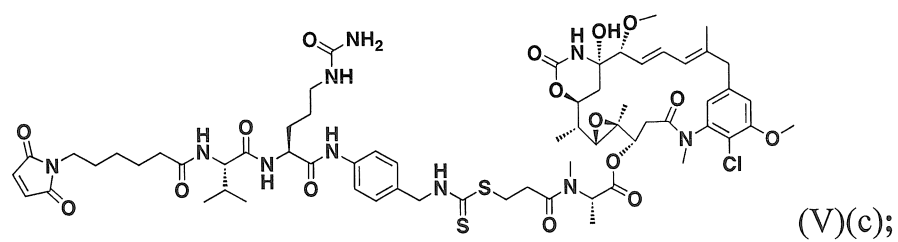
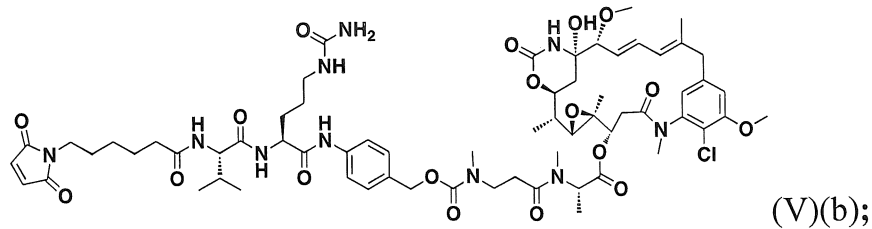
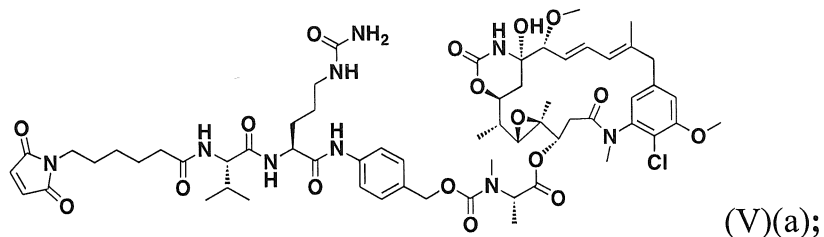
trong đó:

mỗi A_6 , A_7 , A_8 , A_9 độc lập là không có mặt, là axit amin, axit amin của N-alkyl, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkenyl, alkynyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, $-CR_5R_6-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-O-C(=O)-O-$, $-C(=O)-(CH_x)_{p1}$, $-C(=O)-O-(CH_x)_{p1}$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2}-)_{p3}-$, $-((CH_2)_{p2}-O-)_{p3}-$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-S-$, $-C(=S)-NH-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR_4-$, $-N(R_4)-C(=O)-N(R_8)-$, $-N(R_4)-C(=O)O-$, $-N(R_4)-C(=O)-$, $-C(=O)-N(R_4)-$, $C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $O-C(=O)-NR_4$, và trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế, và mỗi R_4 , R_5 , R_6 và R_8 độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl được thế hoặc không được thế.

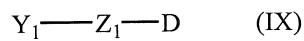
Theo một phương án khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (V), trong đó phân tử có hoạt tính sinh học là maytansinoit có công thức cấu tạo sau:



Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (V) có công thức cấu tạo sau: (V)(a), (V)(b), (V)(c), (V)(d), và (V)(e):



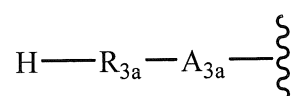
Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IX):



trong đó:

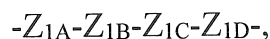
D là phân tử có hoạt tính sinh học;

Y_1 là:



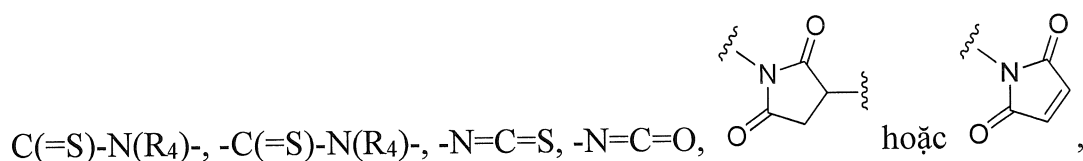
trong đó mỗi R_{3a} và A_{3a} độc lập là không có mặt, là axit amin, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, $-CR_5R_6-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-O-C(=O)-O-$, $-C(=O)-(CH_x)_{p1}-$, $-C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2}-)_{p3}-$, $-((CH_2)_{p2}-O-)_{p3}-$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-S-$, $-C(=S)-NH-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR_4-$, $-N(R_4)-C(=O)-N(R_8)-$, $-N(R_4)-C(=O)O-$, $-N(R_4)-C(=O)-$, $-C(=O)-N(R_4)-$, $-C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $-O-C(=O)-NR_4-$, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế; và

Z_1 có công thức cấu tạo sau:



trong đó:

mỗi Z_{1A} , Z_{1B} , Z_{1C} và Z_{1D} độc lập là không có mặt, là axit amin, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, $-CR_5R_6-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-O-C(=O)-O-$, $-C(=O)-(CH_x)_{p1}-$, $-C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2}-)_{p3}-$, $-((CH_2)_{p2}-O-)_{p3}-$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-S-$, $-C(=S)-NH-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR_4-$, $-N(R_4)-C(=O)-N(R_8)-$, $-N(R_4)-C(=O)O-$, $-N(R_4)-C(=O)-$, $-C(=O)-N(R_4)-$, $-C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $-O-C(=O)-N(R_4)-$, $-O-$



trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế và mỗi R_4 , R_5 , R_6 và R_8 độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, hoặc heteroxyclyl được thế hoặc không được thế.

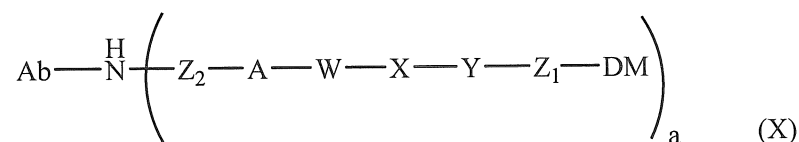
Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IX), trong đó phân tử có hoạt tính sinh học là macrolit có hoạt tính sinh học gây độc tế bào. Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IX), trong đó macrolit có hoạt tính sinh học này là maytansinoit. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất

hợp chất có công thức (IX) trong đó maytansinoit có công thức (II). Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IX), trong đó maytansinoit có công thức (II)(a).

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IX), trong đó IC₅₀ của hợp chất này lớn hơn khoảng 10nM.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IX), trong đó hợp chất này gây độc tế bào ít hơn khoảng 10 lần so với hợp chất tương ứng có công thức (I).

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (X):



trong đó:

Ab là kháng thể hoặc mảnh của nó;

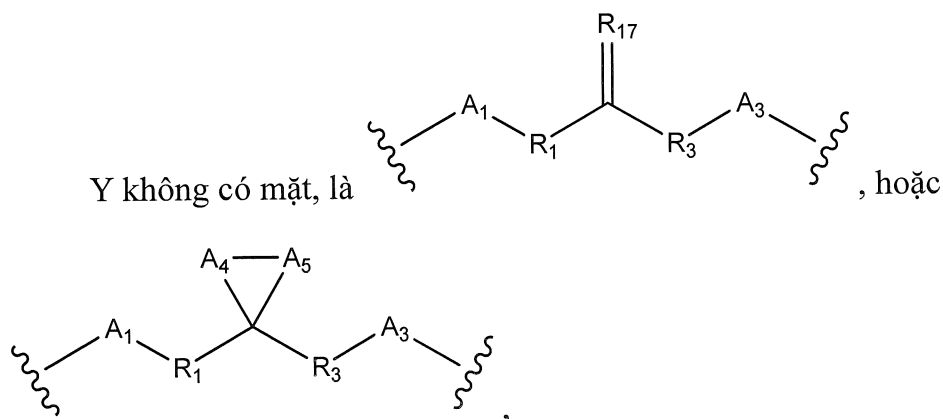
a là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 10;

mỗi Z₂ và Z₁ độc lập là không có mặt hoặc là gốc đệm;

A là axit amin có trong tự nhiên hoặc không có trong tự nhiên, hoặc peptit có chứa 2 đến 20 axit amin;

W không có mặt, là -O-, -S-, -CR₅R₆-, -NR₄-;

X không có mặt, là aryl, heteroaryl, xycloalkyl, heteroxyclyl, trong đó aryl, heteroaryl, xycloalkyl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế;



trong đó mỗi A_1 , A_3 , R_1 và R_3 độc lập là không có mặt, là axit amin, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, $-CR_5R_6-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-O-C(=O)-O-$, $-C(=O)-(CH_x)_{p1}-$, $-C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2})_{p3}-$, $-((CH_2)_{p2}-O-)_{p3}-$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-S-$, $-C(=S)-NH-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR_4-$, $-N(R_4)-C(=O)-N(R_8)-$, $-N(R_4)-C(=O)O-$, $-N(R_4)-C(=O)-$, $-C(=O)-N(R_4)-$, $-C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $-O-C(=O)-NR_4-$, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế;

mỗi A_4 và A_5 độc lập là $-O-$, $-S-$, $-NR_{18}-$, $-CR_5R_6-$;

R_{17} được chọn từ nhóm bao gồm O, S, NR_{18} , CR_5R_6 ;

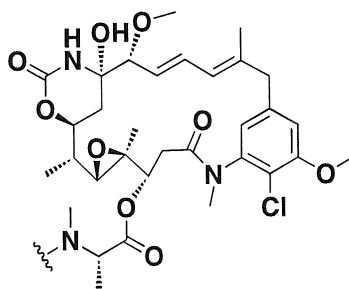
R_{18} được chọn từ nhóm bao gồm H, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, và axyl, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, và axyl này tùy ý được thế;

mỗi R_4 , R_5 , R_6 và R_8 độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, hoặc heteroxyclyl được thế hoặc không được thế;

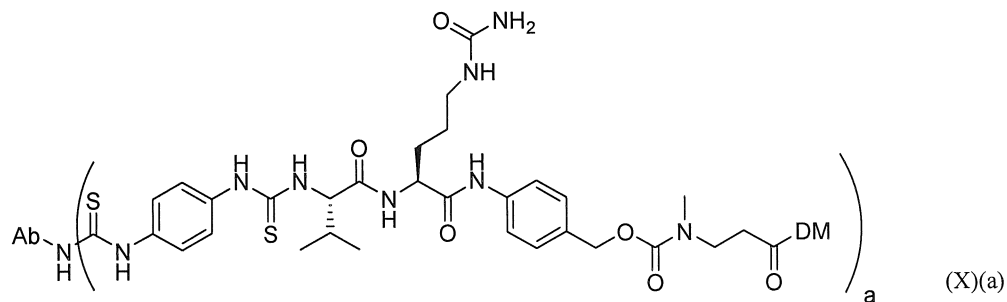
mỗi p_1 , p_2 và p_3 độc lập là 0, hoặc số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 100;

x là 0, 1 hoặc 2; và

DM có công thức cấu tạo sau:

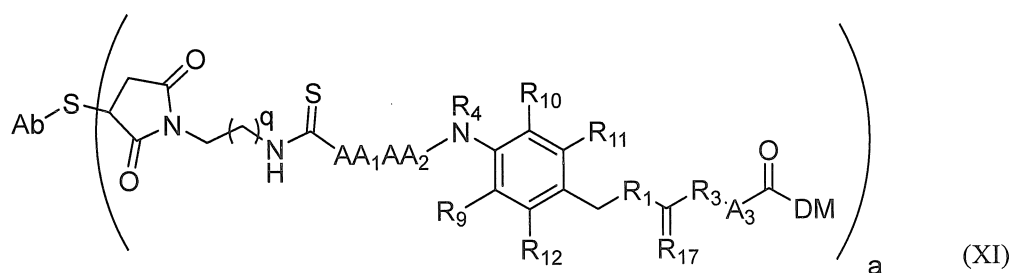


Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (X) có công thức cấu tạo (X)(a) sau:



trong đó a là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 10.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (XI):



trong đó:

Ab là kháng thể hoặc mảnh của nó;

AA₁-AA₂ là peptit được chọn từ nhóm bao gồm valin-xitrulin, xitrulin-valin, lysin-phenylalanin, phenylalanin-lysin, valin-asparagin, asparagin-valin, threonin-asparagin, serin-asparagin, asparagin-serin, phenylalanin-asparagin, asparagin-phenylalanin, leuxin-asparagin, asparagin-leuxin, isoleuxin-asparagin, asparagin-isoleuxin, glyxin-asparagin, asparagin-glyxin, axit glutamic- asparagin, asparagin-axit glutamic, xitrulin-asparagin, asparagin-xitrulin, alanin-asparagin, asparagin-alanin;

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

q là 0 hoặc số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 5;

mỗi A₃, R₁ và R₃ độc lập là không có mặt, là axit amin, peptit có 2 đến 20 axit amin, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, -CR₅R₆-, -O-, -C(=O)-, -O-C(=O)-, -C(=O)-O-, -O-C(=O)-O-, -C(=O)-(CH_x)_{p1}-, -C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-, -(CH_x)_{p1}-C(=O)-, -(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-, -(O-(CH₂)_{p2})_{p3}-, -((CH₂)_{p2}-O-) _{p3}-, -C(=S)-, -C(=S)-S-, -C(=S)-NH-, -S-C(=S)-, -S-C(=S)-S-, -S-, -SO-, -SO₂-, -NR₄-, -N(R₄)-C(=O)-N(R₈)-, -N(R₄)-C(=O)O-, -N(R₄)-C(=O)-, -

$C(=O)-N(R_4)-$, $-C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $-O-C(=O)-NR_4-$, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl này tùy ý được thế;

R_{17} được chọn từ nhóm bao gồm O, S, NR_{18} , CR_5R_6 ;

mỗi R_4 , R_5 , R_6 và R_8 độc lập là H, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl được thế hoặc không được thế;

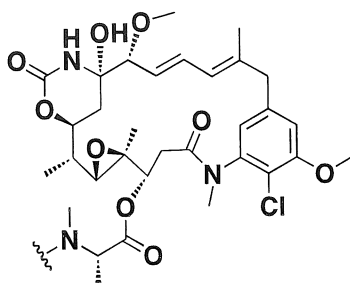
mỗi R_9 , R_{10} , R_{11} , và R_{12} độc lập là H, halogen, $NR_{13}R_{14}$, nitro, xyano, -OH, $-O-C(=O)-R_{15}$, $-C(=O)-R_{15}$, $-C(=O)-O-R_{15}$, $-C(=O)-NR_{13}$ R_{14} , alkyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxyclyl được thế hoặc không được thế;

mỗi R_{13} và R_{14} độc lập là H hoặc alkyl tùy ý được thế; và R_{15} là alkyl tùy ý được thế;

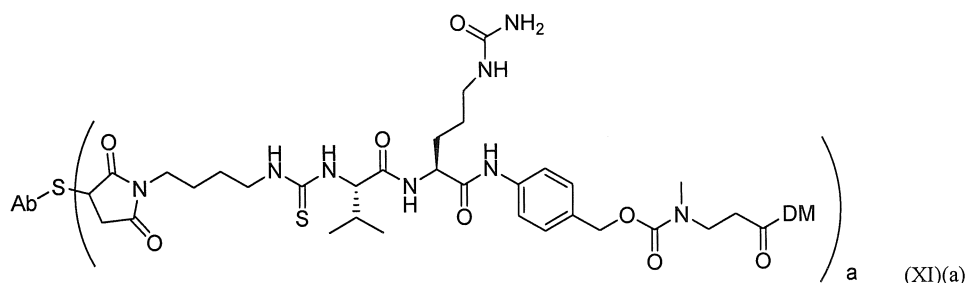
mỗi p_1 , p_2 và p_3 độc lập là 0, hoặc số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 100;

x là 0, 1 hoặc 2; và

DM có công thức cấu tạo sau:



Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (XI) có công thức cấu tạo (XI)(a) sau:



trong đó a là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 10.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), (III), (IV) (V), và (X), trong đó A là peptit phân tách được bằng proteaza.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (XI), trong đó peptit phân tách được bằng proteaza.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), (III), (IV) (V), và (X), trong đó A là peptit phân tách được bằng proteaza được biểu hiện trong mô khối u.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (XI), trong đó peptit phân tách được bằng proteaza được biểu hiện trong mô khối u.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), (III), (IV) (V), (X), trong đó A là peptit phân tách được bằng proteaza, và trong đó proteaza này là cathepsin hoặc plasmin.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (XI), trong đó peptit phân tách được bằng proteaza, và trong đó proteaza này là cathepsin hoặc plasmin.

Chế phẩm

Các phương án nêu trong bản mô tả bao gồm chế phẩm chứa hợp chất tiếp hợp có công thức (I), (III), (IV), (V), (X), hoặc (XI) cũng như các hỗn hợp của chúng. Theo một số khía cạnh, hợp chất nêu trên còn được thể hiện bằng hợp chất có công thức (III)(a), (III)(b), (IV)(a), (V)(a), (V)(b), (V)(c), (V)(d) (V)(e), (X)(a), hoặc (XI)(a).

Các phương án nêu trong bản mô tả bao gồm chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I), (III), (IV), (V), (IX), (X), hoặc (XI) cũng như hỗn hợp của chúng.

Chế phẩm có thể là dược phẩm còn chứa một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng, và/hoặc tá dược được dụng. Theo một số khía cạnh, dược phẩm nêu trên là muối được dụng của hợp chất có công thức (I), (III), (IV), (V), (IX), (X), hoặc (XI) hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một số khía cạnh, dược phẩm này là muối được dụng của hợp chất có công thức (I), (III), (IV), (V), (IX), (X), hoặc (XI) hoặc hỗn hợp của chúng.

Các chất mang, chất pha loãng và tá dược được dụng thích hợp đã được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này và có thể được xác định bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này dưới dạng chứng nhận tình trạng lâm sàng. Các ví dụ về chất mang, chất pha loãng và tá dược thích hợp bao gồm: dung dịch đệm để duy trì độ pH

thích hợp của chế phẩm (ví dụ, dung dịch đậm xitrat, dung dịch đậm succinat, dung dịch đậm axetat, dung dịch đậm phosphat, dung dịch đậm lactat, dung dịch đậm oxalat và dung dịch đậm tương tự), protein mang (ví dụ, albumin huyết thanh ở người), nước muối, rượu polyhydric (ví dụ, trehaloza, sucroza, xylitol, sorbitol, và dạng tương tự), chất hoạt động bề mặt (ví dụ, polysorbat 20, polysorbat 80, polyoxolat, và dạng tương tự), chất kháng khuẩn, và chất chống oxy hóa.

Nếu muốn, dược phẩm nêu trong bản mô tả có thể bao gồm chất dùng để điều trị bệnh thứ hai hoặc nhiều chất dùng để điều trị bệnh (ví dụ, tá dược dùng cho hợp chất tiếp hợp có công thức (I), (III), (IV), (X), và/hoặc (XI), chất kháng khối u, chất kháng sinh, chất chống viêm, và chất tương tự). Chất dùng để điều trị bệnh thứ hai có thể được chứa trong cùng một chế phẩm ở dạng hợp chất có công thức (I), (III), (IV), (V), (IX), (X), và/hoặc (XI), hoặc có thể được sử dụng riêng rẽ với hợp chất có công thức (I), (III), (IV), (V), (IX), (X), và/hoặc (XI) (theo thời gian, hoặc dạng và vị trí sử dụng).

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực phân tử có hoạt tính sinh học sẽ hiểu rằng mỗi hợp chất có công thức (I), (III), (IV), (V), (IX), (X), và/hoặc (XI) có thể được cải biến theo cách mà hợp chất thu được vẫn giữ được tính đặc hiệu và/hoặc hoạt tính tương tự như hợp chất ban đầu. Về vấn đề này, phân tử có hoạt tính sinh học (D) của hợp chất có công thức (I), (III), (IV), (V), (IX), (X), và/hoặc (XI) có thể bao gồm phân tử có hoạt tính sinh học bất kỳ và tất cả các chất tương tự và dẫn xuất của phân tử có hoạt tính sinh học. Theo một phương án, phân tử có hoạt tính sinh học là macrolit và còn là maytansin hoặc chất tương tự maytansin như được mô tả trong Widdison et al., J. Med. Chem., 2006, 49 (14), 4392-4408.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh của hợp chất có công thức (I), (III), (IV), (X), (XI) bao gồm (III)(a), (III)(b) (IV)(a), (X)(a), và (XI)(a), hoặc muối được dụng của nó và một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược được dụng.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh của hợp chất có công thức (I), (III), (IV), (V), (IX), (X), (XI) bao gồm (III)(a), (III)(b) (IV)(a), (V)(a), (V)(b), (V)(c), (V)(d), và (V)(e), (X)(a), và (XI)(a),

hoặc muối được dụng của nó và một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng, hoặc tá được dụng dụng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh của hợp chất có công thức (V) bao gồm (V)(a), (V)(b), (V)(c), (V)(d), và (V)(e), hoặc muối được dụng của nó và một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng, hoặc tá được dụng dụng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh của hợp chất có công thức (IX), hoặc muối được dụng của nó và một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng, hoặc tá được dụng dụng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh của hợp chất có công thức (V) và (IX) bao gồm (V)(a), (V)(b), (V)(c), (V)(d), và (V)(e), hoặc muối được dụng của nó và một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng, hoặc tá được dụng dụng.

Phương pháp sử dụng

Như được mô tả ở trên, hợp chất tiếp hợp có công thức (I), (III), (IV), (X), và (XI) có thể được sản xuất bằng các nhóm chức khác nhau sao cho phối tử (L) gắn với hợp chất liên kết và nhờ đó phân tử có hoạt tính sinh học tạo thành hợp chất tiếp hợp cộng hóa trị. Phối tử hướng đích đặc hiệu hợp chất tiếp hợp với hợp chất liên kết kèm theo phối tử, thường là polypeptit hoặc hợp chất khác giống kháng nguyên. Theo một phương án điển hình, hợp chất tiếp hợp được thiết kế bao gồm phối tử có hợp chất liên kết kèm theo được phát hiện trên tế bào trải qua sự sinh trưởng của tế bào bất thường hoặc tế bào có liên quan đến rối loạn tăng sinh. Ngạc nhiên là, hợp chất tiếp hợp có công thức (I), (III), (IV), (X), và (XI) đã được thiết kế sao cho mỗi hợp chất liên kết của hợp chất được dị hóa bên trong tế bào mà được liên kết bởi hợp chất tiếp hợp. Như vậy, việc phân phối phân tử có hoạt tính sinh học thông qua hợp chất tiếp hợp theo các phương án nêu trong bản mô tả cho phép phân phối phân tử có hoạt tính sinh học mà thường là quá độc để sử dụng theo cách thông thường. Các phương án nêu trong bản mô tả cho phép sự phân phối có tính chọn lọc và đặc hiệu cao các phân tử này đến tế bào trải qua sự sinh trưởng của tế bào bất thường hoặc tế bào liên quan đến rối loạn

tăng sinh (so với sự dị hóa bên ngoài tế bào, chẳng hạn nhờ đó giải phóng hợp chất hoạt tính sinh học vào máu hoặc hệ bạch huyết).

Như có thể được hình dung bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, hợp chất tiếp hợp cộng hóa trị được nêu trong bản mô tả cũng có thể được sử dụng để phân phối loại phân tử có hoạt tính sinh học hữu ích bất kỳ và có thể được hướng đích chọn lọc đến loại quần thể tế bào bất kỳ, ví dụ, hợp chất tiếp hợp có thể được sử dụng để phân phối thuốc chống tăng sinh vào tế bào trải qua sự sinh trưởng bất thường hoặc thuốc kháng virus vào tế bào bị nhiễm virus, với điều kiện là phối tử được chọn nhận diện được hợp chất liên kết kèm theo tế bào thích hợp.

Về vấn đề này, phương pháp sử dụng được đề xuất đối với các phương án về hợp chất tiếp hợp được nêu trong bản mô tả.

Dược phẩm được nêu trong bản mô tả hữu ích để ức chế, làm chậm và/hoặc ngăn chặn sự sinh trưởng của tế bào bất thường hoặc để điều trị các rối loạn tăng sinh khác nhau hoặc các tình trạng bệnh ở động vật có vú. Theo một phương án điển hình, động vật có vú là người (các phương án được nêu trong bản mô tả sẽ được mô tả liên quan đến người). Động vật có vú khác bao gồm động vật có vú bất kỳ mà có thể mắc rối loạn tăng sinh phát hiện được, bao gồm, động vật linh trưởng, chó, mèo, ngựa, dê, cừu, gia súc, lạc đà, và động vật tương tự. Ngoài ra, nên hiểu rằng hợp chất tiếp hợp của dược phẩm được thiết kế để hướng đích chọn lọc đến các tế bào trải qua sự sinh trưởng của tế bào bất thường hoặc để điều trị các rối loạn tăng sinh hoặc tình trạng bệnh khác nhau được nêu trong bản mô tả.

Như vậy, các phương án trong bản mô tả bao gồm phương pháp ức chế sự sinh trưởng của tế bào bất thường hoặc điều trị rối loạn tăng sinh ở người bao gồm bước cho người này sử dụng một lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh của dược phẩm được nêu trong bản mô tả.

Việc sử dụng một lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh của dược phẩm được nêu trong bản mô tả có thể được tác dụng theo các cách khác nhau, ví dụ, bằng cách dùng trong tĩnh mạch, trong bụng, dưới da, trong cơ, khu trú, trong da, trong mũi, hoặc trong phế quản. Dược phẩm nêu trong bản mô tả cũng có thể được sử dụng trực tiếp vào vị trí sinh trưởng của tế bào bất thường (tiếp xúc trực tiếp hoặc gián tiếp với sự

sinh trưởng của tế bào bất thường), ví dụ bằng cách phân phối bằng súng bắn hạt (ví dụ phân phối bằng súng bắn hạt chứa được phẩm nhuộm trong bản mô tả vào khối u ở phổi hoặc não). Chế độ liều lượng để sử dụng được phẩm nhuộm trong bản mô tả sẽ được xác định bởi chuyên gia chăm sóc sức khỏe hoặc người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này cũng như dựa trên cơ sở tình trạng lâm sàng cụ thể. Như đã được biết rõ trong lĩnh vực y học, liều lượng cho một người bất kỳ, tức là, bệnh nhân, phụ thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm, kích thước của bệnh nhân, diện tích bề mặt cơ thể của bệnh nhân, độ tuổi của bệnh nhân và sức khỏe chung, giới tính của bệnh nhân, thời điểm và đường dùng, và sự có mặt của chất dùng để điều trị bệnh thứ hai. Trong một số trường hợp, hợp chất tiếp hợp có công thức (I), (III), (IV), (X), và/hoặc (XI) có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 1 μ g đến 100mg/kg thể trọng trên mỗi liều (lưu ý rằng nếu việc truyền liên tục được xem là đường dùng, thì một lượng nhỏ bằng 1pg/kg thể trọng trong mỗi phút có thể được xem xét). Dược phẩm có thể được sử dụng một hoặc nhiều lần trong ngày và trong khoảng thời gian nhiều ngày, tuần, tháng, hoặc năm.

Việc điều trị rối loạn hoặc bệnh tăng sinh, ví dụ, khối u, bao gồm phương pháp làm giảm kích thước của khối u, gây hoại tử hoặc gây chết tế bào theo chương trình trong khối u, tiêu diệt khối u, ngăn chặn sự tăng kích thước của khối u và/hoặc ngăn chặn sự xâm nhập hoặc di căn của khối u.

Các ví dụ về tình trạng bệnh lý y học mà có thể được điều trị theo các phương pháp ức chế sự sinh trưởng của tế bào bất thường, hoặc điều trị rối loạn tăng sinh bao gồm: khối u ác tính thuộc dạng bất kỳ, ví dụ, bệnh ung thư phổi, ruột kết, tuyến tiền liệt, thận, tuyến tụy, gan, buồng trứng, da, u lympho, bệnh bạch cầu và bệnh tương tự; các bệnh tự miễn, ví dụ, bệnh luput ban đỏ hệ thống, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh đa xơ cứng; bệnh nhiễm virus, ví dụ, bệnh lây nhiễm CMV, bệnh lây nhiễm HIV, bệnh AIDS, bệnh viêm gan, bệnh lây nhiễm HPV; cơn đau; các rối loạn thần kinh; và các bệnh viêm.

Như được lưu ý ở trên, dược phẩm được nêu trong bản mô tả cũng hữu ích để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh nhiễm virus, chứng đau, chứng viêm, bệnh tự miễn, và bệnh tương tự ở động vật có vú.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp làm giảm, làm chậm hoặc làm ngừng sự sinh trưởng của tế bào bất thường bao gồm bước cho tế bào bất thường này tiếp xúc với hợp chất có công thức (I), (III) (IV), (X), và/hoặc (XI) với lượng đủ để làm chậm, làm giảm hoặc làm ngừng sự sinh trưởng của tế bào bất thường, và trong đó sự sinh trưởng của tế bào bất thường được làm chậm, làm giảm hoặc làm ngừng lại.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp diệt tế bào, bao gồm bước cho tế bào này tiếp xúc với hợp chất có công thức (I), (III), (IV), (X), và/hoặc (XI) với lượng đủ để tiêu diệt tế bào này, và trong đó tế bào này bị tiêu diệt.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp diệt tế bào, bao gồm bước cho tế bào này tiếp xúc với hợp chất có công thức (I), (III), (IV), (X), và/hoặc (XI) với lượng đủ để tiêu diệt tế bào này, và trong đó tế bào này bị tiêu diệt và và trong đó tế bào này là tế bào khối u.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị rối loạn y học ở cá thể mắc rối loạn y học, bao gồm bước cho cá thể này sử dụng một lượng hữu hiệu của chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I), (III), (IV), (X), và/hoặc (XI).

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị rối loạn y học ở cá thể mắc rối loạn y học, bao gồm bước cho cá thể này sử dụng một lượng hữu hiệu của chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I), (III), (IV), (V), (IX), (X), và/hoặc (XI).

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị rối loạn y học ở cá thể mắc rối loạn y học bao gồm bước cho cá thể này sử dụng một lượng hữu hiệu của chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I), (III), (IV), (X), và/hoặc (XI) và còn bao gồm bước sử dụng tuần tự hoặc liên tiếp phương pháp điều trị bệnh bổ sung.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp, trong đó phương pháp điều trị bệnh bổ sung là phương pháp xạ trị, phương pháp hóa trị, hoặc kết hợp cả hai phương pháp này.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị rối loạn y học ở cá thể mắc rối loạn y học bao gồm bước cho cá thể này sử dụng một lượng hữu hiệu của chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I), (III), (IV), (X), và/hoặc (XI) và còn bao

gồm bước sử dụng tuần tự hoặc liên tiếp phương pháp điều trị bệnh bổ sung và sử dụng ít nhất một chất dùng để điều trị bệnh bổ sung.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị rối loạn y học ở cá thể mắc rối loạn y học bao gồm bước cho cá thể này sử dụng một lượng hữu hiệu của chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I), (III), (IV), (X), và/hoặc (XI) và còn bao gồm bước sử dụng tuần tự hoặc liên tiếp phương pháp điều trị bệnh bổ sung hoặc dùng ít nhất một chất dùng để điều trị bệnh bổ sung.

Theo một khía cạnh, rối loạn y học được điều trị được chọn từ khối u, bệnh ung thư, bệnh lây nhiễm, bệnh thoái hóa thần kinh, rối loạn xương, và bệnh tim mạch.

Các phương án được nêu trong bản mô tả còn đề xuất phương pháp điều chế hợp chất có công thức (I) từ tiền chất hoặc khối kiến trúc hợp chất có công thức (V). Theo một số khía cạnh hợp chất có công thức (V) cũng có thể được sử dụng trong ứng dụng điều trị bệnh trong đó hợp chất có công thức (V) là dược phẩm. Theo một số khía cạnh, hợp chất có công thức (V) có thể được chứa trong chế phẩm hoặc dược phẩm bất kỳ chứa hợp chất (I), (III), (IV), (IX), (X), và/hoặc (XI).

Cuối cùng, các phương án được nêu trong bản mô tả có thể bao gồm hỗn hợp của các hợp chất có công thức (I), (III), (IV), (V), (IX), (X), và/hoặc (XI).

Sản xuất hợp chất tiếp hợp

Hợp chất tiếp hợp phối tử-phân tử có hoạt tính sinh học có thể được tạo ra bằng kỹ thuật bất kỳ đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này. Hợp chất tiếp hợp phối tử-phân tử có hoạt tính sinh học chứa đơn vị phối tử, phân tử có hoạt tính sinh học, và tùy ý hợp chất liên kết mà gắn phân tử có hoạt tính sinh học và phối tử. Việc gắn cộng hóa trị phân tử có hoạt tính sinh học và/hoặc hợp chất liên kết với phối tử có thể được hoàn thành bằng cách sử dụng các phản ứng khác nhau sử dụng các gốc axit amin của phối tử, ví dụ, kháng thể, bao gồm các nhóm amin của lysin, nhóm axit carboxylic tự do của axit glutamic và axit aspartic, nhóm sulfhydryl của xystein và các gốc khác nhau của axit amin thơm.

Hơn nữa, hợp chất tiếp hợp theo các phương án khác nhau được nêu trong bản mô tả có thể được điều chế bằng phương pháp đã biết bất kỳ trong lĩnh vực kỹ thuật

này. Quy trình chuẩn nêu làm ví dụ để sản xuất hợp chất tiếp hợp được đề xuất trong các ví dụ dưới đây. Tuy nhiên, các phương pháp đã biết khác có thể được sử dụng, gồm, ví dụ, các quy trình chuẩn được mô tả trong WO 2009/134977, patent Mỹ số 7,811,572 và patent Mỹ số 6,441,163, với điều kiện là các quy trình chuẩn này được sử dụng để điều chế hợp chất như được nêu trong bản mô tả. Các tài liệu tham khảo được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Theo một phương án, hợp chất tiếp hợp có thể được điều chế bằng cách i) cho phối tử phản ứng với hợp chất liên kết để tạo ra hợp chất phối tử-hợp chất liên kết được cải biến; ii) tùy ý tinh chế hợp chất phối tử-hợp chất liên kết; iii) tiếp hợp phân tử có hoạt tính sinh học, ví dụ, macrolit, với phối tử-hợp chất liên kết để tạo ra hợp chất tiếp hợp có công thức (I), (III), (IV), (X), hoặc (XI); và iv) tinh chế hợp chất tiếp hợp.

Theo một phương án khác, hợp chất tiếp hợp có thể được điều chế bằng cách cho phân tử có hoạt tính sinh học phản ứng với thành phần thứ nhất của hợp chất liên kết (Z_1), sau đó là các phản ứng liên tiếp để tạo thành hợp chất liên kết, bao gồm việc bổ sung Y, X, W, A và Z_2 , hoặc hỗn hợp bất kỳ của chúng.

Theo một phương án thay thế, hợp chất tiếp hợp được điều chế bằng cách cho phối tử, hợp chất liên kết và macrolit có hoạt tính sinh học phản ứng trong một phản ứng duy nhất. Khi hợp chất tiếp hợp theo sáng chế được điều chế, chúng có thể được tinh chế.

Nhận biết tính gây độc tế bào của hợp chất tiếp hợp

Theo một phương án, hợp chất tiếp hợp được nêu trong bản mô tả có thể được đánh giá về khả năng ức chế sự tăng sinh của các dòng tế bào ung thư khác nhau *in vitro* của chúng. Thử nghiệm về tính gây độc tế bào *in vitro* có thể được tiến hành bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này (xem Widdison et al., J. Med. Chem., 2006, 49(14), 4392-408) và như được minh họa trong Ví dụ 7 nêu trong bản mô tả. Ví dụ, hợp chất tiếp hợp có thể được áp dụng vào tế bào ung thư được dàn trên đĩa *in vitro* trong số ngày được xác định trước và các tế bào sống sót được xác định trong thử nghiệm bằng các phương pháp đã biết. Các đối chứng thích hợp có thể được sử dụng để đảm bảo tính hợp lệ của các kết quả như có thể là các trị số IC_{50} .

Các ví dụ về tính hiệu nghiệm *in vitro* của hợp chất tiếp hợp nêu trong bản mô tả có thể được quan sát thấy trên Fig. 1 và Fig. 2. Tính hiệu quả *in vivo* bổ sung có thể được sử dụng để xác nhận tính hiệu nghiệm của hợp chất tiếp hợp được đề xuất - ví dụ, bằng cách sử dụng mô hình chuột trụi lông.

Bản mô tả, ví dụ và dữ liệu nêu trên cung cấp phần mô tả hoàn chỉnh về phương pháp sản xuất và sử dụng chế phẩm theo sáng chế. Do nhiều phương án theo sáng chế có thể được thực hiện mà không tách rời khỏi phạm vi của sáng chế, sáng chế tập trung vào các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo sau đây.

Tất cả các tài liệu tham khảo nêu trong bản mô tả và trong các ví dụ sau được đưa vào bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Phần mô tả và các ví dụ được thể hiện dưới đây được đề xuất để minh họa sáng chế. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này sẽ nhận ra rằng các ví dụ này được đề xuất chỉ để minh họa và không làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Chi tiết thử nghiệm

Phổ NMR proton (đối với hợp chất mà không thể được phát hiện bởi UV) đạt được trên thiết bị Varian Inova 300 MHz, trong khi phổ khối được thu gom trên Agilent 1100 số lô sản xuất LC/MSD với nguồn ion hóa phun điện tử và máy phân tích bẫy ion ba tứ cực. Các hợp chất tiếp hợp thích hợp được phân tích bằng cách sử dụng phổ khối Bruker ultraFleXtreme MALDI-TOF-TOF. Tất cả các nguyên liệu và dung môi được mua trên thị trường và được sử dụng mà không cần tinh chế, trừ khi có quy định khác.

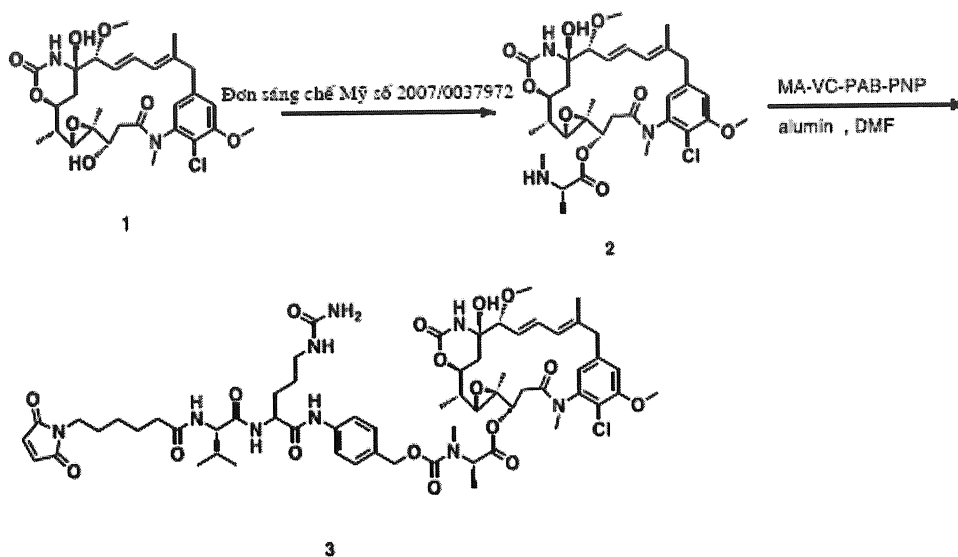
Ví dụ 1

Bước 1: Maytansin-3-N-metyl-L-alanin (2)

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế ở dạng chất rắn màu vàng từ maytansinol (1) bằng cách sử dụng các phương pháp được mô tả trong đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2007/0037972 A1. MS (ESI, dương): tính toán đối với $C_{32}H_{44}ClN_3O_9$, 649,3; phát hiện 650,6 (M+H).

Bước 2: Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin-N-[4-(amino-xitruilin-valin-hexanamit-6-maleimidyl)benzyl]carbamate (3):

Sản phẩm của bước trước đó (2, 0,020g, 0,031mmol) và p-NO₂-Ph-carbonato-Bn-Cit-Val-maleimit (MA-VC-PAB-PNP, 0,027g, 0,037mmol; Concortis Biosystems) được hòa tan trong N,N-dimetylformamit (DMF, khoảng 0,25mL) trong lọ hình nón, được xử lý bằng alumin bazơ Brockmann I (0,10 g), lọ này được thổi khí argon, và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 4 ngày. Sau đó, hỗn hợp được lọc, chất rắn được rửa bằng axetonitril/nước, và dịch lọc được tinh chế trực tiếp trên cột 5u, 30x150mm Phenomenex Gemini C18 qua HPLC (30 - 90% axetonitril trong nước, 0,1% TFA trong cả hai, trong thời gian 25 phút, 15mL/phút). Làm khô lạnh các phân đoạn tinh khiết nhất qua đêm để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu vàng nhạt (0,021g, 55%). MS (ESI, dương): được tính toán đối với C₆₁H₈₂ClN₉O₁₇, 1247,6; phát hiện 1248,8 (M+H), 1270,7 (M+Na), 1231,5 (M-H₂O+H).



Ví dụ 2

Bước 1: Este của N-tert-Butoxycarbonyl-beta-alanin succinat (4)

Điều chế hợp chất nêu ở đề mục từ Boc-β-alanin bán trên thị trường bằng phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này (xem Widdison et al., J. Med. Chem., 2006, 49 (14), 4401). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 3,62 (bm, 2H), 2,88 (m, 9H), 1,47 (s, 9H).

Bước 2: Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin-Boc- β -Ala (5)

Sản phẩm của bước trước đó (4, 0,45g, 1,51mmol) và maytansin-3-N-metyl-L-alanin (2, 0,30g, 0,23mmol) được hòa tan trong 3:1 axetonitril:nước (8mL), được xử lý bằng 1M NaHCO₃ trong nước (0,5mL), và được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 18 giờ. Khi phản ứng kết thúc bằng TLC, hỗn hợp được khuấy với nước muối sau đó trong thời gian 10 phút và được chiết ba lần bằng etyl axetat (EtOAc). Lớp hữu cơ liên kết được sấy khô trên Na₂SO₄, lọc, và dịch lọc được cô và làm khô *in vacuo* để thu được si-rô màu vàng mà được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh trên hộp 20g silicagel (0 - 10% MeOH trong EtOAc trên 15 phút) để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (0,084g, 43%). MS (ESI, dương): được tính toán đối với C₄₁H₅₉ClN₄O₁₂, 834,4; phát hiện 835,2 (M+H), 857,2 (M+Na), 817,4 (M-H₂O+H).

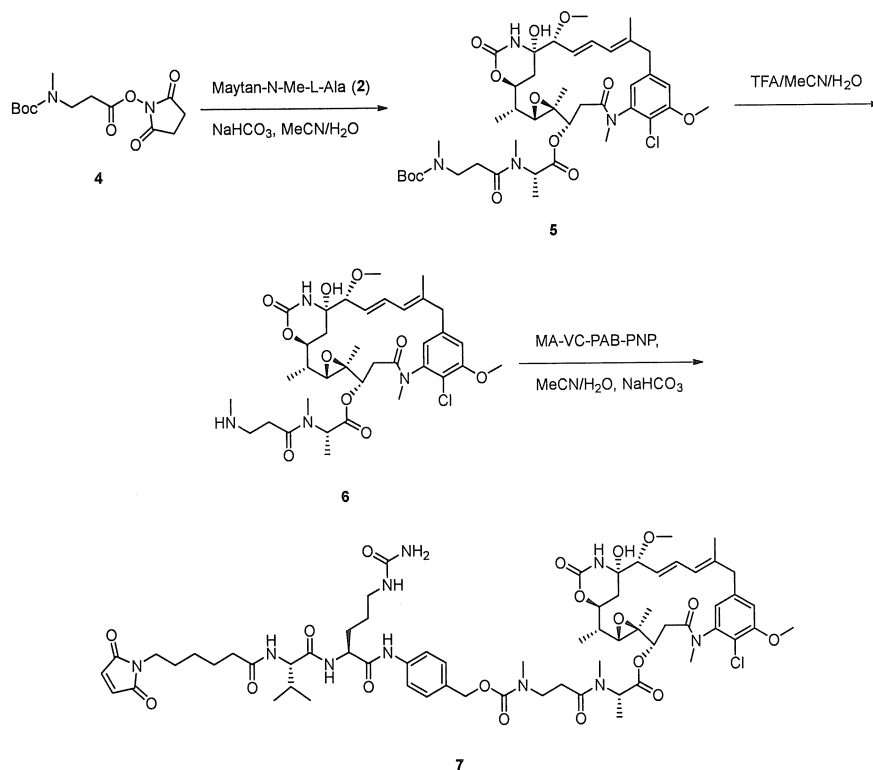
Bước 3: Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin- β -Ala (6)

Sản phẩm của bước trước đó (5, 0,080g, 0,095mmol) được hòa tan trong hỗn hợp 3:1:1 của axetonitril/nước/axit trifloaxetic (4mL) và được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 26 giờ. Hỗn hợp phản ứng thô được bơm trực tiếp lên trên 40g cột silicagel C18 và được rửa rửa giải trong ISCO CombiFlash (10 - 90% axetonitril trong nước, 0,1% TFA trong mỗi dung môi, trong 18 phút, 40mL/phút), và các phân đoạn tinh khiết đã kết hợp được làm khô lạnh để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu vàng nhạt (0,025g, 31%). MS (ESI, dương): được tính toán đối với C₃₆H₅₁ClN₄O₁₀, 734,3; phát hiện 735,5 (M+H).

Bước 4: Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin-propanamidyl-3-N-metyl-N-[4-(aminoxitrulin-valin-hexanamit-6-maleimidyl)benzyl]carbamate (7)

Sản phẩm của bước trước đó (6, 0,014g, 0,019mmol) và MA-VC-PAB-PNP (0,020g, 0,027mmol; Concortis Biosystems) được hòa tan trong 4:1 axetonitril/nước (2,5mL), được xử lý bằng 0,1M NaHCO₃ trong nước (0,5mL), và được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được tinh chế trực tiếp bằng phương pháp sắc ký pha đảo trên silica C18 (bằng cách sử dụng 0,1% TFA trong gradien axetonitril/nước). Phân đoạn cột cuối cùng được làm khô lạnh để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (0,002g, 8%). MS (ESI, dương):

được tính toán đối với $C_{65}H_{89}ClN_{10}O_{18}$, 1332,6; phát hiện 1333,9 (M+H), 1316,5 (M-H₂O+H), 1355,9 (M+Na).



Ví dụ 3

Bước 1: Succinat este của axit 3-metyldithio-propionic (8)

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế ở dạng chất rắn màu trắng từ axit 3-mercaptopropionic bằng cách sử dụng các phương pháp của Widdison et al. J. Med. Chem., 2006, 49 (14), 4392-4408. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 3,09 (m, 2H), 3,01 (m, 2H), 2,86 (s, 4H), 2,44 (s, 3H).

Bước 2: Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin-propanamidyl-3-metyldisulfua (9)

Sản phẩm của bước trước đó (8, 2,96g, 11,9mmol) và maytansin-3-N-metyl-L-alanin (2, 1,54g, 2,37mmol) được hòa tan trong 4:1 axetonitril/nước (25mL), được xử lý bằng $NaHCO_3$ bão hòa trong nước (2mL), và khuấy ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 24 giờ. Hỗn hợp phản ứng được xử lý bằng nước muối, được chiết ba lần bằng EtOAc, lớp chứa nước được bão hòa với NaCl, được chiết lại bằng EtOAc, và lớp hữu cơ liên kết được làm khô trên Na_2SO_4 , và được lọc. Cô dịch lọc *in vacuo* để thu được si-rô màu vàng (khoảng 4,5g) được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột

nhanh trên hộp silicagel 80g (0 - 100% EtOAc trong hexan trong 30 phút) tạo ra hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (1,14g, 61%). MS (ESI, dương): được tính toán đối với $C_{36}H_{50}ClN_3O_{10}S_2$, 783,3; phát hiện 784,3 (M+H), 766,6 (M-H₂O+H).

Bước 3: Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin-propanamit-3-thiol (10)

Điều chế hợp chất nêu ở đề mục bằng cách sử dụng phiên bản được cải biến của phương pháp được mô tả bởi Whitesides et al. (J. Org. Chem., 1991, 56, 2648-2650). Sản phẩm của bước trước đó (9, 2,42g, 3,09mmol) được hòa tan trong axetonitril (30mL), được xử lý bằng dung dịch chứa tris(2-carboxyetyl)phosphin hydroclorua (8,23g, 28,7mmol) trong nước (30mL), làm tăng độ pH đến 3 bằng cách bổ sung NaHCO₃ bão hòa trong nước (5mL) vào, bình được thổi khí Ar, và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ môi trường dưới vách ngăn cao su (được thông do sự tách khí mạnh). Sau thời gian 2 giờ, xử lý phản ứng bằng nước muối (khoảng 100mL), tạo bọt với Ar trong thời gian 5 phút (để loại bỏ methylmercaptan tự do), và tách các pha. Chiết pha nước hai lần bằng EtOAc, bão hòa với NaCl, và chiết hai lần nữa bằng EtOAc. Sau đó làm khô các lớp hữu cơ đã được kết hợp trên Na₂SO₄, lọc, và cô dịch lọc và làm khô *in vacuo* để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (2,24g, 98%). MS (ESI, dương): được tính toán đối với $C_{35}H_{48}ClN_3O_{10}S$, 737,3; phát hiện 738,3 (M+H), 720,3 (M-H₂O+H).

Bước 4: 4-Amino-(N-benzyloxycarbonyl)benzylamin (14)

4-Aminobenzylamin (1,00g, 8,18mmol) và triethylamin (1,20 mL, 8,61mmol) được hòa tan trong tetrahydrofuran khan (THF, 10mL) trong điều kiện khí N₂, được làm mát trong nước muối/bể đá có khuấy, và được xử lý từng giọt trong thời gian 20 phút bằng dung dịch chứa benzyl cloformat (1,20mL, 8,41mmol) trong THF khan (10mL). Sau khi kết thúc việc bổ sung, loại bỏ bể đá và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 20 giờ, sau đó lọc trên phễu thủy tinh được nung kết để loại bỏ các chất không hòa tan. Rửa các chất rắn bằng EtOAc, làm bay hơi dịch lọc *in vacuo*, và tinh chế phân căn bằng phương pháp sắc ký cột nhanh trên cột silicagel 40g (0 - 100% EtOAc trong hexan, trong thời gian 20 phút, 40mL/phút). Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết hoạt động ở giữa *in vacuo* để thu được hợp chất nêu ở đề mục

ở dạng chất rắn màu vàng sáng (1,47g, 70%). MS (ESI, dương): được tính toán đối với $C_{15}H_{16}N_2O_2$, 256,1; phát hiện 256,9 (M+H), 278,9 (M+Na).

Bước 5: Succinat este của axit 6-maleimidylhexanoic (20)

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế ở dạng gồm không màu từ axit 6-aminocaproic có bán trên thị trường bằng phương pháp tương tự với phương pháp của Marnett et al. (J. Med. Chem., 1996, 39, 1692-1703). 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6,72 (s, 2H), 3,56 (t, 2H, $J = 7$ Hz), 2,86 (s, 4H), 2,64 (t, 2H, $J = 7$ Hz), 1,81 (pentet, 2H, $J = 8$ Hz), 1,66 (m, 2H), 1,45 (m, 2H).

Bước 6: Boc-valin-succinat (11)

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế ở dạng chất rắn màu trắng từ Boc-Val-OH bằng phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này (xem Widdison et al., J. Med. Chem., 2006, 49 (14), 4401). 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 5,03 (d, 1H, $J = 10$ Hz), 4,60 (dd, 1H, $J = 9$ Hz, 5 Hz), 2,85 (s, 4H), 2,32 (m, 1H), 1,47 (s, 9H), 1,05 (m, 6H).

Bước 7: Boc-valin-xitrulin (12)

Sản phẩm của bước trước đó (11, 4,23g, 13,5mmol) được hòa tan trong axetonitril (70mL), được xử lý bằng dung dịch chứa L-xitrulin (3,20g, 18,3mmol) trong nước (30mL) và dung dịch bão hòa chứa $NaHCO_3$ (18mL), bình được thổi khí N_2 , và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 24 giờ. Cô hỗn hợp *in vacuo* để loại bỏ axetonitril, rửa một lần bằng EtOAc để loại bỏ các tạp chất không phân cực, và bão hòa lớp chứa nước với NaCl và axit hóa đến độ pH=3 bằng HCl 10%. Chiết hỗn hợp đục thu được bốn lần bằng isopropanol 10% trong EtOAc, các lớp hữu cơ liên kết được sấy khô trên Na_2SO_4 , và được lọc. Cô và làm khô dịch lọc *in vacuo* để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (4,53g, 90%). MS (ESI, âm): được tính toán đối với $C_{16}H_{30}N_4O_6$, 374,2; phát hiện 373,0 (M-H).

Bước 8: Boc-valin-xitrulin-amino-4-benzylamino-N-benzyloxycarbamat (15)

Sản phẩm của bước trước đó (12, 3,08g, 8,23mmol) được hòa tan trong N,N-dimetylformamit (DMF, 30 mL, được làm khô trên các sàng phân tử), được xử lý bằng

dixyclohexylcarbodiimide (DCC, 2,31g, 11,2mmol) và 1-hydroxybenzotriazol hydrat (HOBt, 1,51g, 11,2mmol), bình được thổi khí N₂ và được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 1 giờ. Sau đó, bổ sung dung dịch chứa 4-amino-(N-benzyloxycarbonyl)benzylamin (14, 2,30g, 8,97mmol) trong DMF (15mL) vào, khuấy hỗn hợp phản ứng trong thời gian 3 ngày nữa, lọc trên phễu thủy tinh được nung kết, và rửa các chất rắn bằng ethyl axetat. Dịch lọc được rửa bằng 1:1 nước/NaHCO₃ bão hòa (100mL), lớp chứa nước được chiết ba lần bằng isopropanol 10% /EtOAc, và lớp hữu cơ liên kết được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na₂SO₄, và được lọc. Trong khi lọc, gel không hòa tan được tạo ra được hòa tan với metanol/EtOAc. Cô dịch lọc *in vacuo* để thu được gel màu vàng dạng gôm mà được xử lý bằng diethyl ete (50mL), nghiền bằng siêu âm, lọc, và làm khô hút để thu được chất rắn màu vàng nhạt. Tinh chế chất rắn này bằng phương pháp sắc ký cột nhanh trên cột silicagel 330g (0 - 10% metanol trong diclometan, 100 mL/phút) để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu vàng nhạt (4,07g, 81%). MS (ESI, dương): được tính toán đối với C₃₁H₄₄N₆O₇, 612,3; phát hiện 613,4 (M+H)

Bước 9: Boc-valin-xitrulin-amino-4-benzylamin (16)

Xử lý sản phẩm của bước trước đó (15, 3,04g, 4,96mmol) và paladi 10% (0) trên than hoạt tính (0,286g, 0,269mmol) trong dòng N₂ với metanol (50mL) và axit axetic băng (0,57 mL, 9,95mmol), mỗi hỗn hợp phản ứng được tạo bọt trong một vài phút với N₂, sau đó là hydro, và được khuấy mạnh dưới bong bóng khí hydro ở nhiệt độ môi trường và áp suất trong thời gian 1 giờ. Khi phản ứng kết thúc bằng TLC, bong bóng được loại bỏ, huyền phù được tạo bọt một vài phút với N₂, và được lọc trên Celite 521. Celite này được rửa bằng metanol, dịch lọc được làm bay hơi đến khô *in vacuo*, và tán bột phần cặn một lần với diethyl ete và được làm khô trong môi trường chân không cao để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (2,95g, 99%). MS (ESI, dương): được tính toán đối với C₂₃H₃₈N₆O₅, 478,3; phát hiện 479,2 (M+H).

Bước 10: Boc-valin-xitrulin-amino-4-benzylisothioxyanat (17)

Sản phẩm của bước trước đó (16, 0,586g, 0,979mmol) trong tetrahydrofuran khô (20mL) và N,N-dimetylformamid khô (5mL) được hòa tan trong khí N₂, được xử lý bằng triethylamin (0,40mL, 2,87mmol), được làm lạnh trong bể đá, và được xử lý

từng giọt với cacbon disulfua (0,10 mL, 1,66mmol) trong thời gian 5 phút. Hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ môi trường và khuấy trong thời gian 2 giờ, được làm lạnh lại trong đá, và được xử lý bằng p-toluensulfonyl clorua (0,281g, 1,47mmol). Sau khi làm ấm đến nhiệt độ môi trường và khuấy trong thời gian 18 giờ, hỗn hợp phản ứng được rửa bằng 1:1 nước/nước muối, được chiết hai lần bằng etyl axetat, lớp chứa nước được bão hòa với NaCl, được chiết hai lần nữa bằng EtOAc, và lớp hữu cơ liên kết được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na_2SO_4 , và được lọc. Dịch lọc đã làm bay hơi được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh trên cột silicagel 20g (0 - 100% axetonitril trong EtOAc, 35mL/phút) để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu vàng (0,391g, 77%) sau khi chưng cất đồng sôi với diclometan và làm khô trong môi trường chân không cao. MS (ESI, dương): được tính toán đối với $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_5\text{S}$, 520,3; phát hiện 521,1 (M+H).

Bước 11: Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin-propanamidyl-3-N-[4-(amino-xitruilin-Boc-valin)-benzyl]-dithiocarbamat (18)

Sản phẩm của bước trước đó (17, 0,068g, 0,131mmol) và maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin-propanamit-3-thiol (10, 0,048g, 0,065mmol) được hòa tan trong THF khô (3mL) trong Ar, được xử lý bằng triethylamin (0,050mL, 0,359mmol) thông qua xi lanh, và khuấy ở nhiệt độ môi trường dưới vách ngăn cao su trong thời gian 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô *in vacuo*, được hòa tan trong 10% isopropanol/etyl axetat, và được rửa bằng 0,5N HCl chứa nước. Lớp chứa nước được chiết ba lần bằng 10% IPA/EtOAc, lớp hữu cơ liên kết được rửa với nước muối, được làm khô trên Na_2SO_4 , và được lọc. Dịch lọc đã bay hơi được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh trên cột silicagel 12g (0 - 20% metanol trong EtOAc, 30mL/phút) để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (0,042g, 51%). MS (ESI, dương): được tính toán đối với $\text{C}_{59}\text{H}_{84}\text{ClN}_9\text{O}_{15}\text{S}_2$, 1257,5; phát hiện 1258,8 (M+H), 1241,5 (M-H₂O+H), 1280,6 (M+Na).

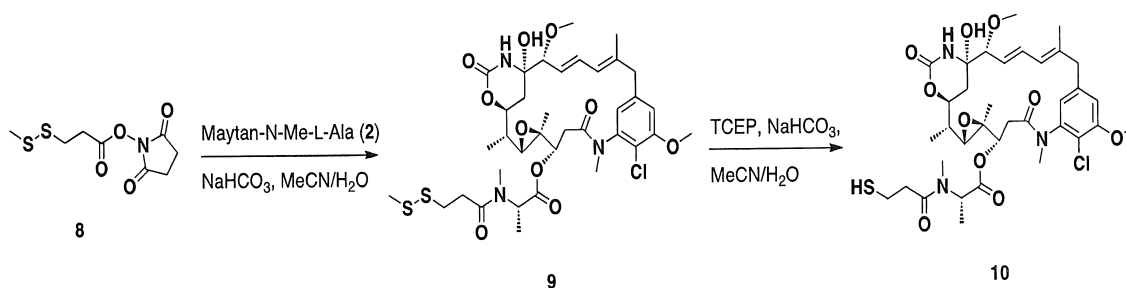
Bước 12: Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin-propanamidyl-3-N-[4-(amino-xitruilin-valin)-benzyl]-dithiocarbamat (19)

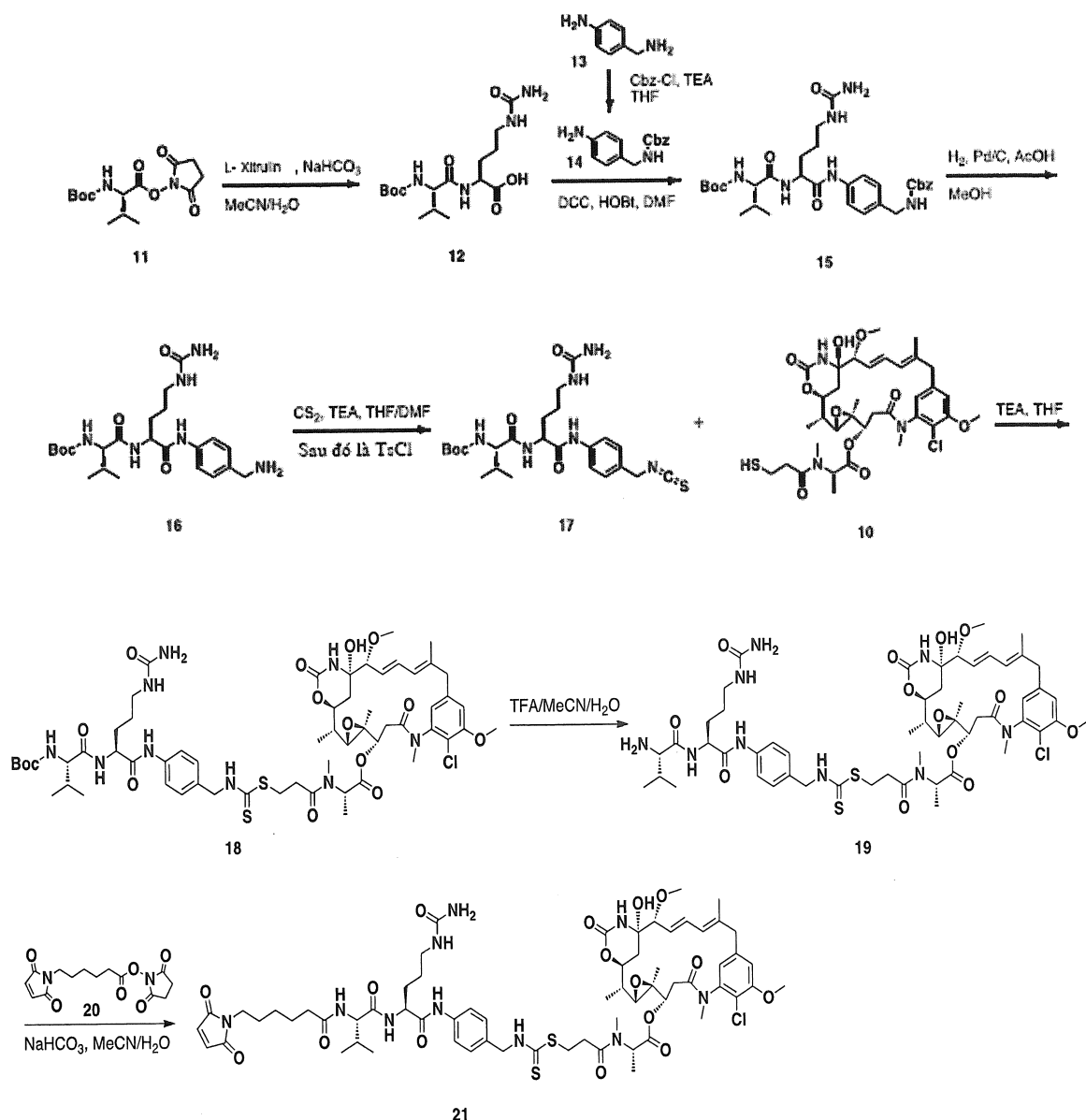
Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế ở dạng chất rắn màu vàng (0,016g, 100%) từ sản phẩm của bước trước đó (18, 0,014g, 0,011mmol) bằng phương pháp

trong ví dụ 2, bước 3 (hợp chất 6). Hợp chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. MS (ESI, dương): được tính toán đối với $C_{54}H_{76}ClN_9O_{13}S_2$, 1157,5; phát hiện 1159,4 (M+H).

Bước 13: Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin-propanamidyl-3-N-[4-(amino-xitrulin-valin-hexanamit-6-maleimidyl)benzyl]-dithiocarbamat (21)

Sản phẩm của bước trước đó (19, 0,055g, 0,032mmol) được hòa tan trong 1:1 axetonitril/nước (4mL), được xử lý bằng 1N $NaHCO_3$ chứa nước (0,5mL) và dung dịch chứa succinat este của axit 6-maleimidylhexanoic (20, 0,070g, 2,27mmol) trong axetonitril (6mL), và bình được thổi khí Ar dưới vách ngăn cao su. Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ môi trường trong 5 giờ, hỗn hợp này được bảo quản ở nhiệt độ $-20^\circ C$ trong 3 ngày trước khi làm ấm trở lại đến nhiệt độ môi trường và pha loãng với nước muối. Chiết hỗn hợp ba lần với etyl axetat, lớp hữu cơ liên kết được làm khô trên Na_2SO_4 , và được lọc. Dịch lọc đã làm bay hơi được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh trên cột silicagel 12g (0 - 20% metanol trong EtOAc trong 18 phút, 25mL/phút) để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu vàng nhạt (0,011g, 26%). MS (ESI, dương): được tính toán đối với $C_{64}H_{87}ClN_{10}O_{16}S_2$, 1350,5; phát hiện 1352,0 (M+H), 1334,5 (M-H₂O+H), 1373,5 (M+Na).





Ví dụ 4

Bước 1: N-(4-aminometyl-phenyl)-axetamit hydroclorua (23)

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế ở dạng chất rắn màu vàng sáng từ 4-aminobenzylamin bằng phương pháp trong King et al. (J. Am. Chem. Soc., 1992, 114(8), 3033). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 10,18 (s, 1H), 8,36 (br s, 3H), 7,63 (d, 2H, *J* = 8,7 Hz), 7,41 (d, 2H, *J* = 8,7 Hz), 3,95 (s, 2H), 2,06 (s, 3H).

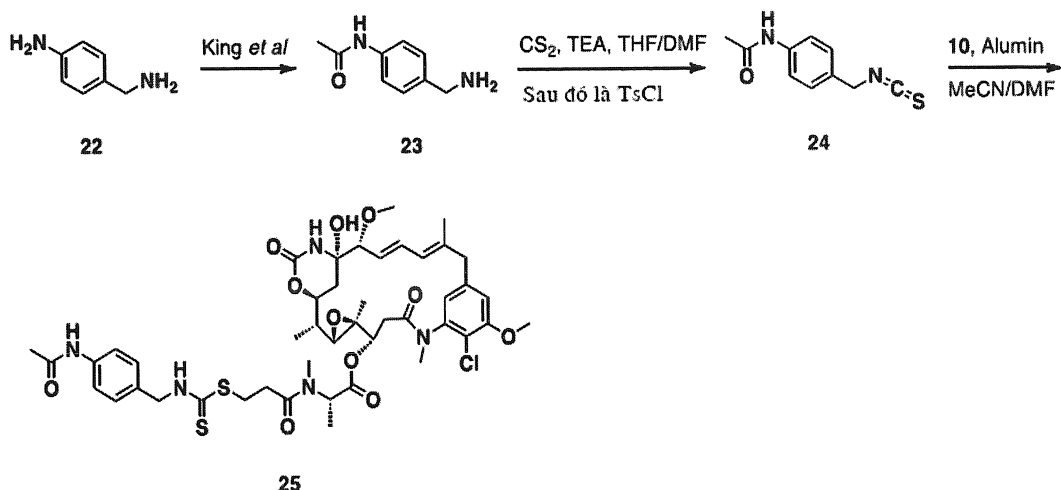
Bước 2: N-(4-isothioxyanatometyl-phenyl)-axetamit (24)

Sản phẩm của bước trước đó (23, 0,277g, 1,38mmol) được hòa tan trong THF (4,5mL) và DMF (2,0mL), được làm lạnh trong đá trong điều kiện N₂, được xử lý bằng

triethylamin (0,66mL, 4,73mmol), sau đó được xử lý từng giọt với cacbon disulfua (0,125mL, 2,07mmol). Hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ môi trường, được khuấy trong 3 giờ, sau đó được làm lạnh lại trong đá. Sau khi xử lý với p-toluensulfonyl clorua (0,274g, 1,45mmol), hỗn hợp phản ứng được làm ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường trong khi khuấy trong thời gian 18 giờ. Hỗn hợp được pha loãng với nước, được axit hóa đến độ pH bằng 2 với HCl chứa nước 10%, và được chiết ba lần với EtOAc. Lớp hữu cơ liên kết được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na_2SO_4 , và được lọc. Dịch lọc đã làm bay hơi được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh trên cột silicagel 20g (0 - 50% axetonitril trong EtOAc trong thời gian 20 phút, 30mL/phút) để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn có màu kem (0,157g, 55%). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,55 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz), 7,29 (m, 3H), 4,70 (s, 2H), 2,23 (s, 3H).

Bước 3: Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin-propanamidyl-3-N-[4-(acetamidyl)benzyl]-dithio-carbamat (25)

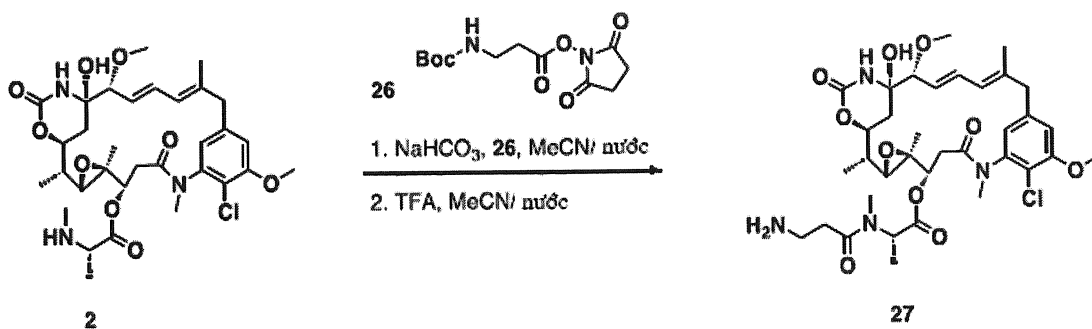
Sản phẩm của bước trước đó (24, 0,093g, 0,45mmol) và sản phẩm của ví dụ 3, bước 3 (10, 0,070g, 0,095mmol) được hòa tan trong axetonitril (MeCN, 2mL) và DMF khô (1mL), và được xử lý bằng alumin bazơ (được hoạt hóa, Brockmann I, 0,357g). Sau khi bình được thổi khí argon, hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 2 ngày, được lọc, và các chất rắn được rửa với metanol/axetonitril. Dịch lọc đã làm bay hơi được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh trên cột silicagel 12g (0 - 50% axetonitril trong EtOAc trong 15 phút, 25mL/phút) và các phân đoạn sản phẩm chậm hơn được cô *in vacuo* để thu được gồm màu vàng nhạt không tinh khiết. Gôm này được tinh chế bằng RP-HPLC (Phenomenex Gemini C18, cột 30x150mm, 30 - 90% axetonitril trong nước, 0,1% TFA trong cả hai) và các phân đoạn tinh khiết được làm khô lạnh để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề ở dạng chất rắn màu trắng (0,016g, 18%). MS (ESI, dương): được tính toán đối với $\text{C}_{45}\text{H}_{58}\text{ClN}_5\text{O}_{11}\text{S}_2$, 943,3; phát hiện 944,7 (M+H), 927,1 (M-H₂O+H), 966,6 (M+Na).



Ví dụ 5

Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin-β-alanin (27)

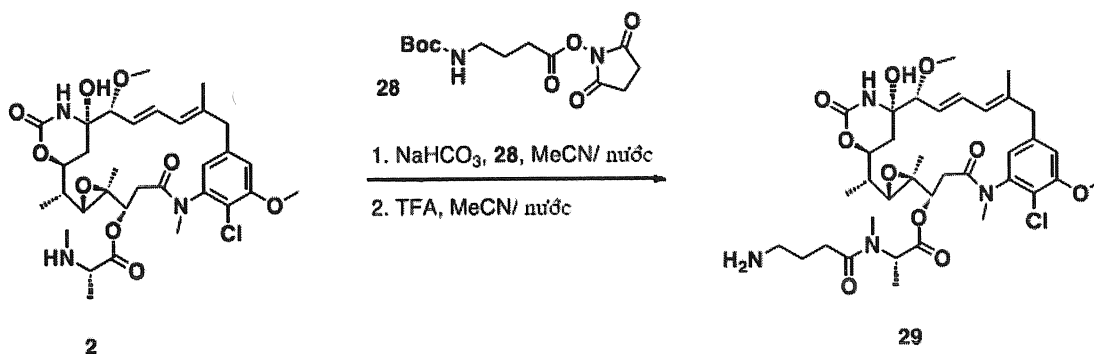
Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế ở dạng chất rắn màu vàng nhạt từ 2,5-dioxopyrrolidin-1-yl 3-((tert-butoxycarbonyl)amino)propanoat (26) bằng phương pháp trong ví dụ 2, bước 1-3. MS (ESI, dương): được tính toán đối với C₃₅H₄₉CIN₄O₁₀, 720,3; phát hiện 721,4 (M+H).



Ví dụ 6

Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin- γ -aminobutyramit (29)

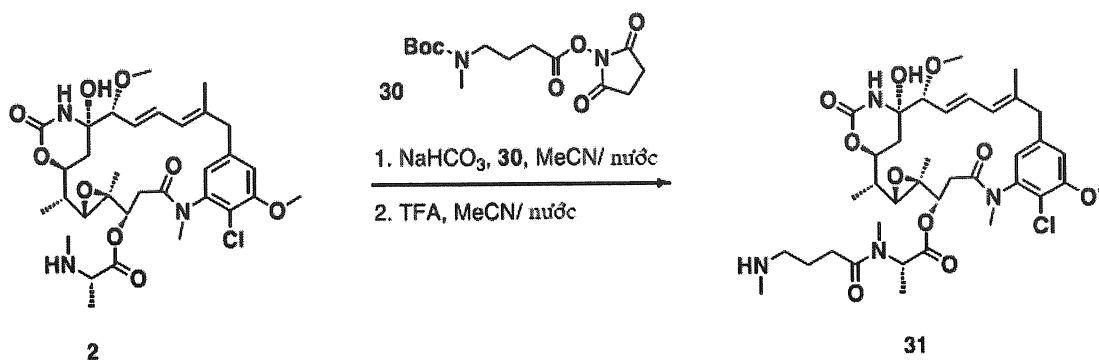
Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế ở dạng chất rắn màu vàng nhạt từ N-Boc-GABA-OH (28) bằng phương pháp trong ví dụ 2, bước 1-3. MS (ESI, dương): được tính toán đối với $C_{36}H_{51}ClN_4O_{10}$, 734,3; phát hiện 735,5 (M+H).



Ví dụ 7

Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin-N-Me- γ -aminobutyramit (31)

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế ở dạng chất rắn màu vàng nhạt từ N-Boc-N-Me GABA-OH (30) bằng phương pháp trong ví dụ 2, bước 1-3. MS (ESI, dương): được tính toán đối với $\text{C}_{37}\text{H}_{53}\text{ClN}_4\text{O}_{10}$, 748,4; phát hiện 749,5 (M+H).



Ví dụ 8

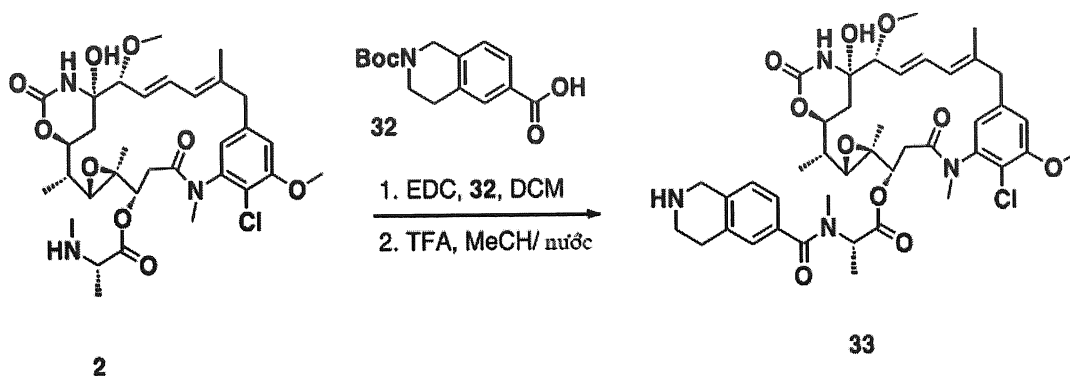
Bước 1: Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin-N-carboxy-6-[3,4-dihydro-2-(tert-butoxycarbonyl)-1H-isoquinolin]

Maytan-3-N-metyl-L-(S)-alanin (2, 0,034g, 0,052mmol), axit N-Boc-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-6-carboxylic bán trên thị trường (32, 0,019g, 0,069mmol), và 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydroclorua (EDC, 0,024g, 0,125mmol) được cân vào bình đáy tròn với thanh khuấy, được hòa tan trong diclometan (3mL), bình được thổi khí Ar và được bịt kín bằng vách ngăn cao su, và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường. Sau 2 ngày, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc và được rửa bằng NaHCO_3 loãng chứa nước, và lớp chứa nước được chiết hai

lần bằng EtOAc. Lóp hữu cơ liên kết được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na_2SO_4 , và được lọc. Sau đó dịch lọc đã làm bay hơi được tinh chế trên cột silicagel RediSep Gold 12g thông qua hệ ISCO (EtOAc - 5:5:1 EtOAc/DCM/MeOH trong 12 phút, 30mL/phút), và các phân đoạn tinh khiết TLC đã kết hợp được làm bay hơi và được làm khô *in vacuo* để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu nhạt (0,026g, 55%). MS (ESI, dương): được tính toán đối với $\text{C}_{47}\text{H}_{61}\text{ClN}_4\text{O}_{12}$, 908,4; phát hiện 909,2 (M+H), 891,2 (M-H₂O+H).

Bước 2: Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin-N-carboxy-6-(1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin) (33)

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế ở dạng chất rắn màu trắng (0,013g, 52%) từ sản phẩm của bước trước đó (0,025g, 0,027mmol) bằng phương pháp trong ví dụ 2, bước 3 (hợp chất 6). MS (ESI, dương): được tính toán đối với $\text{C}_{42}\text{H}_{53}\text{ClN}_4\text{O}_{10}$, 808,3; phát hiện 809,2 (M+H).



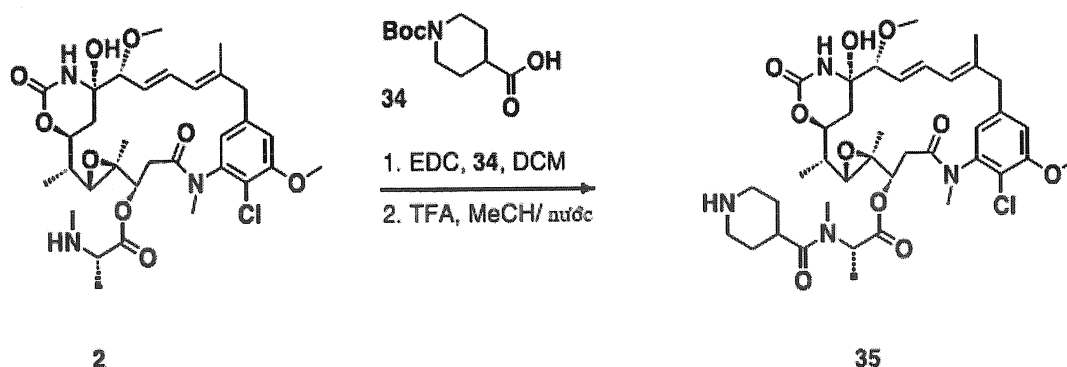
Ví dụ 9

Bước 1: Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin-N-carboxy-4-[1-(tert-butoxycarbonyl)piperidin]

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế ở dạng chất rắn màu trắng (0,027g, 46%) từ maytan-3-N-metyl-L-(S)-alanin (2, 0,045g, 0,069mmol) và axit 1-t-butoxycarbonylpiperidin-4-carboxylic bán trên thị trường (34, 0,024g, 0,105mmol) bằng phương pháp trong ví dụ 8, bước 1. MS (ESI, dương): được tính toán đối với $\text{C}_{43}\text{H}_{61}\text{ClN}_4\text{O}_{12}$, 860,4; phát hiện 861,2 (M+H), 843,2 (M-H₂O+H).

Bước 2: Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin- N-carboxy-4-piperidin (35)

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế ở dạng chất rắn màu trắng (0,012g, 50%) từ sản phẩm của bước trước đó (0,025g, 0,029mmol) bằng phương pháp trong ví dụ 2, bước 3 (hợp chất 6). Hợp chất được tinh chế trên cột C18 bằng cách sử dụng gradien khác nhau và chất cải biến (20 - 80% MeCN trong nước, 0,05% axit axetic trong cả hai). Làm khô lạnh các phân đoạn tinh khiết để thu được hợp chất nêu ở đề mục (0,008g, 35%). MS (ESI, dương): được tính toán đối với $C_{38}H_{53}ClN_4O_{10}$, 760,3; phát hiện 761,2 (M+H).



Ví dụ 10

Bước 1: Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin- N-metyl-beta-alanin-N-[4-(tert-butoxycarbonyl-valin-xitruilin-amino)benzyloxy]-carbamate

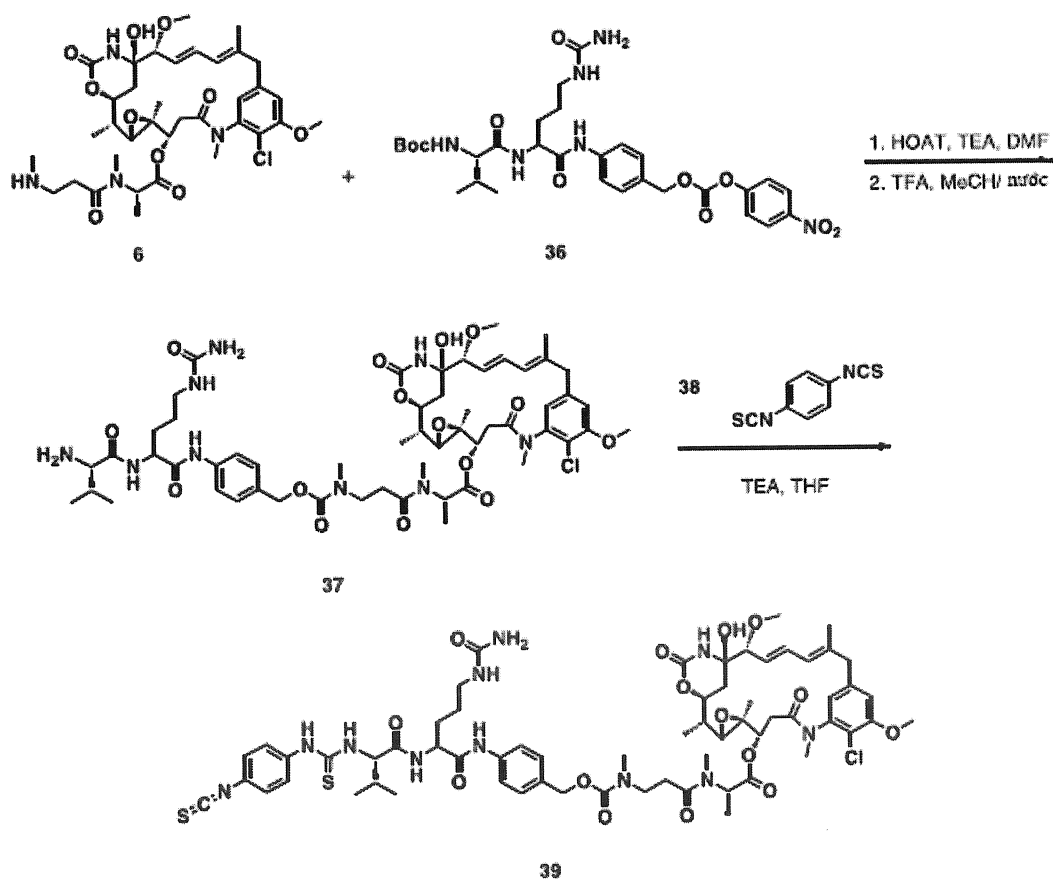
Boc-valin-xitruilin-p-aminobenzyloxy-(p-nitrophenyloxy)-cacbonat (36), được điều chế theo WO 2005112919, (0,092g, 0,143mmol), sản phẩm trong ví dụ 2, bước 3 (6, 0,110g, 0,130mmol), và 1-hydroxy-7-azabenzotriazol (HOAT, 0,037g, 0,272mmol) được hòa tan trong DMF (7mL), được xử lý bằng trietylamin (0,100mL, 0,717mmol), và được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong bình có chốt chặn. Sau 18 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô thành dầu *in vacuo*, được hòa tan trong diclometan, và được tinh chế trên cột RediSep Gold 24g thông qua ISCO Combiflash (0 - 20% metanol trong etyl axetat). Làm bay hơi các phân đoạn sản phẩm *in vacuo* thì thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu vàng nhạt (0,129g, 80%). MS (ESI, dương): được tính toán đối với $C_{60}H_{86}ClN_9O_{17}$, 1239,6; phát hiện 1240,8 (M+H).

Bước 2: Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin- N-metyl-beta-alanin-N-[4-(valin-xitruilin-amino)benzyloxy]-carbamate (37)

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế ở dạng chất rắn màu trắng (0,074g, 63%) từ sản phẩm của bước trước đó (0,128g, 0,103mmol) bằng phương pháp trong ví dụ 2, bước 3 (hợp chất 6). MS (ESI, dương): được tính toán đối với $C_{55}H_{78}ClN_9O_{15}$, 1139,5; phát hiện 1141,4 (M+H).

Bước 3: Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin- N-metyl-beta-alanin-N-[4-(4-{isothioxyanato-phenyl}-thioureido-valin-xitrulin-amino)benzyloxy]-carbamate (39)

Sản phẩm của bước trước đó (37, 0,037g, 0,029mmol) được hòa tan trong tetrahydrofuran (THF, 5mL) trong lọ, được xử lý bằng triethylamin (0,020mL, 0,143mmol), và dung dịch thu được được bổ sung từng giọt vào bình chứa dung dịch đã khuấy chứa 1,4-phenylendiisothioxyanat (38, 0,055g, 0,286mmol) trong THF (10mL) trong 15 phút. Lọ được rửa với THF (2mL) và dung dịch được bổ sung vào bình phản ứng, mà đã bịt kín bằng vách ngăn cao su. Sau khi khuấy ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 24 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô *in vacuo* đến khô, sản phẩm thô được hòa tan trong axetonitril, và được lọc trên 0,45um màng PTFE. Sau đó dịch lọc được tinh chế trên cột C18 RediSep Gold 30g thông qua ISCO (20 - 80% MeCN trong nước, 0,05% HOAc trong cả hai dung môi) và các phân đoạn tinh khiết nhất (bằng LC) được kết hợp, làm đông ở nhiệt độ -78°C, và làm khô lạnh để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (0,023g, 59%). MS (ESI, dương): được tính toán đối với $C_{63}H_{82}ClN_{11}O_{15}S_2$, 1331,5; phát hiện 1332,0 (M+H).



Ví dụ 11

Bước 1: 1-(4-amino-butyl)-maleimit

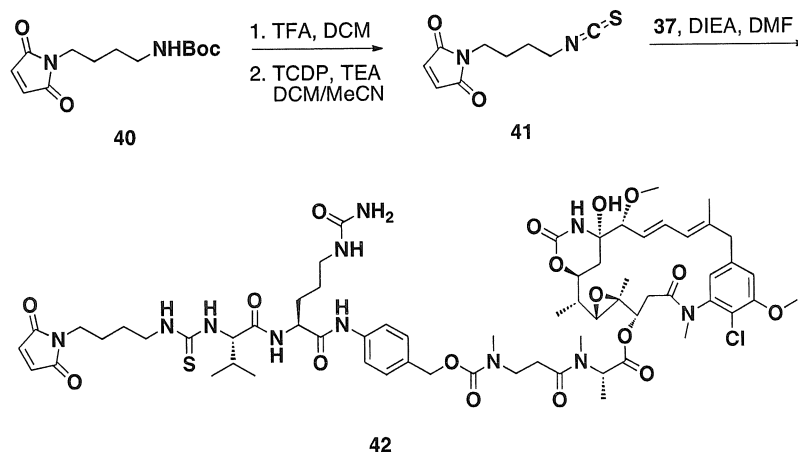
Dung dịch chứa Boc-1-aminobutyl-4-maleimit bán trên thị trường (0,304g, 1,13mmol) trong diclometan (10mL) được xử lý bằng axit trifloaxetic (1,00mL, 13,1mmol), bình được thổi khí Ar, được bịt kín bằng vách ngăn cao su và lỗ thông tạo bọt, và được khuấy ở nhiệt độ môi trường. Phản ứng kết thúc bằng TLC sau 18 giờ, vì vậy nó được cô *in vacuo*, được tán nhỏ hai lần với diethyl ete, và được làm khô *in vacuo* để thu được. Tán bột hỗn hợp này hai lần nữa với ete (trong khi gạt bỏ bằng que trộn), gạn, và làm khô lại *in vacuo* để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (0,321g, 100%). MS (ESI, dương): được tính toán đối với C₈H₁₂N₂O₂, 168,1; phát hiện 169,0 (M+H).

Bước 2: 1-(4-isothioxyanato-butyl)-maleimit (41)

Sản phẩm của bước trước đó được hòa tan trong axetonitril (MeCN, 3 x 40mL) và cô *in vacuo* ở nhiệt độ 60° C bằng máy làm bay hơi quay. Sản phẩm đã được làm khô (0,650g, 2,45mmol) được hòa tan trong MeCN (75mL) và cloroform (30mL) trong bình, được xử lý bằng triethylamin (1,0mL, 7,35mmol), và dung dịch thu được được bổ sung từng giọt vào bình chứa 1,1'-thiocarbonyldi-2,2'-pyridon (0,68g, 2,94mmol) trong cloroform (25mL) trong điều kiện nitơ trong thời gian 10 phút. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 18 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô *in vacuo* đến khô, sản phẩm thô được hòa tan trong diclometan (DCM) và được tinh chế trên cột silicagel RediSep Gold 120g bằng phương pháp sắc ký cột nhanh (0 - 10% MeOH trong DCM). Các phân đoạn sạch nhất (bằng LC) được kết hợp và được cô đến khô để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (0,26g, 50%). MS (ESI, dương): được tính toán đối với C₉H₁₀N₂O₂S, 210,0; phát hiện 211,2 (M+H).

Bước 3: Maytansin-3-N-metyl-L-(S)-alanin- N-metyl-beta-alanin-N-[4- (4-{maleimidylbutyl}-thioureido-valin-xitruin-amino)benzyloxy]-carbamate (**42**)

Sản phẩm trong ví dụ 10, bước 2 (37, 0,029g, 0,023mmol) được hòa tan trong DMF khô (2mL), được xử lý bằng diisopropyletylamin (0,020mL, 0,115mmol) thông qua xi lanh khô, sau đó với dung dịch chứa sản phẩm của bước trước đó (41, 0,026g, 0,124mmol) trong DMF khô (2mL). Bình phản ứng được thổi khí Ar, được bịt kín bằng vách ngăn cao su, và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường. Sau 18 giờ, phản ứng dường như là hoàn thành 80% bằng LCMS, vì vậy nó được làm bay hơi để thu được dầu *in vacuo*, được hòa tan trong MeCN/nước, và được tinh chế trên cột C18 RediSep Gold 30g thông qua sắc ký cột nhanh (20 - 80% MeCN trong nước, 0,05% HOAc trong cả hai dung môi). Các phân đoạn sạch nhất bằng LCMS được kết hợp, được cô quay chân không nhanh gọn, và được làm đông trên đá khô, và làm khô lạnh qua đêm để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (0,020g, 65%). MS (ESI, dương): được tính toán đối với C₆₄H₈₈N₁₁O₁₇SCl, 1349,6; phát hiện 1351,1 (M+H), 1372,9 (M+Na), 1333,6 (M-H₂O+H).



Ví dụ 12

Chế phẩm tiếp hợp và đặc trưng

Đối với bộ thử nghiệm ban đầu, bốn kháng thể được tiếp hợp với các hợp chất liên kết-thuốc khác nhau của bản mô tả bằng cách sử dụng quy trình dưới đây. Bốn kháng thể được sử dụng trong các thử nghiệm là: (1) kháng thể PSMA có miền biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của dòng vô tính AB-PG1-XG1-006 như nêu trong WO 2007002222A2, (2) kháng thể STEAP1 có miền biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của dòng vô tính mu120, được biểu hiện dưới dạng hIgG1, như nêu trong WO 2008052187A2, (3) kháng thể EGFRvIII có miền biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của dòng vô tính 131 như nêu trong WO2013075048A1, và (4) PRLR có miền biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của dòng vô tính H1H6953N như nêu trong đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 61/868,185; được nộp vào ngày 21/8/2013 (phần mô tả được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Tất cả các kháng thể đơn dòng được biểu hiện trong tế bào CHO và được tinh chế bằng protein A. Đối chứng không liên kết có nguồn gốc từ kháng nguyên miễn dịch không liên quan đến ung thư học cũng được sử dụng.

Phương pháp tiếp hợp đối với hợp chất 3, 7, 21 và 42

Kháng thể (10mg/ml) trong 50mM HEPES, 150mM NaCl, pH=7,5, được xử lý bằng 1mM dithiothreitol ở nhiệt độ 37°C trong 30 phút. Sau khi lọc gel (G-25, pH=4,5 natri axetat), dẫn xuất tải trọng liên kết maleimido (1,2 đương lượng/nhóm SH) trong DMSO (10mg/ml) được bổ sung vào kháng thể đã được khử và điều chỉnh hỗn hợp đến độ pH là 7,0 bằng 1M HEPES (pH=7,4). Sau 1 giờ, dừng phản ứng với N-ethyl maleimide dư. Các hợp chất tiếp hợp được tinh chế bằng phương pháp sắc ký loại trừ

kích thước và được lọc vô trùng. Nồng độ protein và tải trọng hợp chất liên kết được xác định bằng phép phân tích phổ UV. HPLC loại trừ kích thước được thiết lập mà tất cả các hợp chất tiếp hợp được sử dụng là >95% monome, và RP-HPLC được thiết lập mà có <0,5% tải trọng hợp chất liên kết không được tiếp hợp. Các sản lượng được báo cáo trong bảng 1 dựa trên protein. Tất cả các kháng thể đã được tiếp hợp được phân tích bằng UV đối với các trị số nạp tải trọng liên kết theo Hamblett et al, Cancer Res., 2004 10 7063. Các kết quả được tóm tắt trong bảng 1.

Phương pháp tiếp hợp đối với hợp chất 39

15% theo thể tích dimethyl axetamit được bổ sung vào kháng thể (2-5 mg/ml) trong 50mM cacbonat, 150mM NaCl, pH=9,0. Dẫn xuất tải trọng hợp chất liên kết 39 (5-10 đương lượng) trong DMSO (10mg/ml) được bổ sung vào kháng thể này và hỗn hợp được ủ ở nhiệt độ 37°C trong thời gian từ 4 đến 12 giờ. Các hợp chất tiếp hợp được tinh chế bằng phương pháp sắc ký loại trừ kích thước và lọc vô trùng. Nồng độ protein và tải trọng hợp chất liên kết được xác định bằng phép phân tích phổ UV. HPLC loại trừ kích thước được thiết lập mà tất cả các hợp chất tiếp hợp được sử dụng >95% monome, và RP-HPLC được thiết lập có <0,5% tải trọng hợp chất liên kết không được tiếp hợp. Đối với các hợp chất tiếp hợp này, tải trọng đối với tỷ lệ kháng thể được xác định bằng MALDI-TOF (Bảng 1).

Bảng 1

Hợp chất	$\epsilon_{252\text{nm}} (\text{cm}^{-1} \text{ M}^{-1})$	$\epsilon_{280\text{nm}} (\text{cm}^{-1} \text{ M}^{-1})$
3	32000	8500
7	50600	8100
21	44190	9460
39	--	--
Kháng thể	$\epsilon_{252\text{nm}} (\text{cm}^{-1} \text{ M}^{-1})$	$\epsilon_{280\text{nm}} (\text{cm}^{-1} \text{ M}^{-1})$
STEAP1	87939	244276
PSMA	77652	224320
PRLR	80673	220420
EGFRvIII	79579	209420
Đối chứng isotyp	75113	218360
Hợp chất tiếp hợp kháng thể	Tải trọng: kháng thể (UV)	% sản lượng
STEAP1-7	1,4	36
PSMA-3	3,5	44
PSMA-7	3,4	60
PSMA-21	0,9	45
PRLR-7	3,0	70
EGFRvIII-7	3,4	64
EGFRvIII-39	1,3 (MALDI)	40
Đối chứng isotyp-3	3,0	48
Đối chứng isotyp-7	2,3	51
Đối chứng isotyp-21	2,3	45
Đối chứng isotyp-39	1,1 (MALDI)	40

Ví dụ 13

Thử nghiệm enzym hóa tự do tế bào của thể tiếp hợp kháng thể-thuốc (ADC) *in vitro*

Ủ cathepsin B

Quy trình thử nghiệm enzym hóa tự do tế bào *in vitro* được chấp nhận bởi Dubowchik, et al., Bioconjugate Chem. 2002 13 855. Nồng độ PRLR-7 được hiệu chỉnh DAR và đối chứng isotyp-7 được cài đặt đến 7,00uM trong 25mM dung dịch đệm natri axetat, 1mM EDTA, pH=5,0 và ủ sơ bộ ở nhiệt độ 37°C. Cathepsin B (Sigma # C8571) được hoạt hóa ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 15 phút với 1 đương lượng của 30mM DTT, 15mM EDTA với 2 đương lượng dung dịch gốc cathepsin B. Dung dịch cathepsin B đã được hoạt hóa được bổ sung vào dung dịch ADC ở tỷ lệ mol

1:750. Các mẫu được ủ ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 24 giờ và được tạo phân ước để dò tìm HPLC (HISEP)-UV hoặc dò tìm LC-MS trên đây.

Dò tìm LC-MS

Ở các thời điểm được chỉ định, phần phân ước nhỏ được loại bỏ và kết hợp với 2 đương lượng theo thể tích metanol lạnh. Phần dịch nổi trên bề mặt được thu hồi và phân tích bằng phương pháp sắc ký lỏng-phổ khối (LCMS) đối với sự phân tách tải trọng hợp chất liên kết cathepsin B để thu được hợp chất 6 bằng cách sử dụng Merck Chromolith FastGradien RP-18e, cột 2x50mm, từ 10 đến 90% MeCN trong thời gian 5 phút, trong H₂O với 0,05% HOAc trong cả hai dung môi và tốc độ chảy là 1mL. Protein rửa giải được giám sát ở 254nm. Tất cả các phân phân ước được ủ ở nhiệt độ 37°C với cathepsin B chứa hợp chất 6 rửa giải ở 5,1 phút với khối lượng 735 M+H (được tính toán đối với C₃₆H₅₁CIN₄O₁₀, 734,3) và không phân phân ước nào mà không có cathepsin B chứa hợp chất 6 bất kỳ. Điều này cũng được xác nhận bằng cách phun hợp chất tinh khiết 6 từ ví dụ 2, bước 3.

Dò tìm HPLC (HISEP)-UV

Các dung dịch được phun "như thực tế" ở các thời điểm được chỉ định. Phương pháp gradien sau được sử dụng: dung dịch đệm A 100% 100mM NH₄OAc, pH=7,0 và dung dịch đệm B 100% axetonitril, tốc độ chảy 0,4mL/phút, từ 5 đến 70% dung dịch đệm B, trên Supelco LC-HISEP; cột 150mm x 4,6mm. Protein rửa giải được giám sát ở 280nm và 252nm. Tất cả các phân phân ước của cathepsin B được ủ ADC chứa loại mà rửa giải ở 19,4 phút. Hợp chất 6 tinh khiết rửa giải ở thời gian duy trì tương đồng trong các điều kiện gradien giống nhau. Loại 19,4 phút không có mặt trong phân phân ước mà không có cathepsin B.

Các kết quả của ví dụ này là rõ ràng một phần do sự phân giải protein cathepsin B của 6 chỉ nên xảy ra sau khi tiếp nhận ADC trong tế bào mà enzym tồn tại. Các tác dụng không trúng đích nên được làm giảm do kháng thể phân phối tải trọng gây độc tế bào trực tiếp đến các tế bào hướng đích.

Ví dụ 14

Thử nghiệm tính gây độc tế bào *in vitro*

Trong ví dụ này, khả năng giết chết các tế bào khối u biểu hiện kháng nguyên *in vitro* của các thể tiếp hợp kháng thể-thuốc khác nhau được đánh giá.

Các tế bào được gieo trong đĩa 96 lỗ được phủ PDL ở 375 (MMT/hEGFRvIII), 1500 (U251/hEGFRvIII), 2000 (HEK293/hEGFRvIII), hoặc 3000 (C4-2, PC3/hSTEAP1, T47D, và U87-MG) tế bào trong mỗi lỗ trong môi trường sinh trưởng hoàn toàn và sinh trưởng qua đêm. Đối với đường cong khả năng sống của tế bào, bổ sung các hợp chất tiếp hợp đã được pha loãng theo thứ tự hoặc các tải trọng tiêu biểu tự do vào các tế bào ở nồng độ cuối cùng nằm trong khoảng từ 500nM đến 1pM và ủ trong 3 ngày. Để xác định khả năng sống trong MMT/hEGFRvIII, U251/hEGFRvIII, HEK293/hEGFRvIII, C4-2, PC3/hSTEAP1, và U87-MG, ủ các tế bào với CCK8 (Dojindo) trong thời gian từ 1 đến 3 giờ cuối cùng và sự hấp thụ ở 450nm (OD450) được xác định trên Flexstation3 (thiết bị phân tử). Để xác định khả năng sống trong T47D, các tế bào được ủ trên đá trong thời gian 30 phút trong 4% formaldehyt + 3ug/ml Hoechst. Các hình ảnh của nhân được nhuộm Hoechst thu được trên ImageXpress Micro XL (Thiết bị phân tử) và số lượng nhân được xác định bằng phần mềm phân tích Columbus (PerkinElmer). Mức OD450 cơ sở (CCK8) hoặc số lượng nhân từ các tế bào được xử lý digitonin (40nM) được trừ đi từ tất cả các lỗ và khả năng sống được biểu hiện theo phần trăm các đối chứng không được xử lý. Trị số IC₅₀ được xác định từ phương trình logic bốn thông số trên đường cong đáp ứng 10 điểm (GraphPad Prism). Tất cả các đường cong và trị số IC₅₀ được hiệu chỉnh đối với đương lượng tải trọng.

Trong tế bào C4-2 (dòng ung thư tuyến tiền liệt), PSMA biểu hiện tự nhiên gấp 271 lần so với liên kết đối chứng isotyp, các hợp chất tiếp hợp maytansinoid PSMA-3, PSMA-7, và PSMA-21 có trị số IC₅₀ là 3,8, 0,5, và 8,3nM, một cách lần lượt (Fig. 1). Kháng thể PSMA trần không có hoạt tính chống tăng sinh bất kỳ.

Trong tế bào PC3/hSTEAP1 (dòng ung thư tuyến tiền liệt), biểu hiện hSTEAP1 gấp 352 lần so với liên kết đối chứng isotyp, hợp chất tiếp hợp maytansinoid STEAP1-7 có trị số IC₅₀ là 4nM (Fig. 2). Kháng thể STEAP1 trần không có hoạt tính chống tăng sinh bất kỳ.

Trong tế bào T47D (dòng ung thư vú), PRLR biểu hiện tự nhiên gấp 14 lần so với liên kết đối chứng isotyp, hợp chất tiếp hợp maytansinoid PRLR-7 có trị số IC_{50} là 1,0nM (Fig. 3). Kháng thể T47D trần không có hoạt tính chống tăng sinh bất kỳ.

Trong tế bào HEK293/hEGFRvIII, hEGFRvIII biểu hiện gấp 360 lần so với liên kết đối chứng isotyp, hợp chất tiếp hợp maytansinoid EGFRvIII-7 có trị số IC_{50} là 0,4nM (Fig. 4). Kháng thể EGFRvIII trần không có hoạt tính chống tăng sinh bất kỳ.

Trong tế bào MMT/hEGFRvIII, biểu hiện hEGFRvIII gấp 280 lần so với liên kết đối chứng isotyp, hợp chất tiếp hợp maytansinoid EGFRvIII-7 có trị số IC_{50} là 0,3nM (Fig. 5). Kháng thể EGFRvIII trần không có hoạt tính chống tăng sinh bất kỳ.

Trong tế bào U251/hEGFRvIII (dòng ung thư nguyên bào đệm), hEGFRvIII biểu hiện gấp 165 lần so với liên kết đối chứng isotyp, hợp chất tiếp hợp maytansinoid EGFRvIII-7 có trị số IC_{50} là 0,3nM (Fig. 6). Kháng thể EGFRvIII trần không có hoạt tính chống tăng sinh bất kỳ.

Tính gây độc tế bào *in vitro* của tải trọng đã giải phóng được đề xuất ("thuốc tự do") cũng được thử nghiệm trong các dòng tế bào khác nhau nêu trên và vẽ sơ đồ dọc theo các kháng thể được tiếp hợp để so sánh (xem hình vuông đặc (■) trên Fig. 1 đến Fig. 6). Đối với hợp chất liên kết-tải trọng 3 và 7, tải trọng giải phóng được đề xuất 2 và 6, một cách lần lượt, có thể được sử dụng trong các thử nghiệm tế bào trực tiếp do chúng có mặt. Tuy nhiên, đối với hợp chất liên kết-tải trọng 21, tải trọng giải phóng được đề xuất là hợp chất sulfhydryl 10. Do hợp chất 10 có thể là hợp chất rất dễ phản ứng, mà dẫn đến các kết quả không chắc chắn, hợp chất 25 được chọn để đại diện cho tải trọng giải phóng trong các thử nghiệm này.

Trong bộ thử nghiệm riêng rẽ, hợp chất 6, cùng với chất tương tự amin 27, 29, và 31 được thử nghiệm trong HEK293 và U87MG về hoạt tính chống tăng sinh (Fig. 7). Tất cả các hợp chất này có trị số $IC_{50} > 30nM$ thể hiện rằng chúng có tính gây độc tế bào cao chỉ khi được liên kết với kháng thể thông qua hợp chất liên kết thích hợp. (Đối với các thử nghiệm này, việc hiệu chỉnh nền với digitonin không được tiến hành).

Trong một bộ thử nghiệm khác nữa, hợp chất 6, 9, 33, và 35 được thử nghiệm trong HEK293, U251, C4-2, PC3, và MMT về hoạt tính chống tăng sinh (Fig. 8). Hợp

chất amin 6, 33, và 35 thay đổi IC₅₀ như được liệt kê bảng 2. Xu hướng hiệu nghiệm tuân theo 9 > 33 > 35 > 6 và phù hợp với 5 dòng tế bào được thử nghiệm.

Bảng 2

Hợp chất	IC ₅₀ (nM)				
	HEK293	U251	C4-2	PC3	MMT
9	0,2	0,4	1,5	0,4	0,3
33	20	15	20	30	20
35	50	25	55	65	60
6	200	150	200	250	250

Không bị ràng buộc bởi lý thuyết, kết quả của các thử nghiệm này thể hiện rằng các dạng "được giải phóng" hoặc "thuốc tự do" của hợp chất theo sáng chế (tức là, hợp chất không được tiếp hợp với kháng thể), trong hầu hết các trường hợp, về cơ bản là ít gây độc tế bào hơn khi được tiếp hợp với kháng thể đích. Dấu hiệu này của sáng chế gợi ý rằng thể tiếp hợp kháng thể-thuốc chứa hợp chất theo sáng chế sẽ gây ra ít tác dụng phụ hơn và ít gây độc hơn do các đặc tính tiêu diệt tế bào sẽ tập trung ở vị trí kháng nguyên đích một cách đặc hiệu.

Ví dụ 15

Thể tiếp hợp kháng thể thuốc kháng EGFRvIII là chất ức chế hiệu nghiệm về sự sinh trưởng khối u trong các mô hình dị ghép bệnh ung thư vú dương tính EGFRvIII *in vivo*

Trong ví dụ này, hai thể tiếp hợp kháng thể-thuốc khác nhau của kháng thể kháng EGFRvIII H1H1863N2 nêu làm ví dụ được thử nghiệm về đặc tính ức chế sự sinh trưởng khối u *in vivo* của chúng. (Trình tự axit amin và các đặc tính khác nhau của H1H1863N2 được nêu trong US 61/950,963, nộp ngày 11/3/2014, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). H1H1863N2 chứa vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa SEQ ID NO:1; vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa SEQ ID NO:5; vùng quyết định bổ thể chuỗi nặng (HCDR1, HCDR2 và HCDR3) chứa SEQ ID NO: 2, 3 và 4, một cách lần lượt; và vùng quyết định bổ thể chuỗi nhẹ (LCDR1, LCDR2 và LCDR3) chứa SEQ ID NO: 6, 7 và 8, một cách lần lượt.

ADC thứ nhất được tạo ra bằng cách cho H1H1863N2 tiếp hợp với maytansinoid DM1 thông qua hợp chất liên kết MCC không phân tách được (xem, ví

dự, US 5,208,020 và đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 20100129314) để tạo ra "H1H1863N2-MCC-DM1." ADC thứ hai được tạo ra bằng cách cho H1H1863N2 tiếp hợp với 7 để thu được "H1H1863N2-7." Khi thử nghiệm về tính gây độc tế bào *in vitro* kháng tế bào MMT/EGFRvIII bằng cách sử dụng mô hình thử nghiệm được mô tả trong ví dụ 14, H1H1863N2-MCC-DM1 biểu hiện IC₅₀ là 12nM, trong khi đó H1H1863N2-7 biểu hiện IC₅₀ chỉ là 0,8nM. Do vậy, *in vitro*, ADC kháng EGFRvIII H1H1863N2-7 biểu hiện nhiều khả năng tiêu diệt tế bào khối u hiệu nghiệm hơn so với kháng thể được tiếp hợp với DM1 tương ứng thông qua hợp chất liên kết MCC.

Để so sánh hiệu lực *in vivo* của kháng thể kháng EGFRvIII được tiếp hợp với MCC-DM1 và 7, tiến hành các nghiên cứu ở chuột suy giảm miễn dịch mang thể dị ghép bệnh ung thu vú dương tính với EGFRvIII. Nói ngắn gọn là, các thể dị ghép khối u này được thiết lập bằng cách cấy dưới da $0,5 \times 10^6$ tế bào MMT/EGFRvIII vào sườn trái của chuột cái CB17 SCID (Taconic, Hudson, NY). Một khi khối u đạt đến thể tích trung bình là 140mm³ (~Ngày 8), chuột được chọn ngẫu nhiên vào các nhóm bảy con, và định liều với ADC kháng EGFRvIII bằng cách sử dụng MCC-DM1 hoặc mô hình hợp chất liên kết 7-thuốc. Các chất phản ứng đối chứng, bao gồm ADC không liên kết bằng cách sử dụng MCC-DM1 hoặc mô hình hợp chất liên kết 7-thuốc, và chất dẫn thuốc PBS cũng được đánh giá. ADC được định liều ở 1 và 5mg/kg ba lần một tuần và sau đó được giám sát cho đến khi đạt được kích thước khối u trung bình là khoảng 2000mm³ trong nhóm được cho dùng một mình chất dẫn thuốc. Tại điểm này, sự ức chế sinh trưởng khối u được tính.

Kích thước khối u trung bình so với nhóm được điều trị bằng chất dẫn thuốc được tính như sau: các khối u được đo bằng compa hai lần một tuần cho đến khi kích cỡ trung bình của nhóm dẫn thuốc đạt đến 1000mm³; kích thước khối u được tính bằng cách sử dụng công thức $(\text{chiều dài} \times \text{chiều rộng}^2)/2$. Sự ức chế sinh trưởng khối u được tính theo công thức sau: $(1 - ((T_{\text{cuối cùng}} - T_{\text{đầu tiên}})/(C_{\text{cuối cùng}} - C_{\text{đầu tiên}}))) \times 100$, trong đó T (nhóm được điều trị) và C (nhóm đối chứng) là khối lượng khối u trung bình vào ngày nhóm dẫn thuốc đạt đến 1000mm³. Các kết quả được tóm tắt trong bảng 3.

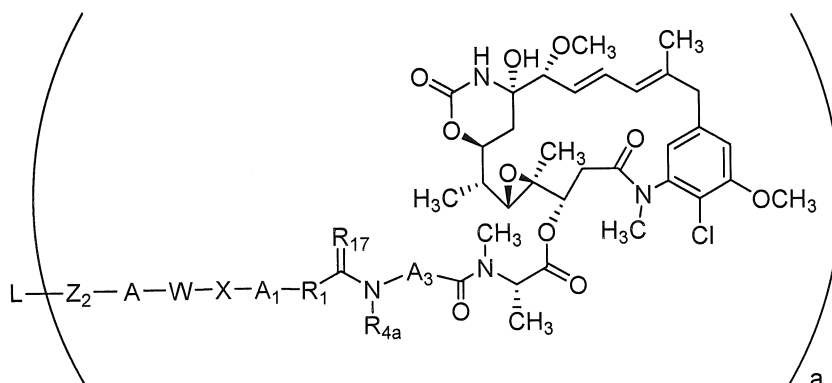
Bảng 3: Kích thước của khối u và sự ức chế sinh trưởng khối u sau khi dùng hợp chất tiếp hợp kháng thể kháng EGFRvIII -thuốc và đối chứng, dùng ở liều lặp lại

Nhóm điều trị	Kích thước của khối u cuối cùng ở ngày 8 mm ³ (trung bình $\pm$ SD)	Ức chế sự sinh trưởng khối u trung bình (%)
Chất mang PBS	2253 $\pm$ 217	0
Đối chứng-MCC-DM1 (1 mg/kg)	2827 $\pm$ 278	-27
Đối chứng-MCC-DM1 (5 mg/kg)	2402 $\pm$ 256	-7
Đối chứng-7 (1 mg/kg)	2729 $\pm$ 470	-22
Đối chứng-7 (5 mg/kg)	2787 $\pm$ 503	-25
H1H1863N2-MCC-DM1 (1 mg/kg)	931 $\pm$ 292	62
H1H1863N2-MCC-DM1 (5 mg/kg)	471 $\pm$ 227	84
H1H1863N2-7 (1 mg/kg)	679 $\pm$ 265	74
H1H1863N2-7 (5 mg/kg)	96 $\pm$ 34	102

Như được thể hiện trong ví dụ này, sự ức chế khối u lớn nhất được quan sát ở chuột được định liều bằng 5mg/kg H1H1863N2-7, mà sự thoái triển của khối u ban đầu được quan sát. Sự ức chế sinh trưởng khối u là 102% do điều trị với 5mg/kg H1H1863N2-7 lớn hơn đáng kể so với sự ức chế sinh trưởng khối u được quan sát sau khi điều trị khối u bằng 5mg/kg H1H1862N2-MCC-DM1 (83%). Tính ưu việt của sự ức chế sinh trưởng khối u được làm giảm bằng H1H1863N2-7 so với H1H1863N2-MCC-DM1 cũng được duy trì ở liều 1mg/kg. Không quan sát thấy tác dụng kháng khối u trong các nhóm được điều trị bằng đối chứng ADC bằng cách sử dụng MCC-DM1 hoặc 7.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức sau đây:

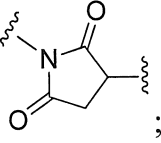


trong đó:

L là phối tử có khả năng liên kết với tế bào hoặc quần thể tế bào;

a là số nguyên từ một đến mười;

Z_2 có công thức cấu tạo sau đây: $-Z_{2A}-Z_{2B}-Z_{2C}-Z_{2D}-$, trong đó mỗi Z_{2A} , Z_{2B} , Z_{2C} và Z_{2D} độc lập là không có mặt, gốc axit amin, gốc peptit có từ hai đến hai mươi gốc axit amin, -alkylen-, -alkynylen-, -alkenylen-, -xycloalkylen-, -arylen-, -heteroarylen-, -heteroxycloalkylen-, $-CR_5R_6-$, -O-, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-O-C(=O)-O-$, $-C(=O)-(CH_x)_{p1}-$, $-C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2})_{p3}-$, $-((CH_2)_{p2}-O)_{p3}-$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-S-$, $-C(=S)-NH-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, -S-, -SO-, -SO₂-, -NR₄-, -N(R₄)-C(=O)-N(R₈)-, -N(R₄)-C(=O)O-, -N(R₄)-C(=O)-, $-C(=O)-N(R_4)-$, $-C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $-O-C(=O)-N(R_4)-$,

-O-C(=S)-N(R₄)-, -C(=S)-N(R₄)-, hoặc  ;

A là gốc axit amin tự nhiên hoặc không tự nhiên hoặc gốc peptit chứa từ hai đến hai mươi gốc axit amin;

W là -O-, -S-, $-CR_5R_6-$, hoặc -NR₄-;

X là -arylen-, -heteroarylen-, -xycloalkylen-, hoặc -heteroxycloalkylen-, trong đó -arylen-, -heteroarylen-, -xycloalkylen- và -heteroxycloalkylen- tùy ý được thế;

mỗi A₁ và R₁ độc lập là gốc axit amin, gốc peptit có từ hai đến hai mươi gốc axit amin, -alkylen-, -alkynylen-, -alkenylen-, -xycloalkylen-, -arylen-, -heteroarylen-, -heteroxycloalkylen-, $-CR_5R_6-$, -O-, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$,

-O-C(=O)-O-, -C(=O)-(CH_x)_{p1}-, -C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-, -(CH_x)_{p1}-C(=O)-, -(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-, -(O-(CH₂)_{p2}-)_{p3}-, -((CH₂)_{p2}-O-)_{p3}-, -C(=S)-, -C(=S)-S-, -S-C(=S)-, -C(=S)-NH-, -S-C(=S)-S-, -S-, -SO-, -SO₂-, -NR₄-, -N(R₄)-C(=O)-N(R₈)-, -N(R₄)-C(=O)O-, -N(R₄)-C(=O)-, -C(=O)-N(R₄)-, -C(=O)-N(R₄)-C(=O)-, -O-C(=O)-NR₄-, trong đó -alkylen-, -alkynylen-, -alkenylen-, -xycloalkylen-, -arylen-, -heteroarylen-, và -heteroxycloalkylen- tùy ý được thế;

A₃ là -CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂-, hoặc -CH₂CH₂CH₂CH₂-;

R₁₇ được chọn từ nhóm gồm oxy, lưu huỳnh, NR₁₈, và CR₅R₆;

R₁₈ được chọn từ nhóm gồm hydro, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxycloalkyl, và axyl, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxycloalkyl, và axyl tùy ý được thế;

mỗi R₄, R₅, R₆, và R₈ độc lập là hydro, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, hoặc heteroxycloalkyl được thế hoặc không được thế;

R_{4a} là metyl;

mỗi p₁, p₂, và p₃ độc lập là không, hoặc số nguyên nằm trong khoảng từ một đến một trăm; và

x là hai.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó mỗi trong số X, A₁, và R₁ là không được thế.

3. Hợp chất theo điểm 1, trong đó L có khả năng liên kết với quần thể tế bào hướng đích đặc hiệu.

4. Hợp chất theo điểm 1, trong đó L được chọn từ nhóm bao gồm các protein, kháng thể, mảnh kháng thể, axit nucleic, khung liên kết kháng nguyên, và hydrat cacbon.

5. Hợp chất theo điểm 4, trong đó L là kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó.

6. Hợp chất theo điểm 5, trong đó L là kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó mà liên kết đặc hiệu với kháng nguyên liên kết khối u.

7. Hợp chất theo điểm 5, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa nhóm lưu huỳnh mà được gắn cộng hóa trị với Z₂.

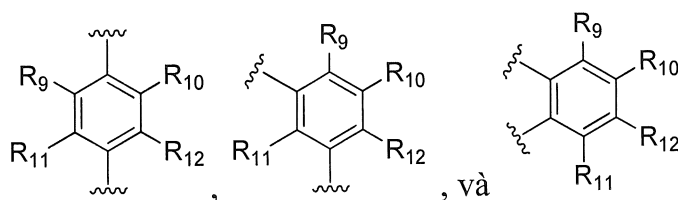
8. Hợp chất theo điểm 7, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa nhóm lưu huỳnh được liên kết cộng hóa trị với Z_{2A} .

9. Hợp chất theo điểm 1, trong đó mỗi trong số R_1 và R_{17} là oxy.

10. Hợp chất theo điểm 1, trong đó A là gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc alanin, axit aspartic, axit glutamic, phenylalanin, glyxin, histidin, isoleuxin, lysin, leuxin, methionin, asparagin, prolin, glutamin, arginin, serin, threonin, valin, tryptophan, tyrosin, xystein và xitrulin.

11. Hợp chất theo điểm 1, trong đó A là gốc peptit được chọn từ nhóm bao gồm gốc valin-xitrulin, xitrulin-valin, lysin-phenylalanin, phenylalanin-lysin, valin-asparagin, asparagin-valin, threonin-asparagin, asparagin-threonin, serin-asparagin, asparagin-serin, phenylalanin-asparagin, asparagin-phenylalanin, leuxin-asparagin, asparagin-leuxin, isoleuxin-asparagin, asparagin-isoleuxin, glyxin-asparagin, asparagin-glyxin, axit glutamic-asparagin, asparagin-axit glutamic, xitrulin-asparagin, asparagin-xitrulin, alanin-asparagin, và asparagin-alanin.

12. Hợp chất theo điểm 1, trong đó X là -arylen- được chọn từ nhóm bao gồm:

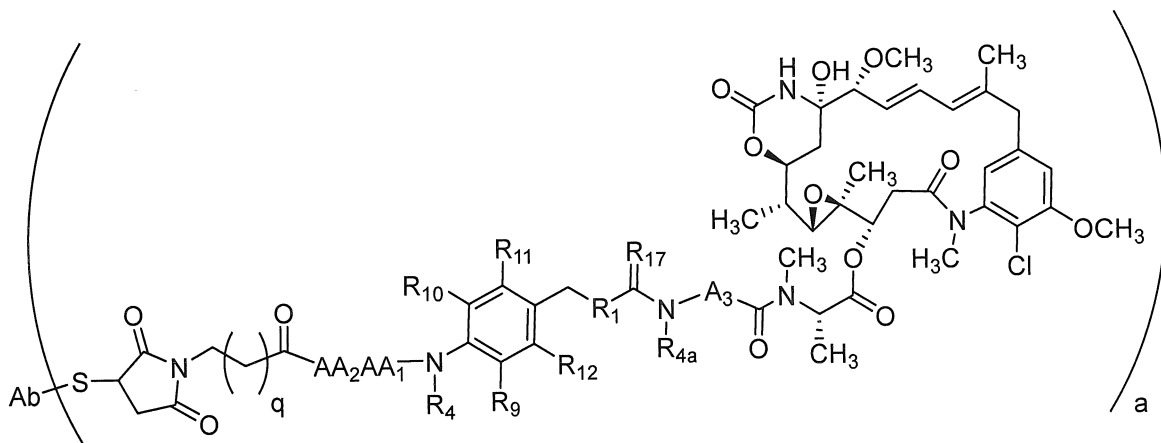


trong đó mỗi R_9 , R_{10} , R_{11} và R_{12} độc lập là hydro, alkyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxycloalkyl, halogen, $NR_{13}R_{14}$, nitro, xyano, -OH, -O-C(=O)- R_{15} , -C(=O)- R_{15} , -C(=O)-O- R_{15} , hoặc -C(=O)- $NR_{13}R_{14}$;

và trong đó alkyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl và heteroxycloalkyl tùy ý được thế;

mỗi R_{13} và R_{14} độc lập là hydro hoặc alkyl tùy ý được thế; và R_{15} là alkyl tùy ý được thế.

13. Hợp chất theo điểm 8, có công thức sau đây:



trong đó:

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

AA₂-AA₁ là gốc peptit được chọn từ nhóm bao gồm gốc valin-xitrulin, xitrulin-valin, lysin-phenylalanin, phenylalanin-lysin, valin-asparagin, asparagin-valin, threonin-asparagin, asparagin-threonin, serin-asparagin, asparagin-serin, phenylalanin-asparagin, asparagin-phenylalanin, leuxin-asparagin, asparagin-leuxin, isoleuxin-asparagin, asparagin-isoleuxin, glyxin-asparagin, asparagin-glyxin, axit glutamic-asparagin, asparagin-axit glutamic, xitrulin-asparagin, asparagin-xitrulin, alanin-asparagin và asparagin-alanin;

a là số nguyên nằm trong khoảng từ một đến mười;

q là không hoặc số nguyên nằm trong khoảng từ một đến năm;

R₁ là gốc axit amin, gốc peptit có 2 đến 20 gốc axit amin, -alkylen-, -alkynylen-, -alkenylen-, -xycloalkylen-, -arylen-, -heteroarylen-, -heteroxycloalkylen-, -CR₅R₆-, -O-, -C(=O)-, -O-C(=O)-, -C(=O)-O-, -O-C(=O)-O-, -C(=O)-(CH_x)_{p1}-, -C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-, -(CH_x)_{p1}-C(=O)-, -(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-, -(O-(CH₂)_{p2})_{p3}-, -((CH₂)_{p2}-O)_{p3}-, -C(=S)-, -C(=S)-S-, -C(=S)-NH-, -S-C(=S)-, -S-C(=S)-S-, -S-, -SO-, -SO₂-, -NR₄-, -N(R₄)-C(=O)-N(R₈)-, -N(R₄)-C(=O)O-, -N(R₄)-C(=O)-, -C(=O)-N(R₄)-, -C(=O)-N(R₄)-C(=O)-, -O-C(=O)-NR₄-, trong đó -alkylen-, -alkynylen-, -alkenylen-, -xycloalkylen-, -arylen-, -heteroarylen-, và -heteroxycloalkylen- tùy ý được thế;

A₃ là -CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂-, hoặc -CH₂CH₂CH₂CH₂-;

R_{17} được chọn từ nhóm bao gồm oxy, lưu huỳnh, NR_{18} và CR_5R_6 ;

R_{18} được chọn từ nhóm gồm hydro, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heterocycloalkyl và axyl, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heterocycloalkyl và axyl tùy ý được thế;

mỗi R_4 , R_5 , R_6 và R_8 độc lập là hydro, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl và heteroxyclyl được thế hoặc không được thế;

R_{4a} là metyl;

mỗi R_9 , R_{10} , R_{11} , và R_{12} độc lập là hydro, halogen, $NR_{13}R_{14}$, nitro, xyano, $-OH$, $-O-C(=O)-R_{15}$, $-C(=O)-R_{15}$, $-C(=O)-O-R_{15}$, $-C(=O)-NR_{13}R_{14}$, alkyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, hoặc heteroxycloalkyl được thế hoặc không được thế;

mỗi R_{13} và R_{14} độc lập là hydro hoặc alkyl tùy ý được thế; R_{15} là alkyl tùy ý được thế;

mỗi p_1 , p_2 và p_3 độc lập là không, hoặc số nguyên nằm trong khoảng từ một đến một trăm; và

x là hai.

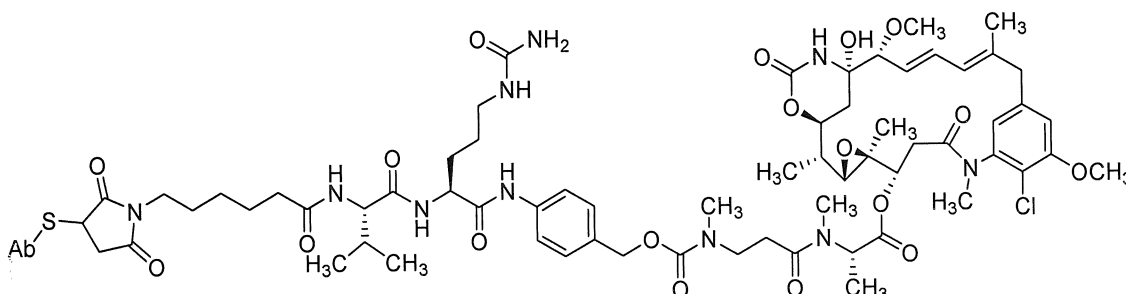
14. Hợp chất theo điểm 13, trong đó:

q là bốn;

R_1 là $-O-$, $-S-$, NR_4 , hoặc $-CR_5R_6-$; và

mỗi R_4 , R_5 , R_6 , R_9 , R_{10} , R_{11} và R_{12} độc lập là hydro hoặc alkyl.

15. Hợp chất theo điểm 14, có công thức cấu tạo sau:



trong đó Ab là kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó.

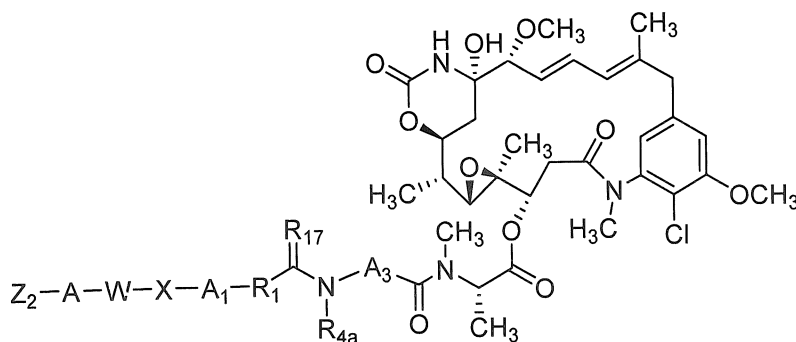
16. Hợp chất theo điểm 1, trong đó A là gốc peptit phân tách được bằng proteaza.

17. Hợp chất theo điểm 1, trong đó A là gốc peptit phân tách được bằng proteaza được biểu hiện trong mô khối u.

18. Hợp chất theo điểm 17, trong đó proteaza nêu trên là cathepsin hoặc plasmin.

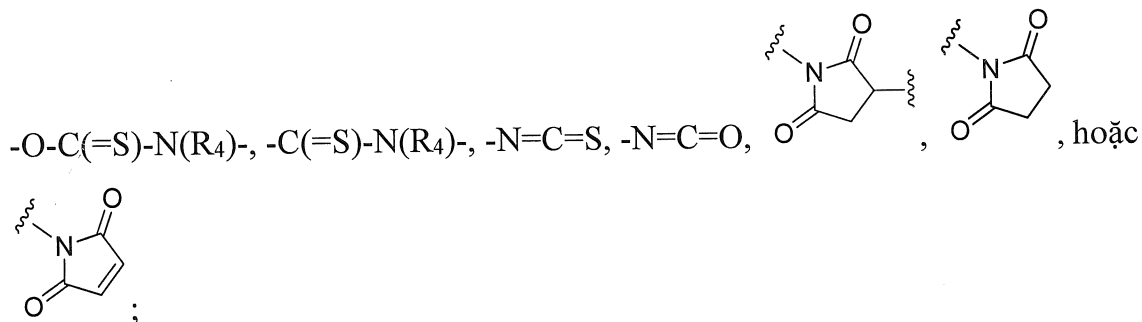
19. Dược phẩm chứa lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh của hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dùng của nó và một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược được dùng.

20. Hợp chất có công thức sau đây:



trong đó:

Z_2 có công thức cấu tạo sau đây: $-Z_{2A}-Z_{2B}-Z_{2C}-Z_{2D}-$, trong đó mỗi Z_{2A} , Z_{2B} , Z_{2C} và Z_{2D} độc lập là không có mặt, gốc axit amin, gốc peptit có từ hai đến hai mươi gốc axit amin, -alkylen-, -alkynylen-, -alkenylen-, -xycloalkylen-, -arylen-, -heteroarylen-, -heteroxycloalkylen-, $-CR_5R_6-$, -O-, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-O-C(=O)-O-$, $-C(=O)-(CH_x)_{p1}-$, $-C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2})_{p3}-$, $-((CH_2)_{p2}-O)_{p3}-$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-S-$, $-C(=S)-NH-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR_4-$, $-N(R_4)-C(=O)-N(R_8)-$, $-N(R_4)-C(=O)O-$, $-N(R_4)-C(=O)-$, $-C(=O)-N(R_4)-$, $-C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, $-O-C(=O)-N(R_4)-$,



A là gốc axit amin tự nhiên hoặc không tự nhiên, hoặc gốc peptit chứa từ hai đến hai mươi gốc axit amin;

W là -O-, -S-, -CR₅R₆-, hoặc -NR₄-;

X là -arylen-, -heteroarylen-, -xycloalkylen-, hoặc -heteroxycloalkylen- được thế hoặc không được thế;

mỗi A₁ và R₁ độc lập là gốc axit amin, gốc peptit có từ hai đến hai mươi gốc axit amin, -alkylen-, -alkynylen-, -alkenylen-, -xycloalkylen-, -arylen-, -heteroarylen-, -heteroxycloalkylen-, -CR₅R₆-, -O-, -C(=O)-, -O-C(=O)-, -C(=O)-O-, -O-C(=O)-O-, -C(=O)-(CH_x)_{p1}-, -C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-, -(CH_x)_{p1}-C(=O)-, -(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-, -(O-(CH₂)_{p2}-)_{p3}-, -((CH₂)_{p2}-O-)_{p3}-, -C(=S)-, -C(=S)-S-, -C(=S)-NH-, -S-C(=S)-, -S-C(=S)-S-, -S-, -SO-, -SO₂-, -NR₄-, -N(R₄)-C(=O)-N(R₈)-, -N(R₄)-C(=O)O-, -N(R₄)-C(=O)-, -C(=O)-N(R₄)-, -C(=O)-N(R₄)-C(=O)-, hoặc -O-C(=O)-NR₄-, trong đó -alkylen-, -alkynylen-, -alkenylen-, -xycloalkylen-, -arylen-, -heteroarylen-, và -heteroxycloalkylen- tùy ý được thế;

A₃ là -CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂-, hoặc -CH₂CH₂CH₂CH₂-;

R₁₇ được chọn từ nhóm gồm oxy, lưu huỳnh, NR₁₈ và CR₅R₆;

R₁₈ được chọn từ nhóm gồm hydro, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxycloalkyl và axyl, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxycloalkyl và axyl tùy ý được thế;

mỗi R₄, R₅, R₆ và R₈ độc lập là hydro, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, hoặc heteroxycloalkyl được thế hoặc không được thế;

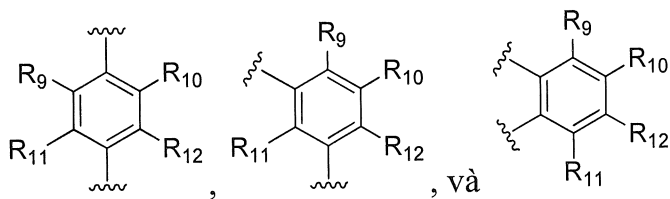
R_{4a} là metyl;

mỗi p₁, p₂ và p₃ độc lập là không, hoặc số nguyên từ một đến một trăm; và x là hai.

21. Hợp chất theo điểm 20, trong đó:

A là gốc peptit được chọn từ nhóm bao gồm gốc valin-xitrulin, xitrulin-valin, lysin-phenylalanin, phenylalanin-lysin, valin-asparagin, asparagin-valin, threonin-asparagin, asparagin-threonin, serin-asparagin, asparagin-serin, phenylalanin-asparagin, asparagin-phenylalanin, leuxin-asparagin, asparagin-leuxin, isoleuxin-asparagin, asparagin-isoleuxin, glyxin-asparagin, asparagin-glyxin, axit glutamic-asparagin, asparagin-axit glutamic, xitrulin-asparagin, asparagin-xitrulin, alanin-asparagin, asparagin-alanin;

X là -arylen- được chọn từ nhóm bao gồm:

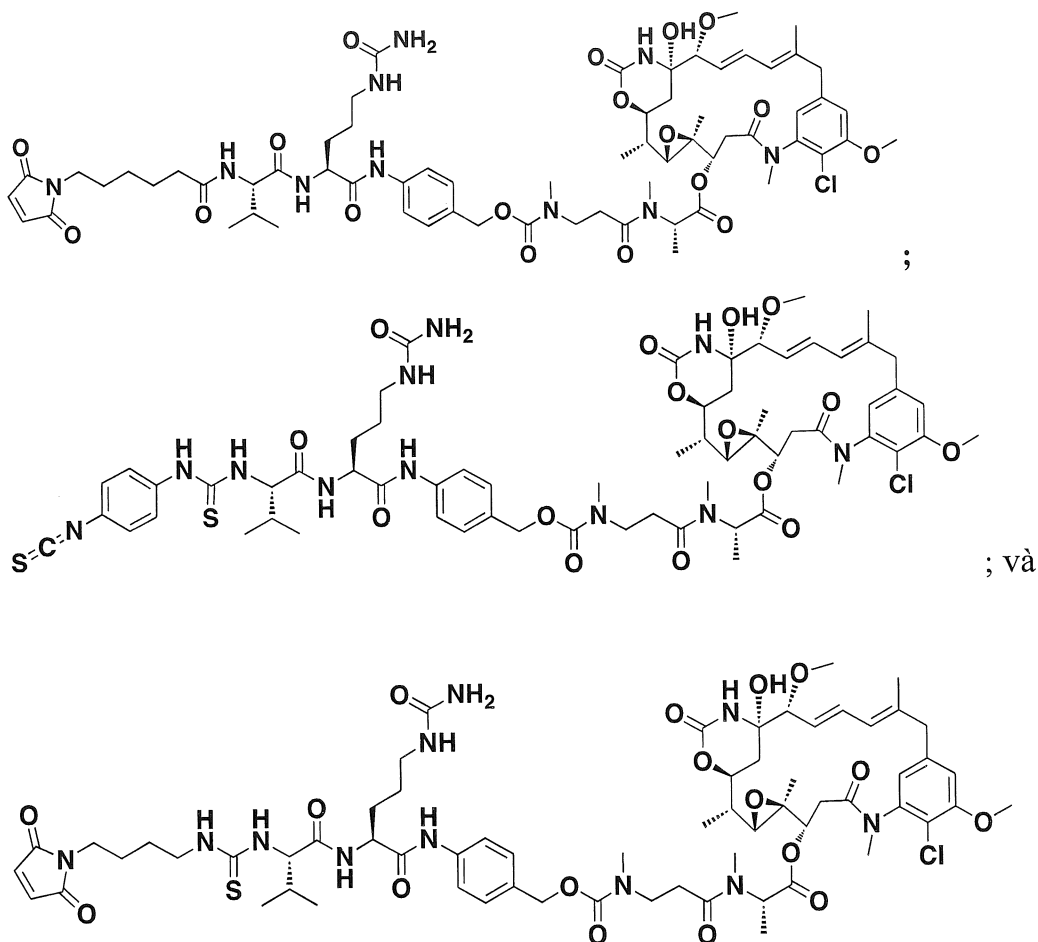


trong đó mỗi R₉, R₁₀, R₁₁ và R₁₂ độc lập là hydro, alkyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxycloalkyl, halogen, NR₁₃R₁₄, nitro, xyano, -OH, -O-C(=O)-R₁₅, -C(=O)-R₁₅, -C(=O)-O-R₁₅, hoặc -C(=O)-NR₁₃R₁₄,

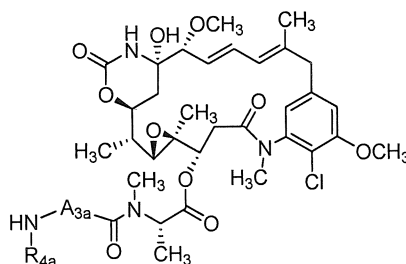
và trong đó, alkyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl và hetetoxycloalkyl này tùy ý được thế;

mỗi R₁₃ và R₁₄ độc lập là hydro hoặc alkyl tùy ý được thế; và R₁₅ là alkyl tùy ý được thế.

22. Hợp chất theo điểm 20, trong đó hợp chất này có công thức cấu tạo được chọn từ nhóm gồm:



23. Hợp chất có công thức sau đây:



trong đó:

A_{3a} là $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{alkylen}-$, $-\text{alkynylen}-$, $-\text{alkenylen}-$, $-\text{xycloalkylen}-$, $-\text{arylen}-$, $-\text{heteroarylen}-$, $-\text{heteroxycloalkylen}-$, $-\text{CR}_5\text{R}_6-$, $-\text{O}-$, $-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-$, $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-$, $-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_x)_{p1}-$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-(\text{CH}_x)_{p1}-$, $-(\text{CH}_x)_{p1}-\text{C}(=\text{O})-$, $-(\text{CH}_x)_{p1}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-$, $-(\text{O}-(\text{CH}_2)_{p2})_{p3}-$, $-((\text{CH}_2)_{p2}-\text{O})_{p3}-$, $-\text{C}(=\text{S})-$, $-\text{C}(=\text{S})-\text{S}-$, $-\text{C}(=\text{S})-\text{NH}-$, $-\text{S}-\text{C}(=\text{S})-$, $-\text{S}-\text{C}(=\text{S})-\text{S}-$, $-\text{S}-$, $-\text{SO}-$, $-\text{SO}_2-$, $-\text{NR}_4-$, $-\text{N}(\text{R}_4)-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{R}_8)-$, $-\text{N}(\text{R}_4)-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{N}(\text{R}_4)-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{R}_4)-$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{R}_4)-\text{C}(=\text{O})-$, hoặc $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}_4-$, trong đó $-\text{alkylen}-$, $-\text{alkynylen}-$, $-\text{alkenylen}-$, $-\text{xycloalkylen}-$, $-\text{arylen}-$, $-\text{heteroarylen}-$ và $-\text{heteroxycloalkylen}-$ tùy ý được thế; và

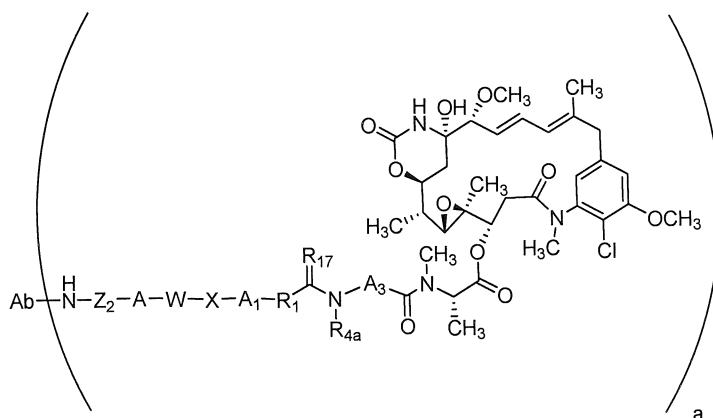
mỗi $p1$, $p2$, và $p3$ độc lập là không, hoặc số nguyên từ một đến một trăm;

x là hai;

mỗi R_4 , R_5 , R_6 và R_8 độc lập là hydro, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, hoặc heterocycloalkyl được thế hoặc không được thế; và

R_{4a} là methyl.

24. Hợp chất có công thức sau đây:



trong đó:

Ab là kháng nguyên hoặc mảnh của nó;

a là số nguyên từ một đến mười;

A là gốc axit amin tự nhiên hoặc không tự nhiên, hoặc gốc peptit chứa từ hai đến hai mươi gốc axit amin;

W là -O-, -S-, -CR₅R₆-, hoặc -NR₄-;

X là -arylen-, -heteroarylen-, -xycloalkylen-, hoặc -heteroxycloalkylen-, trong đó -arylen-, -heteroarylen-, -xycloalkylen- và -heteroxycloalkylen- tùy ý được thế;

mỗi A₁ và R₁ độc lập là gốc axit amin, gốc peptit có từ hai đến hai mươi gốc axit amin, -alkylen-, -alkynylen-, -alkenylen-, -xycloalkylen-, -arylen-, -heteroarylen-, -heteroxycloalkylen-, -CR₅R₆-, -O-, -C(=O)-, -O-C(=O)-, -C(=O)-O-, -O-C(=O)-O-, -C(=O)-(CH_x)_{p1}-, -C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-, -(CH_x)_{p1}-C(=O)-, -(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-, -(O-(CH₂)_{p2})_{p3}-, -((CH₂)_{p2}-O)_{p3}-, -C(=S)-, -C(=S)-S-, -C(=S)-NH-, -S-C(=S)-, -S-C(=S)-S-, -S-, -SO-, -SO₂-, -NR₄-, -N(R₄)-C(=O)-N(R₈)-, -N(R₄)-C(=O)O-, -N(R₄)-C(=O)-, -C(=O)-N(R₄)-, -C(=O)-N(R₄)-C(=O)-, hoặc -O-C(=O)-NR₄-, trong đó -alkylen-, -alkynylen-, -alkenylen-, -xycloalkylen-, -arylen-, -heteroarylen-, và -heteroxycloalkylen- tùy ý được thế;

A₃ là -CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂-, hoặc -CH₂CH₂CH₂CH₂-;

R₁₇ được chọn từ nhóm gồm oxy, lưu huỳnh, NR₁₈ và CR₅R₆;

R₁₈ được chọn từ nhóm gồm hydro, alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxycloalkyl, và axyl, trong đó alkyl, alkynyl, alkenyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, heteroxycloalkyl và axyl tùy ý được thế;

mỗi R₄, R₅, R₆ và R₈ độc lập là hydro, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, hoặc heteroxycloalkyl được thế hoặc không được thế;

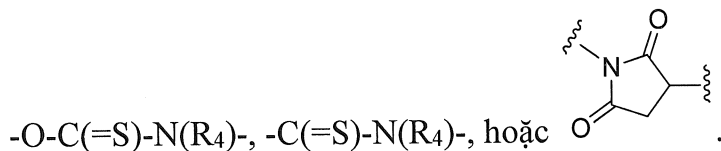
R_{4a} là methyl;

mỗi p₁, p₂ và p₃ độc lập là không, hoặc số nguyên từ một đến một trăm;

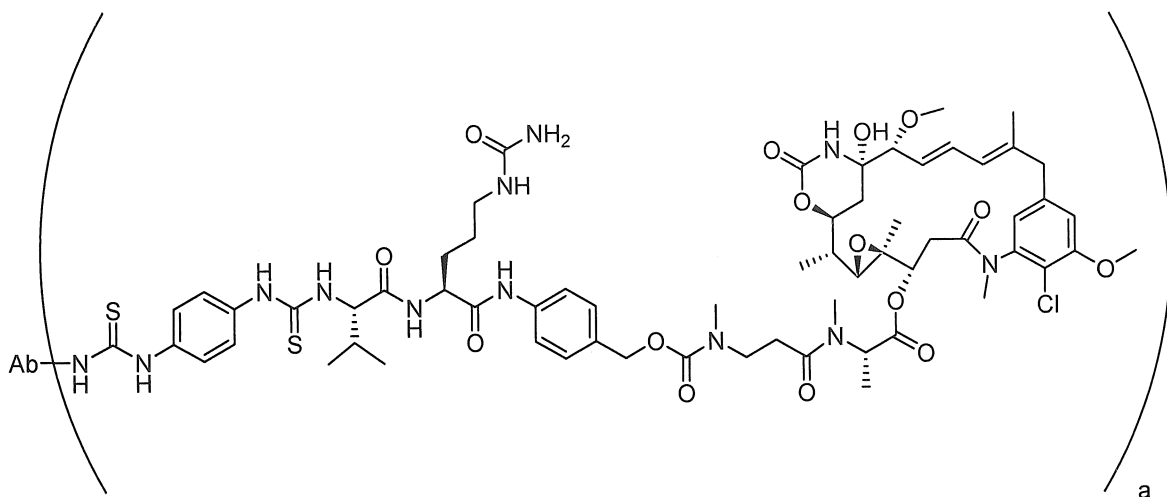
x là hai; và

Z₂ có công thức cấu tạo sau đây: -Z_{2A}-Z_{2B}-Z_{2C}-Z_{2D}-, trong đó mỗi Z_{2A}, Z_{2B}, Z_{2C}, và Z_{2D} độc lập là không có mặt, gốc axit amin, gốc peptit có từ 2 đến 20 gốc axit amin, -alkylen-, -alkynylen-, -alkenylen-, -xycloalkylen-, -arylen-, -heteroarylen-, -heteroxycloalkylen-, -CR₅R₆-, -O-, -C(=O)-, -O-C(=O)-, -C(=O)-O-,

-O-C(=O)-O-, -C(=O)-(CH_x)_{p1}-, -C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-, -(CH_x)_{p1}-C(=O)-,
 -(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-, -(O-(CH₂)_{p2})_{p3}-, -((CH₂)_{p2}-O)_{p3}-, -C(=S)-, -C(=S)-S-, -C(=S)-
 NH-, -S-C(=S)-, -S-C(=S)-S-, -S-, -SO-, -SO₂-, -NR₄-, -N(R₄)-C(=O)-N(R₈)-, -
 N(R₄)-C(=O)O-, -N(R₄)-C(=O)-, -C(=O)-N(R₄)-, -C(=O)-N(R₄)-C(=O)-, -O-C(=O)-
 N(R₄)-,

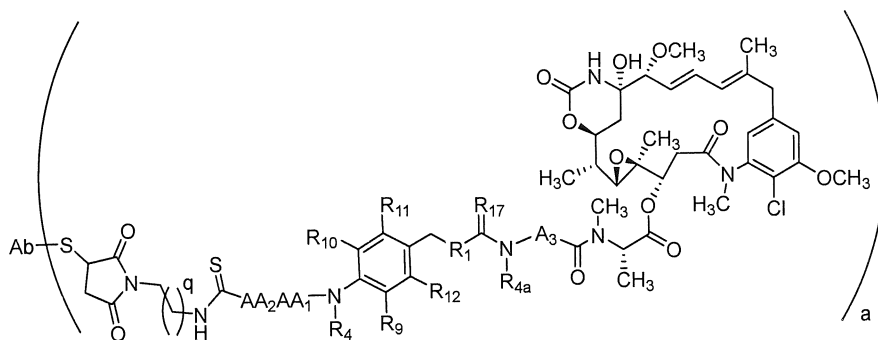


25. Hợp chất theo điểm 24, trong đó hợp chất này có công thức cấu tạo sau:



trong đó a là số nguyên nằm trong khoảng từ một đến mười.

26. Hợp chất theo điểm 9, trong đó hợp chất này có công thức cấu tạo sau:



trong đó:

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

AA₂-AA₁ là gốc peptit được chọn từ nhóm bao gồm gốc valin-xitrulin, xitrulin-valin, lysin-phenylalanin, phenylalanin-lysin, valin-asparagin, asparagin-valin,

threonin-asparagin, asparagin-threonin, serin-asparagin, asparagin-serin, phenylalanin-asparagin, asparagin-phenylalanin, leuxin-asparagin, asparagin-leuxin, isoleuxin-asparagin, asparagin-isoleuxin, glyxin-asparagin, asparagin-glyxin, axit glutamic- asparagin, asparagin-axit glutamic, xitruilin-asparagin, asparagin-xitruilin, alanin-asparagin và asparagin-alanin;

a là số nguyên nằm trong khoảng từ một đến mười;

q là không hoặc số nguyên nằm trong khoảng từ một đến năm;

R_1 là gốc axit amin, gốc peptit có từ hai đến hai mươi gốc axit amin, -alkylen-, -alkynylen-, -alkenylen-, -xycloalkylen-, -arylen-, -heteroarylen-, -heteroxycloalkylen-, $-CR_5R_6-$, -O-, $-C(=O)-$, $-O-C(=O)-$, $-C(=O)-O-$, $-O-C(=O)-O-$, $-C(=O)-(CH_x)_{p1}-$, $-C(=O)-O-(CH_x)_{p1}-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-$, $-(CH_x)_{p1}-C(=O)-O-$, $-(O-(CH_2)_{p2})_{p3}-$, $-((CH_2)_{p2}-O-)_{p3}-$, $-C(=S)-$, $-C(=S)-S-$, $-C(=S)-NH-$, $-S-C(=S)-$, $-S-C(=S)-S-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR_4-$, $-N(R_4)-C(=O)-N(R_8)-$, $-N(R_4)-C(=O)O-$, $-N(R_4)-C(=O)-$, $-C(=O)-N(R_4)-$, $-C(=O)-N(R_4)-C(=O)-$, hoặc $-O-C(=O)-NR_4-$, trong đó -alkylen-, -alkynylen-, -alkenylen-, -xycloalkylen-, -arylen-, -heteroarylen-, và -heteroxycloalkylen- tùy ý được thế;

A_3 là $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2-$, hoặc $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$;

R_{17} được chọn từ nhóm gồm oxy, lưu huỳnh, NR_{18} và CR_5R_6 ;

mỗi R_4 , R_5 , R_6 , và R_8 độc lập là hydro, hoặc alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, và heteroxycloalkyl được thế hoặc không được thế;

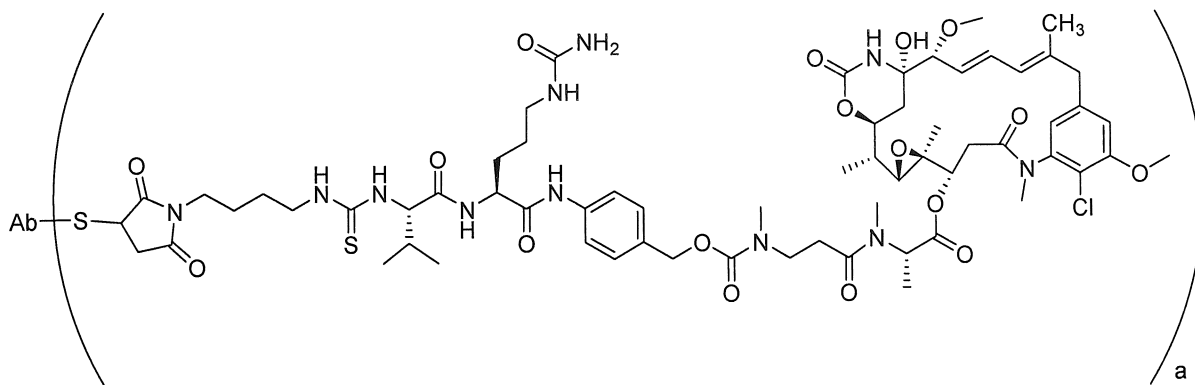
R_{4a} là metyl;

mỗi R_9 , R_{10} , R_{11} , và R_{12} độc lập là hydro, halogen, $NR_{13}R_{14}$, nitro, xyano, -OH, $-O-C(=O)-R_{15}$, $-C(=O)-R_{15}$, $-C(=O)-O-R_{15}$, $-C(=O)-NR_{13}R_{14}$, hoặc alkyl, xycloalkyl, aryl, heteroaryl, và heteroxycloalkyl được thế hoặc không được thế;

mỗi R_{13} và R_{14} độc lập là hydro hoặc alkyl tùy ý được thế; và

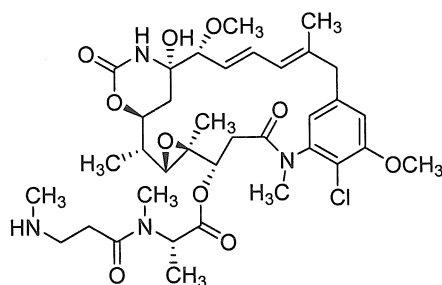
R_{15} là alkyl tùy ý được thế.

27. Hợp chất theo điểm 26, trong đó hợp chất này có công thức cấu tạo sau:

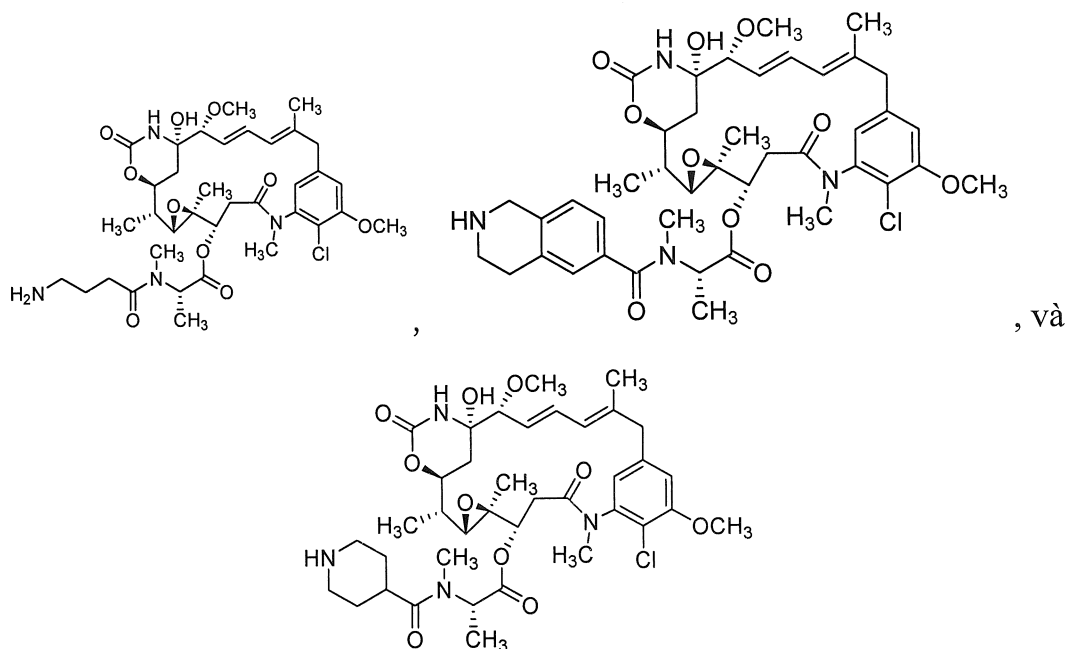


trong đó a là số nguyên nằm trong khoảng từ một đến mười.

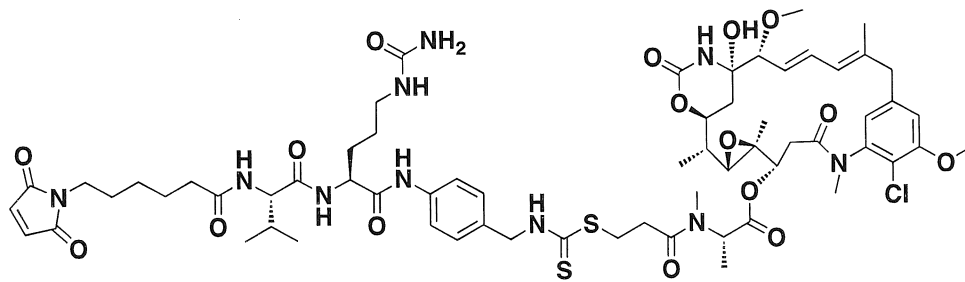
28. Hợp chất theo điểm 23, trong đó hợp chất này có công thức cấu tạo sau:



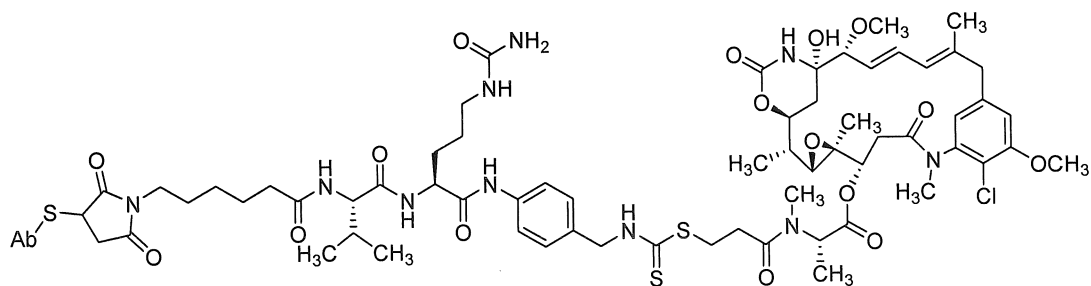
29. Hợp chất có công thức cấu tạo được chọn từ nhóm bao gồm:



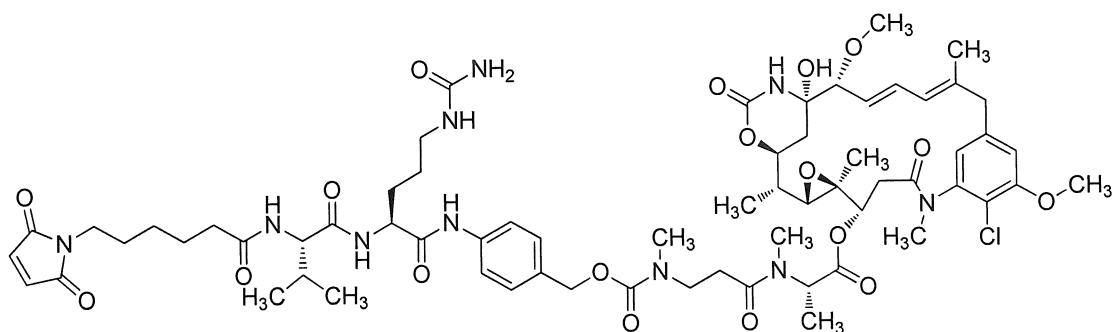
30. Hợp chất có công thức cấu tạo sau đây:



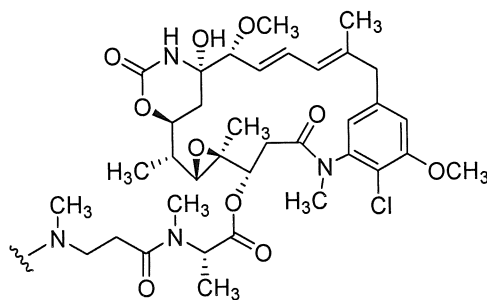
31. Hợp chất có công thức cấu tạo sau đây:



32. Hợp chất có công thức cấu tạo sau đây:



33. Thẻ liên hợp kháng thể-thuốc bao gồm kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được tiếp hợp với tải trọng của hợp chất có công thức sau đây:



1/10

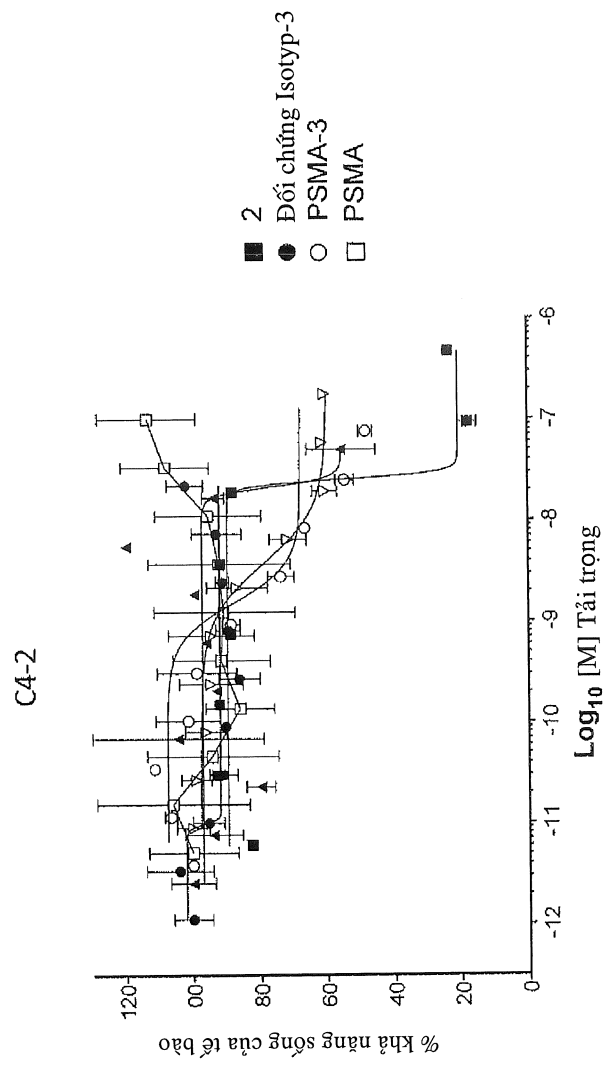


Fig. 1A

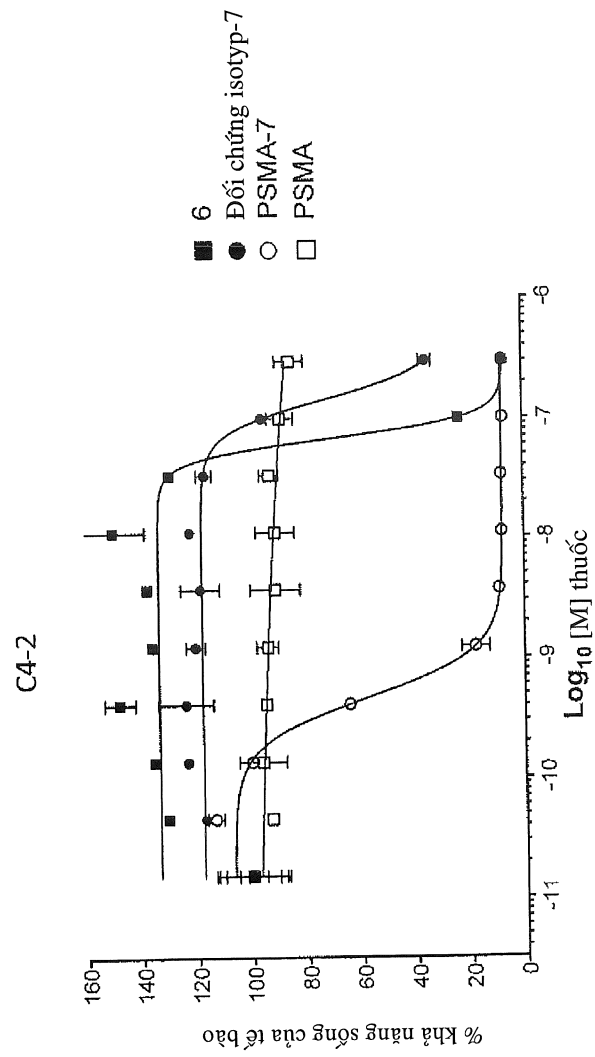


Fig. 1B

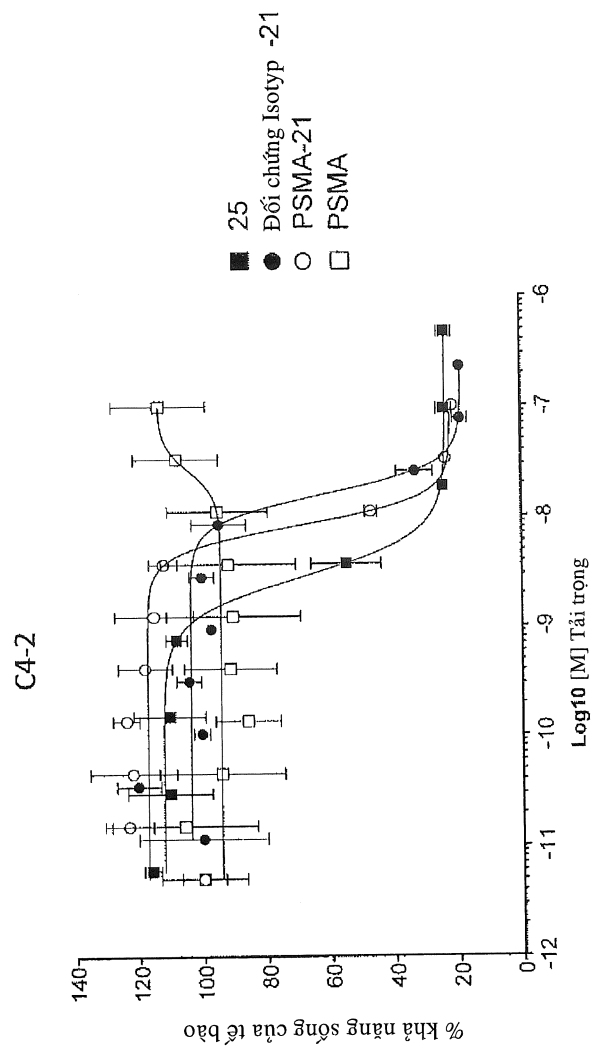


Fig. 1C

4/10

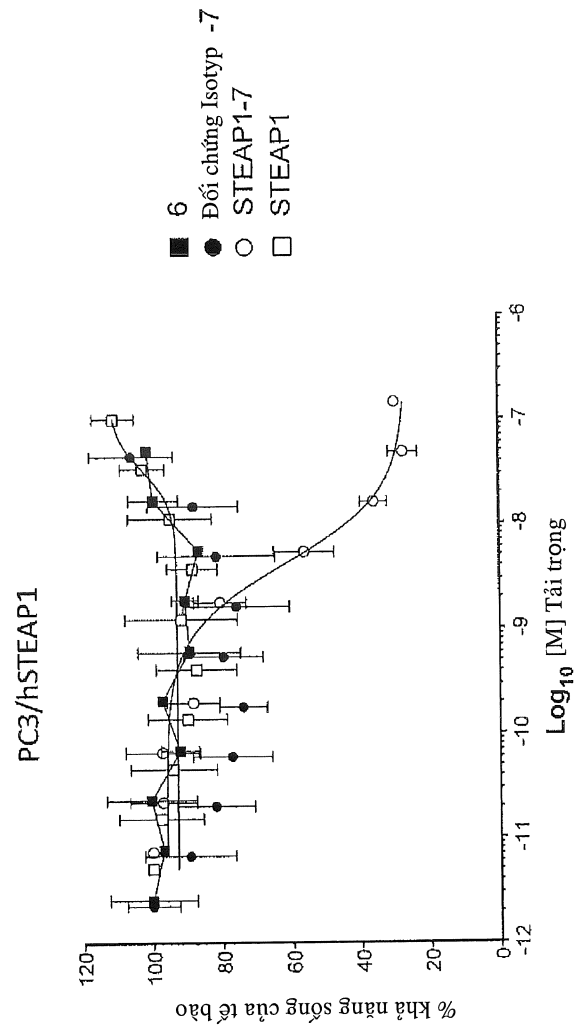


Fig. 2

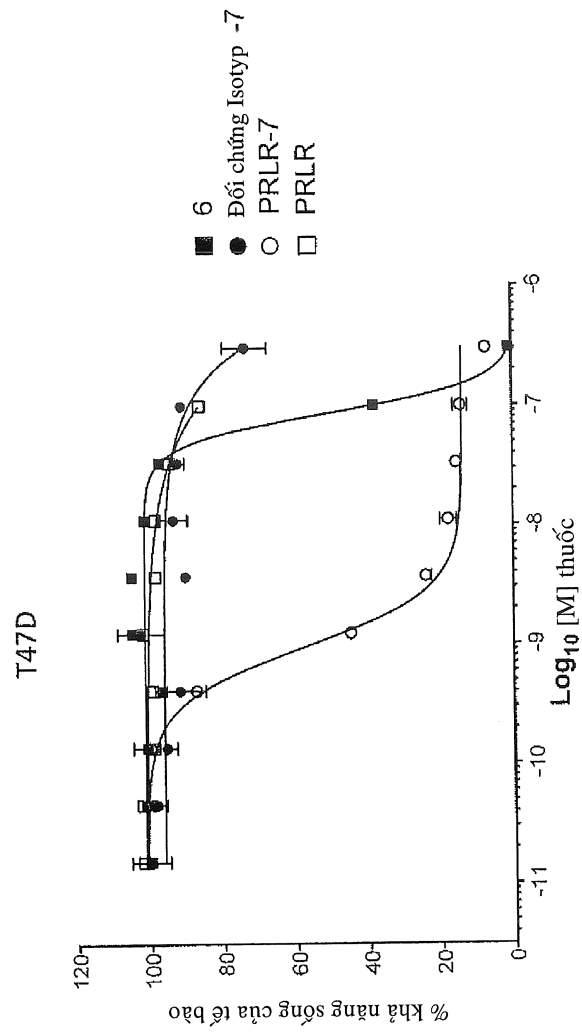


Fig. 3

6/10

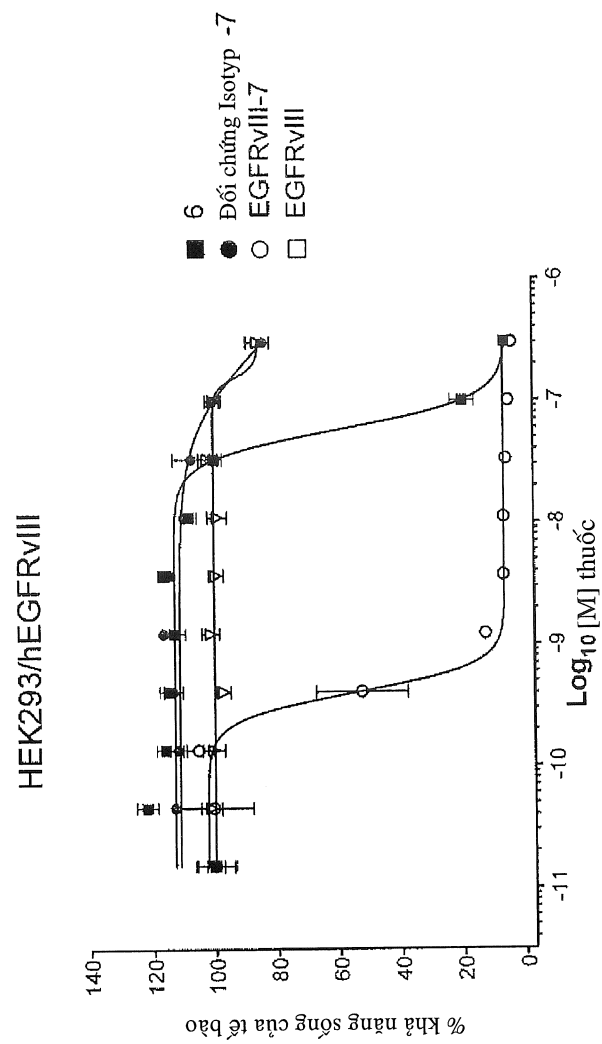


Fig. 4

7/10

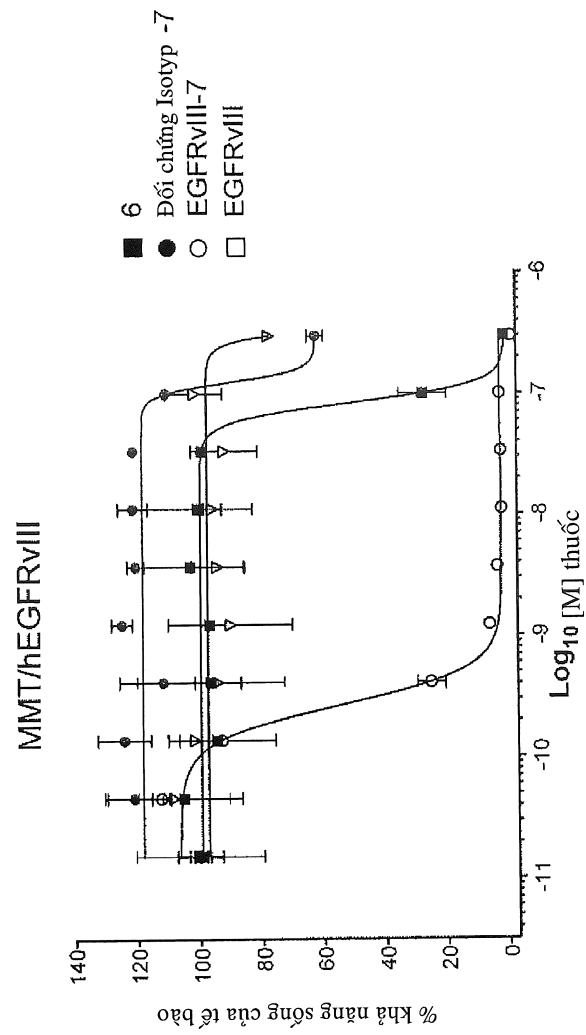


Fig. 5

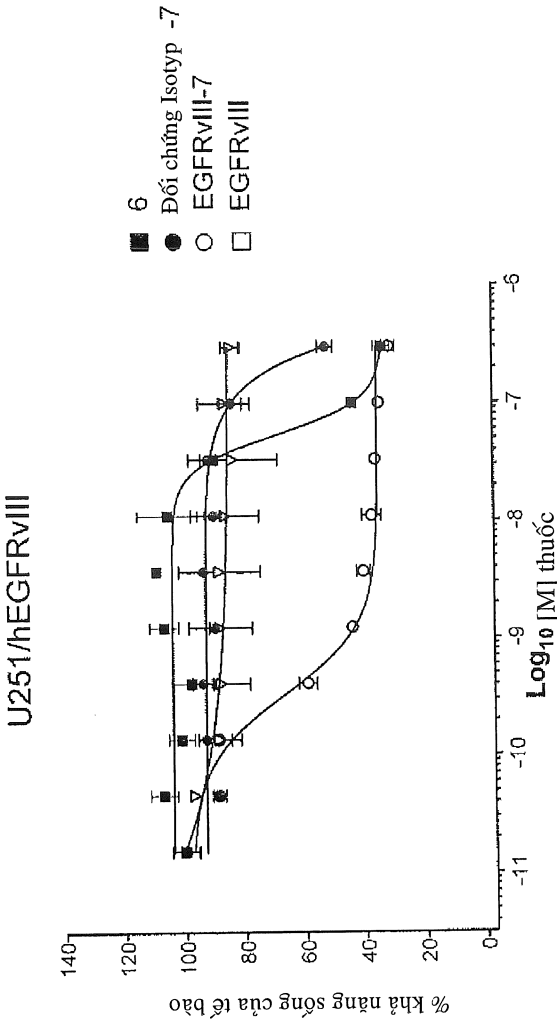


Fig. 6

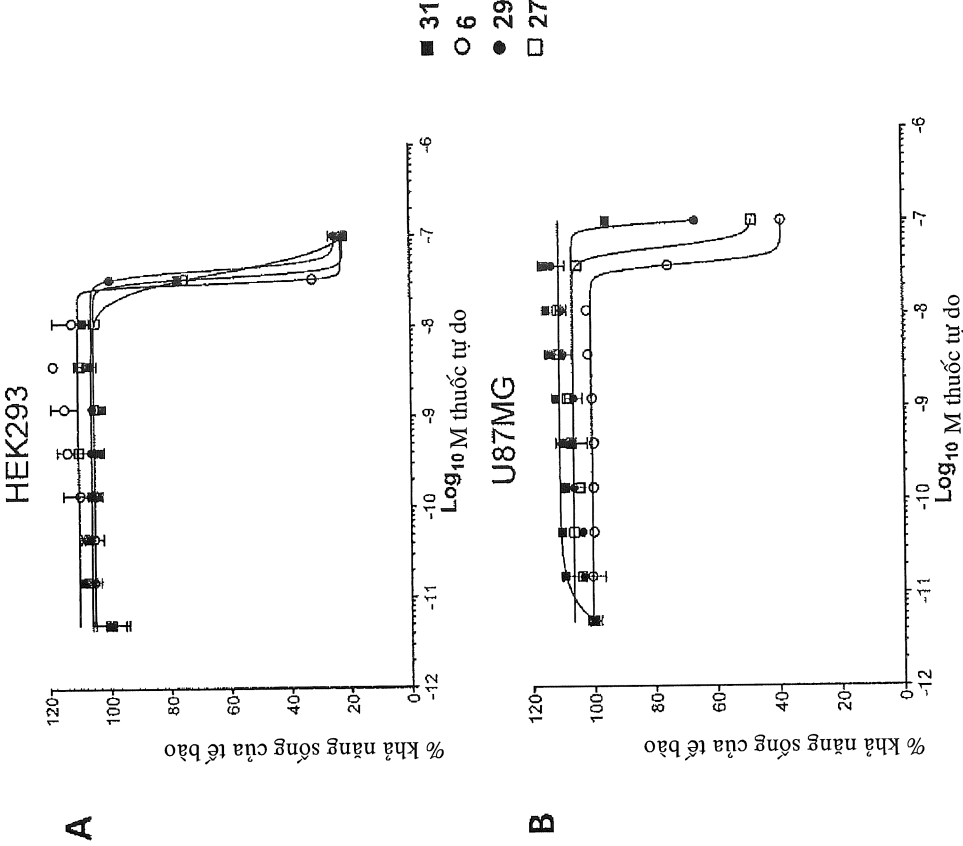


Fig. 7

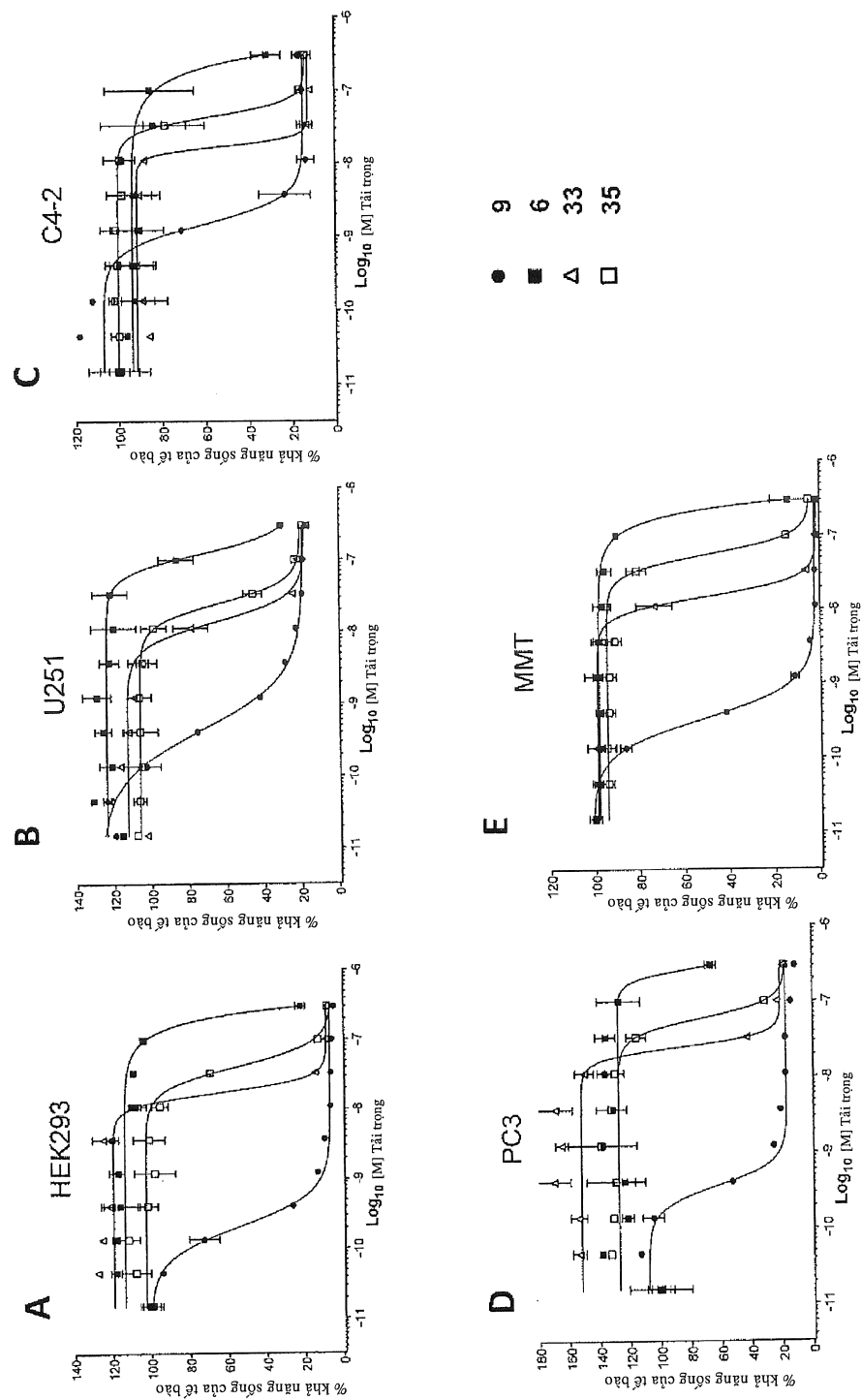


Fig. 8

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.

<120> HỢP CHẤT DÙNG ĐỂ LÀM GIẢM SỰ TĂNG SINH CỦA KHỐI U VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

<130> 1550A-WO

<140> PCT/US14/29757

<141> 2014-03-14

<150> 61/792,216

<151> 2013-03-15

<160> 8

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 122

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 1

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly		
1				5					10					15			
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Pro	Phe	Ser	Ser	Tyr		
			20					25					30				
Asp	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Thr	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val		
		35				40						45					
Ser	Ala	Ile	Gly	Thr	Ala	Gly	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Pro	Gly	Ser	Val	Lys		
	50					55					60						
Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Glu	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr	Leu		
65					70					75					80		
Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Gly	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala		
				85				90						95			
Arg	Gly	Asp	Tyr	Val	Trp	Gly	Thr	Tyr	Arg	Pro	Leu	Phe	Asp	Tyr	Trp		
			100					105					110				
Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
		115					120										

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 2

Gly Phe Pro Phe Ser Ser Tyr Asp
 1 5

<210> 3

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 3

Ile Gly Thr Ala Gly Ala Thr
 1 5

<210> 4

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 4

Ala Arg Gly Asp Tyr Val Trp Gly Thr Tyr Arg Pro Leu Phe Asp Tyr
 1 5 10 15

<210> 5

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 5

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser Gln Gly Ile Asn Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 6

<211> 6

<212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 6
 Gln Gly Ile Asn Asn Tyr
 1 5

<210> 7
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 7
 Ala Ala Ser
 1

<210> 8
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 8
 Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
 1 5