(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) **1-0036293**

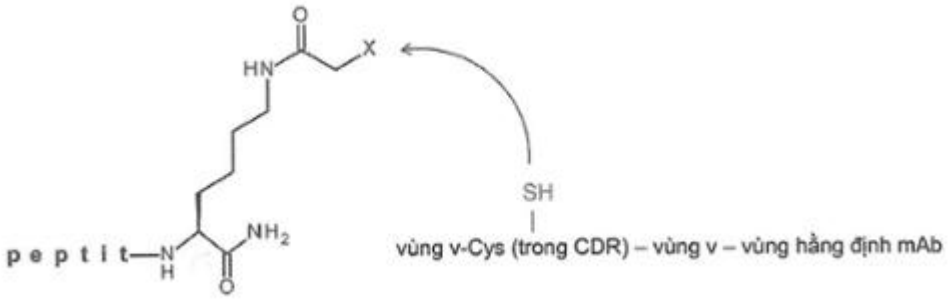
(51)[2017.01] **C07K 14/47**; A61K 38/17; A61K 38/22; A61K 45/06; A61K 47/68; C07K 16/24; A61P 3/04; A61P 3/06; A61P 3/08; A61P 3/10; A61K 38/04; A61P 3/00

(13) **B**

(21) 1-2019-02759
(22) 26/10/2017
(86) PCT/US2017/058455 26/10/2017
(87) WO/2018/081370 03/05/2018
(30) 62/413,613 27/10/2016 US; 62/413,586 27/10/2016 US
(45) 25/07/2023 424
(43) 25/10/2019 379A
(73) JANSSEN PHARMACEUTICA NV (BE)
Turnhoutseweg 30 B-2340 Beerse, BE
(72) MACIELAG, Mark (US); PATCH, Raymond, J. (US); ZHANG, Rui (CN); CASE, Martin, A. (GB); RANGWALA, Shamina, M. (US); LEONARD, James, N. (US); CAMACHO, Raul, C. (US); HUNTER, Michael, J. (US); D'AQUINO, Katharine, E. (US); EDWARDS, Wilson (US); SWANSON, Ronald, V. (US); JIAN, Wenying (CN); ZHANG, Yue-Mei (US); WALL, Mark (CA); CHI, Ellen (US).
(74) Công ty Cổ phần Sở hữu công nghiệp INVESTIP (INVESTIP)

(54) THỂ LIÊN HỢP BAO GỒM KHÁNG THỂ ĐƠN DÒNG HOẶC MẢNH LIÊN KẾT KHÁNG NGUYÊN CỦA NÓ ĐƯỢC GHÉP VỚI PEPTIT TYROSIN TYROSIN VÒNG, VÀ DƯỢC PHẨM BAO GỒM THỂ LIÊN HỢP NÀY

(57) Sáng chế bao gồm liên hợp bao gồm kháng thể đơn dòng được tiếp hợp với peptit PYY vòng. Sáng chế cũng đề cập đến các chế phẩm dược và các phương pháp sử dụng chúng. Các liên hợp mới này hữu ích trong việc phòng ngừa, điều trị hoặc làm giảm nhẹ bệnh và rối loạn được bộc lộ trong bản mô tả này.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế nhìn chung đề cập đến các liên hợp mới là peptit tyrosin tyrosin (PYY) vòng ghép với kháng thể là các chất điều hòa của thụ thể của neuropeptit Y2. Sáng chế cũng đề cập đến các chế phẩm dược và các phương pháp sử dụng chúng. Các hợp chất ghép kháng thể mới này hữu ích trong việc phòng ngừa, điều trị hoặc làm giảm nhẹ bệnh và rối loạn, như bệnh béo phì, đái tháo đường týp 2, hội chứng chuyển hóa, kháng insulin, và rối loạn mỡ máu, bên cạnh các bệnh khác.

Tham chiếu danh sách liệt kê trình tự được nộp bằng đường điện tử

Đơn xin cấp bằng sáng chế này bao gồm danh sách liệt kê trình tự được nộp bằng đường điện tử qua EFS-Web theo định dạng ASCII với tên tập tin là "PRD3436 Sequence Listing" ("Danh sách liệt kê trình tự PRD3411) và ngày tạo là 23 tháng 10 năm 2017, dung lượng 135kb. Danh sách liệt kê trình tự nộp qua EFS-Web là một phần của bản mô tả và sau đây được kết hợp toàn bộ vào đây bằng viện dẫn. Trong trường hợp có bất kỳ sự thiếu nhất quán nào xảy ra với cấu trúc có các SỐ ID TRÌNH TỰ: 1-156 giữa thông tin được mô tả trong bản mô tả này và danh sách liệt kê trình tự được nộp bằng đường điện tử qua EFS-Web có tiêu đề "PRD3436 Sequence Listing", thông tin trong bản mô tả này sẽ được sử dụng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Thụ thể neuropeptit Y (NPY) được hoạt hóa bởi nhóm bao gồm các chất chủ vận peptit gần gũi là "họ NPY", chúng có các ái lực khác nhau đối với mỗi kiểu phụ thụ thể. NPY, peptit tyrosin-tyrosin (PYY) và polypeptit tuyến tụy (PP), có tất cả 36 axit amin tạo thành chiều dài, là các chất chủ vận cho họ thụ thể NPY, NPY là chất dẫn truyền thần kinh, được tổng hợp, đồng lưu trữ và giải phóng với norepinephrin và epinephrin. NPY là một trong những peptit dồi dào nhất và được phân bố rộng rãi nhất trong hệ thần kinh trung ương (CNS) của con người và động vật gặm nhấm, và được biểu hiện ở những khu vực của não liên quan đến cung cấp thức ăn và căng thẳng. Trong hệ thống thần kinh ngoại vi, các tế bào thần kinh chứa NPY chủ yếu là tế bào thần kinh giao cảm. PYY chủ yếu được tổng hợp và phóng thích bởi các tế bào nội tiết ruột. Việc phân tách NPY và PYY bằng proteaza huyết thanh nội mô, đi-peptiđyl peptiđaza IV (DPP-IV), đã tạo NPY_{3-36} và PYY_{3-36} là các phối tử chọn lọc cho các

kiểu phụ Y2 và Y5 của họ thụ thể NPY. PP chủ yếu được tìm thấy ở các tế bào tiểu đảo tuyến tụy khác với các tế bào chứa insulin, glucagon hoặc somatostatin.

Cho đến nay đã nhận dạng được năm thụ thể NPY khác nhau, bốn trong số này được biết là phù hợp với sinh lý học của người. Các thụ thể Y1, Y2 và Y5 ưu tiên liên kết với NPY và PYY, trong khi thụ thể Y4 ưu tiên liên kết với PP. Các thụ thể Y2 và Y5 cũng được hoạt hóa mạnh mẽ bởi NPY_{3-36} và PYY_{3-36}. Nhìn chung, họ NPY bao gồm các phối tử sở hữu tính chọn lọc biến đổi cho mỗi thể đồng dạng của thụ thể NPY, với việc PYY_{3-36} trước đây được báo cáo là có tính chọn lọc từ nhẹ đến nặng cho thể đồng dạng Y2. Mỗi thụ thể trong các thụ thể này được ghép cặp để ức chế ađenylat xyclaza qua Gαi nhạy độc tố bệnh ho gà.

PYY được tiết từ các tế bào L nội tiết để đáp ứng với thức ăn, và cụ thể sau khi tiêu hóa chất béo. PYY_{1-36} chiếm ưu thế khi ở trạng thái đói, còn PYY_{3-36} là dạng chủ yếu được phát hiện sau khi ăn ở người, với nồng độ trong huyết tương tương thích ngược với lượng calo tiêu thụ. PYY_{3-36} đã cho thấy là làm giảm lượng thức ăn thu nạp ở người, khỉ, chuột, thỏ và chuột nhắt (Batterham RL và cộng sự, *Nature* 08/08/2002; 418(6898):650-4; Batterham RL và cộng sự, *N Engl J Med* ((Tạp chí y khoa New England) 04/09/2003; 349(10):941-8; Challis BG và cộng sự, *Biochem Biophys Res Commun* (Truyền thông nghiên cứu hóa sinh và lý sinh) 28/11/2003;311(4):915-9). Tác dụng gây chán ăn của PYY_{3-36} được cho là qua trung gian Y2, dựa trên liên kết ưu tiên tại thụ thể này và sự mất hiệu quả trong nuôi ăn chuột thiếu Y2 (Batterham RL, và cộng sự, *Nature* 08/08/2002; 418(6898):650-4). Tiêm PYY3-36 trong khu vực sợi vòng cung (Intra-arcuate) làm giảm lượng thu nạp thức ăn ở chuột và chuột nhắt (Batterham và cộng sự, *Nature* 08/08/2002; 418(6898):650-4), gợi ý rằng sự gắn kết của các thụ thể Y2 vùng dưới đồi có thể là trung gian tạo nên các tác dụng này. Các tác dụng cấp tính đối với việc cho ăn cũng cho thấy là đã chuyển thành các tác dụng phụ thuộc liều đối với cân nặng cơ thể ở chuột *ob/ob*, chuột DIO và chuột Zucker *fa/fa* (Pittner RA và cộng sự, *Int J Obes relat Metab Disord* (Tạp chí quốc tế về Rối loạn chuyển hóa liên quan đến bệnh béo phì) 28/0/2004; (8):963-71). Ngoài ra, PYY_{3-36} đã cho thấy là cải thiện khả năng sử dụng glucoza qua trung gian insulin và độ nhạy insulin ở loài gặm nhấm DIO (Vrang N và cộng sự, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* (Tạp chí Sinh lý học Hoa Kỳ. Sinh lý học điều hòa, tích hợp và so sánh) tháng 8; 291(2):R367-75). Phẫu thuật giảm cân làm tăng phản ứng miễn dịch với PYY lưu hành (le Roux CW và cộng sự, *Ann Surg* (Biên niên sử về phẫu thuật 01/2006; 243(1);108-14), điều này dường như góp phần vào việc giảm cân hậu phẫu.

Với vai trò trong việc kiểm soát cảm giác ngon miệng và lượng thu nạp thức ăn cũng như tác dụng chống xuất tiết và hỗ trợ hấp thụ ở đường ruột - dạ dày ở động vật có vú, PYY_{3-36} có thể có hiệu quả trong điều trị bệnh béo phì và các tình trạng liên quan trong một số rối loạn đường ruột - dạ dày. Tuy nhiên, việc sử dụng PYY_{3-36} làm thuốc điều trị bị giới hạn bởi cơ chế chuyển hóa nhanh và thời gian bán thải lưu hành ngắn ngủi của nó (Torang và cộng sự, Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. (Tạp chí Sinh lý học Hoa Kỳ. Sinh lý học điều hòa, tích hợp và so sánh) 310:R866-R874 (2016)).

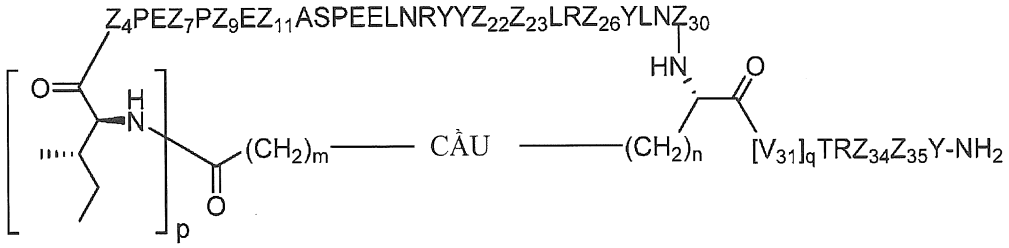
Do đó, tốt hơn là tạo chất tương tự PYY hoặc chất dẫn xuất của nó với độ ổn định chuyển hóa và mức dược động học được cải thiện so với PYY_{3-36}. Các chất dẫn xuất này, với thời gian bán thải kéo dài *trong cơ thể sống*, sẽ tạo sự điều hòa thụ thể Y2 với thời gian tác dụng lâu hơn, khiến cho chúng phù hợp làm thuốc điều trị cho các đối tượng cần điều hòa.

Phần trình bày trên đây chỉ nhằm giúp hiểu thêm về bản chất của các vấn đề tồn tại trong ngành, không nên hiểu là sự thừa nhận đối với kỹ thuật trước đây, cũng không nên cho rằng việc nêu tài liệu tham chiếu bất kỳ là sự thừa nhận rằng tài liệu tham chiếu này cấu thành "kỹ thuật trước đây" đối với đơn xin cấp bằng sáng chế này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Trong một phương án chung, sáng chế đề cập đến các hợp chất mới là peptit tyrosin tyrosin (PYY) vòng ghép kháng thể, là các chất điều hòa của thụ thể của neuropeptit Y2.

Trong bản mô tả này, sáng chế đề cập đến liên hợp bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó được ghép với peptit PYY vòng, trong đó peptit PYY vòng được biểu diễn theo Công thức I hoặc chất dẫn xuất hoặc muối dược dụng của nó:



Công thức I

trong đó

p bằng 0 hoặc 1;

m bằng 0, 1, 2, 3, 4, hoặc 5;

n bằng 1, 2, 3 hoặc 4;

q bằng 0 hoặc 1; miễn là q chỉ bằng 1 khi không có Z_{30};

CẦU là -Ph-CH_2-S-, -triazolyl-, -NHC(O)CH_2S-, -SCH_2C(O)NH-, -$(OCH_2CH_2)_2$NHC(O)CH_2S, -NHC(O)-, hoặc -CH_2S-;

Z_4 là K, A, E, S, hoặc R;

Z_7 là A hoặc K;

Z_9 là G hoặc K;

Z_{11} là D hoặc K;

Z_{22} là A hoặc K;

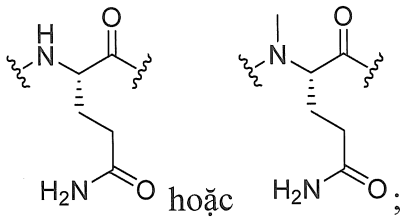
Z_{23} là S hoặc K;

Z_{26} là A hoặc H;

Z_{30} là L, W, không có mặt, hoặc K;

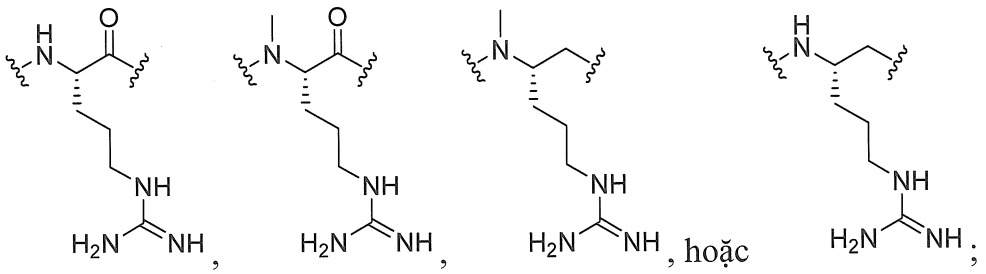
miễn là Z_{30} chỉ không có mặt khi q bằng 1;

Z_{34} là



;

Z_{35} là



;

trong đó chất dẫn xuất là hợp chất có công thức I được biến đổi bằng một hoặc nhiều quy trình được chọn từ nhóm bao gồm amit hóa, glycosyl hóa, carbamyl hóa, sulfat hóa, phosphoryl hóa, tạo vòng, liên kết với chất béo, hoặc gắn kết với polyetylen glycol (pegylation). Trong một số phương án, peptit PYY vòng là hợp chất có công thức I hoặc chất dẫn xuất của peptit PYY vòng có có công thức I được biến đổi bằng một hoặc nhiều

quy trình được chọn từ nhóm bao gồm amit hóa, liên kết với chất béo, gắn kết với polyetylen glycol (pegylation), hoặc muối dược dụng của nó.

Trong một số phương án, peptit PYY vòng được biểu diễn theo công thức I hoặc chất dẫn xuất hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

p bằng 0 hoặc 1;

m bằng 0, 1, 2, 3, 4, hoặc 5;

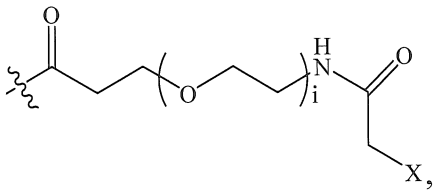
n bằng 1, 2, 3 hoặc 4;

q bằng 0 hoặc 1; miễn là q chỉ bằng 1 khi không có Z_{30};

CẦU là -Ph-CH_2-S-, -triazolyl-, -NHC(O)CH_2S-, -SCH_2C(O)NH_2-, -$(OCH_2CH_2)_2$NHC(O)CH_2S, -NHC(O)-, hoặc -CH_2S-;

Z_4 là K, A, E, S, hoặc R;

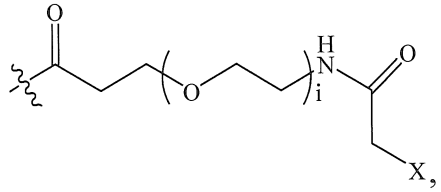
Z_7 là A hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này tùy chọn được thay thế bằng



trong đó i là số nguyên bằng từ 0 đến 24, và X = Br, I hoặc Cl,

-C(O)CH_2Br, -C(O)CH_2I, hoặc -C(O)CH_2Cl;

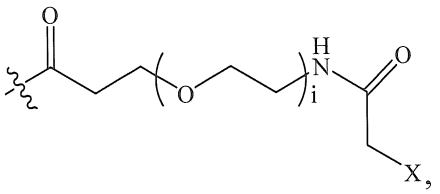
Z_9 là G hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này tùy chọn được thay thế bằng



trong đó i là số nguyên bằng từ 0 đến 24, và X = Br, I hoặc Cl,

-C(O)CH_2Br, -C(O)CH_2I, hoặc -C(O)CH_2Cl;

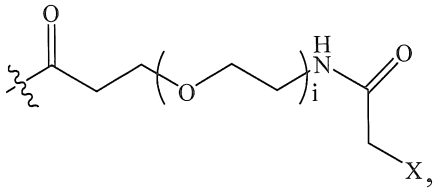
Z_{11} là D hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này tùy chọn được thay thế bằng



trong đó i là số nguyên bằng từ 0 đến 24, và X = Br, I hoặc Cl,

-C(O)CH_2Br, -C(O)CH_2I, hoặc -C(O)CH_2Cl;

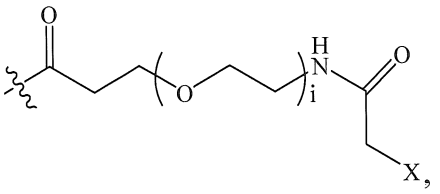
Z_{22} là A hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này tùy chọn được thay thế bằng



trong đó i là số nguyên bằng từ 0 đến 24, và X = Br, I hoặc Cl,

-C(O)CH_2Br, -C(O)CH_2I, hoặc -C(O)CH_2Cl;

Z_{23} là S hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này tùy chọn được thay thế bằng

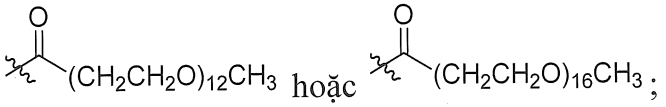


trong đó i là số nguyên bằng từ 0 đến 24, và X = Br, I hoặc Cl,

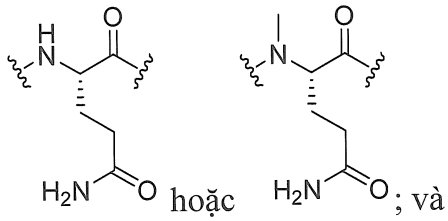
-C(O)CH_2Br, -C(O)CH_2I, hoặc -C(O)CH_2Cl;

Z_{26} là A hoặc H;

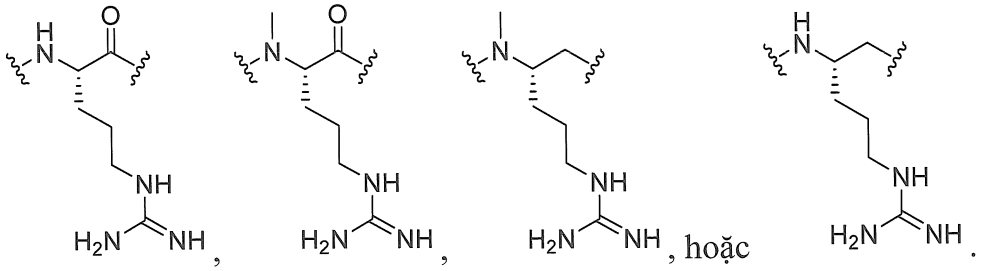
Z_{30} là L hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này được thay thế bằng



Z_{34} là



Z_{35} là



Trong một số phương án, peptit PYY vòng được biểu diễn theo công thức I hoặc chất dẫn xuất hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

p bằng 0 hoặc 1;

m bằng 0, 1, 2, 3, hoặc 5;

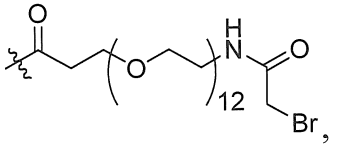
n bằng 1, 2, hoặc 4;

q bằng 0 hoặc 1; miễn là q có thể chỉ bằng 1 khi không có Z_{30};

CẦU là -Ph-CH_2-S-, -triazolyl-, -NHC(O)CH_2S-, -$(OCH_2CH_2)_2$NHC(O)CH_2S, -NHC(O)-, hoặc -CH_2S-;

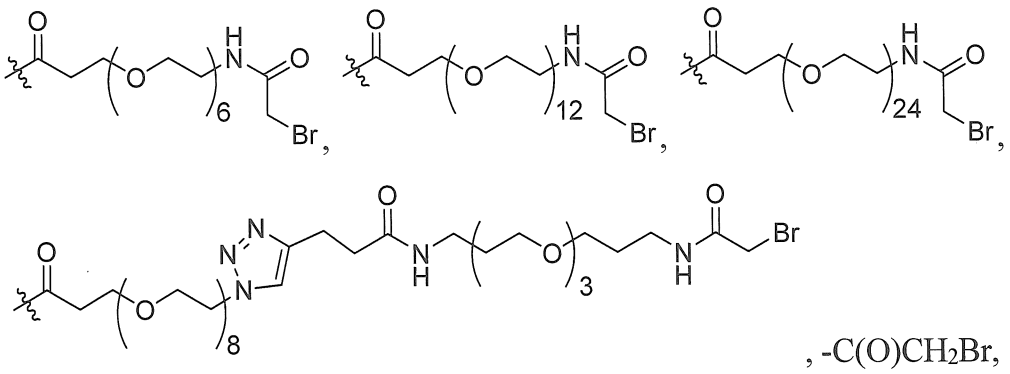
Z_4 là K, A, E, S, hoặc R;

Z_7 là A hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này được thay thế bằng



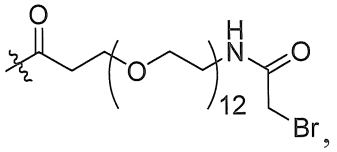
Z_9 là G hoặc K;

Z_{11} là D hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này được thay thế bằng

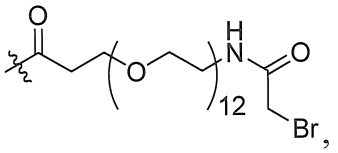


, -C(O)CH$_2$Br,

Z_{22} là A hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này được thay thế bằng

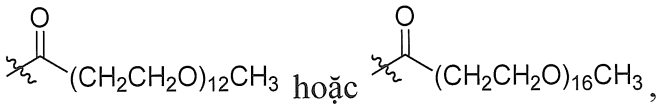


Z_{23} là S hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này được thay thế bằng

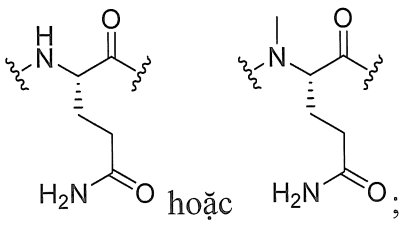


Z_{26} là A hoặc H;

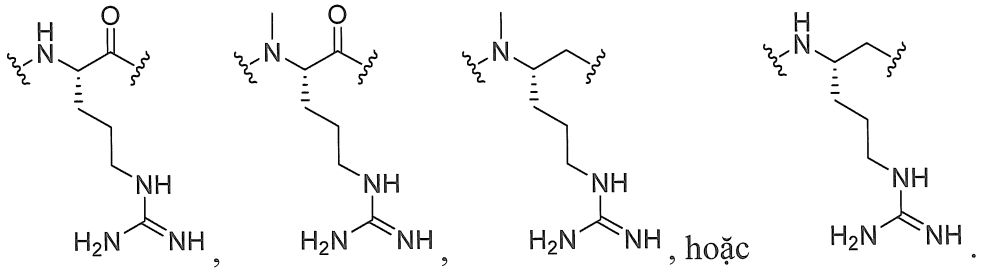
Z_{30} là L hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này được thay thế bằng



Z_{34} là



Z_{35} là



Trong một số phương án, peptit PYY vòng được chọn từ nhóm bao gồm các SỐ ID TRÌNH TỰ: 73-100 và 147-156 hoặc muối dược dụng của chúng.

Trong một số phương án, kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó liên kết cộng hóa trị với peptit PYY vòng ở vị trí đơn phân lysin của peptit PYY vòng qua cầu nối. Cầu nối, ví dụ, bao gồm cầu nối được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol (PEG)8-triazolyl-CH_2CH_2CO-PEG4, chuỗi PEG gồm 2-24 đơn vị PEG, chuỗi alkyl chứa 2-10 nguyên tử carbon, $(Gly_4Ser)_j$ trong đó j = 1-4, $(AlaPro)_u$ trong đó u = 1-10, và liên kết.

Trong một số phương án, chỉ một trong các Z_7, Z9, Z_{11}, Z_{22} và Z_{23}trong công thức I là lysin, và lysin được liên kết với đơn phân cysteine của kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó qua cầu nối.

Sáng chế cũng cung cấp liên hợp bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó được ghép với peptit PYY vòng, trong đó liên hợp bao gồm trình tự được chọn từ nhóm bao gồm các SỐ ID TRÌNH TỰ: 102-127 hoặc muối dược dụng của nó, trong đó mAb là kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, và $]_2$ là 1 hoặc 2 peptit PYY vòng được liên kết cộng hóa trị với mAb.

Trong một số phương án, kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng xác định bổ sung chuỗi nặng 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3 và vùng xác định bổ sung chuỗi nhẹ 1 (LCDR1), LCDR2 và LCDR3, có các trình tự polypeptit có SỐ ID TRÌNH TỰ lần lượt là 141, 142, 143, 144, 145 và 146. Trong một số phương án, kháng thể đơn dòng được phân lập bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng (VH) có trình tự polypeptit có SỐ ID TRÌNH TỰ: 137 và miền biến đổi chuỗi nhẹ (VL) có trình tự polypeptit có SỐ ID TRÌNH TỰ: 139. Trong một số phương án, kháng thể đơn dòng được phân lập còn bao gồm phần Fc. Trong một số phương án, kháng thể đơn dòng được phân

lập bao gồm chuỗi nặng (HC) có trình tự polypeptit có SỐ ID TRÌNH TỰ: 138 và chuỗi nhẹ (LC) có trình tự polypeptit có SỐ ID TRÌNH TỰ: 140.

Sáng chế còn cung cấp liên hợp kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó được ghép với peptit PYY vòng, trong đó kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng xác định bổ sung chuỗi nặng 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3 và vùng xác định bổ sung chuỗi nhẹ 1 (LCDR1), LCDR2 và LCDR3, có các trình tự polypeptit có SỐ ID TRÌNH TỰ: lần lượt 141, 142, 143, 144, 145, và 146, tốt hơn là kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng (VH) có trình tự polypeptit có SỐ ID TRÌNH TỰ: 137 và miền biến đổi chuỗi nhẹ (VL) có trình tự polypeptit có SỐ ID TRÌNH TỰ: 139, và tốt hơn là kháng thể đơn dòng có chuỗi nặng (HC) có trình tự polypeptit có SỐ ID TRÌNH TỰ: 138 và chuỗi nhẹ (LC) có trình tự polypeptit có SỐ ID TRÌNH TỰ: 140; peptit PYY vòng bao gồm trình tự polypeptit được chọn từ nhóm bao gồm các SỐ ID TRÌNH TỰ: 1, 73-100, hoặc 147-156, hoặc muối dược dụng của nó; và kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó được tiếp hợp với peptit PYY vòng ở vị trí đơn phân 7, 9, 11, 22 hoặc 23 của peptit PYY vòng, tốt hơn là ở vị trí đơn phân lysin 11 của peptit PYY vòng, trực tiếp hoặc qua cầu nối.

Sáng chế cũng cung cấp phương pháp sản xuất các liên hợp của sáng chế. Phương pháp bao gồm bước cho phân tử ưa điện tử, tốt hơn là bromoaxetamit hoặc maleimit, được đưa vào mạch bên của PYY vòng, tốt hơn là mạch bên của đơn phân lysin của peptit PYY vòng, phản ứng với nhóm sulfhyđryl có đơn phân cysteine có SỐ ID TRÌNH TỰ:143 của kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, từ đó tạo liên kết hóa trị giữa peptit PYY vòng và kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó.

Sáng chế còn cung cấp các chế phẩm dược bao gồm các liên hợp của sáng chế và chất mang dược dụng.

Sáng chế cũng cung cấp các phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng cần điều trị, trong đó bệnh hoặc rối loạn này được chọn từ nhóm bao gồm béo phì, tiểu đường týp I hoặc týp II, hội chứng chuyển hóa, kháng insulin, suy giảm dung nạp glucoza, tăng đường huyết, tăng insulin máu, tăng triglyxerit máu, giảm glucoza huyết do tăng insulin máu bẩm sinh (CHI), rối loạn mỡ máu, xơ vữa động mạch, bệnh thận do tiểu đường, các yếu tố nguy cơ tim mạch khác như tăng huyết áp và các yếu tố nguy cơ tim mạch liên quan đến nồng độ cholesterol và/hoặc lipit không được kiểm soát, loãng xương, viêm, bệnh gan nhiễm mỡ không do uống rượu (NAFLD), viêm gan nhiễm mỡ

không do rượu (NASH), bệnh thận và bệnh chàm. Phương pháp bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu chế phẩm dược của sáng chế.

Sáng chế cũng cung cấp phương pháp làm giảm lượng thu nạp thức ăn ở đối tượng cần điều trị. Phương pháp bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu chế phẩm dược của sáng chế.

Sáng chế cũng cung cấp phương pháp điều hòa hoạt tính thụ thể Y2 ở đối tượng cần điều trị. Phương pháp bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu chế phẩm dược của sáng chế.

Trong một số phương án, chế phẩm dược được cho sử dụng bằng cách tiêm. Trong một số phương án, chế phẩm dược được cho sử dụng kết hợp với ít nhất một loại thuốc chống đái tháo đường. Thuốc chống đái tháo đường có thể là, ví dụ, chất điều hòa thụ thể peptit giống glucagon 1. Trong một số phương án, chế phẩm dược được cho sử dụng kết hợp với liraglutide.

Sáng chế cũng cung cấp kit bao gồm các liên hợp của sáng chế, tốt hơn là còn bao gồm liraglutide và dụng cụ tiêm.

Sáng chế cũng cung cấp phương pháp sản xuất các chế phẩm dược của sáng chế. Phương pháp bao gồm bước kết hợp liên hợp với chất mang dược dụng để thu được chế phẩm dược.

Các phương án, đặc trưng và ưu điểm khác của sáng chế sẽ được hiểu rõ hơn với phần mô tả chi tiết về sáng chế và các điểm yêu cầu bảo hộ sau đây.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Bản chất kỹ thuật của sáng chế nêu trên, cũng như phần mô tả chi tiết sau đây của các phương án ưu tiên của đơn này, sẽ được hiểu rõ hơn khi tham khảo các hình vẽ kèm theo. Tuy nhiên, cần hiểu rằng sáng chế không bị giới hạn trong các phương án chính xác được minh họa trong các hình vẽ.

Hình 1: Minh họa phương pháp chung tiếp hợp peptit-mAb (kháng thể đơn dòng) theo một phương án của sáng chế. X là phân tử ưa điện tử, tốt hơn là được đưa vào mạch bên của peptit điều trị, như bromoaxetamit hoặc maleimit, phân tử này phản ứng đặc hiệu vị trí với nhóm sulfhyđryl có đơn phân Cys được kiến tạo vào CDR của mAb kéo dài thời gian bán thải, từ đó tạo liên kết hóa trị giữa peptit và mAb.

Hình 2: Tổng hợp các đơn phân CDR được chọn để thay thế trong PH9H5_VH (SỐ ID TRÌNH TỰ: 129) và PH9L3_VL (SỐ ID TRÌNH TỰ: 128). Các đơn phân được thay thế bằng Cys được tô đậm và gạch chân.

Hình 3: Dược động học của hợp chất 1 ở chuột bị béo phì cho chế độ ăn (DIO).

Hình 4: Dược động học của hợp chất 1 ở khỉ đuôi dài.

Hình 5: Lượng thức ăn thu nạp ở chuột DIO được điều trị bằng hợp chất 1: liều cấp tính.

Hình 6: Lượng cân nặng giảm ở chuột DIO được điều trị bằng hợp chất 1: liều cấp tính.

Hình 7: Lượng thức ăn thu nạp ở chuột DIO được điều trị bằng hợp chất 1: liều mạn tính.

Hình 8: Lượng cân nặng giảm ở chuột DIO được điều trị bằng hợp chất 1: liều mạn tính.

Hình 9: Lượng cân nặng giảm ở chuột DIO được điều trị bằng hợp chất 1 kết hợp với liraglutide: liều mạn tính.

Hình 10: Minh họa đồ thị cho thấy lượng thức ăn thu nạp trung bình hàng tuần trong 3 tuần trước khi bắt đầu liraglutide, 1 tuần điều trị bằng liraglutide, và 2 tuần sau khi sử dụng liraglutide. Đồ thị cho biết phần trăm giảm lượng thức ăn thu nạp trung bình hàng tuần khi điều trị so với lượng trung bình trong 3 tuần trước thời điểm khởi điểm.

Hình 11A-11D: Minh họa đồ thị diễn tả tác dụng của hợp chất 1 với chất phụ trợ liraglutide đối với glucoza, insulin, và triglyxerit ở khỉ vàng béo phì. Hình 11A minh họa đồ thị diễn tả tác dụng của đơn trị liệu hợp chất 1 (PYY) và trị liệu kết hợp với liraglutide (PYY+Lira) đối với nồng độ glucoza. Hình 11B minh họa đồ thị diễn tả tác dụng của đơn trị liệu hợp chất 1 (PYY) và trị liệu kết hợp với liraglutide (PYY+Lira) đối với nồng độ insulin. Hình 11C minh họa đồ thị diễn tả tác dụng của đơn trị liệu hợp chất 1 (PYY) và trị liệu kết hợp với liraglutide (PYY+Lira) đối với HOMA- IR. Hình 11D minh họa đồ thị diễn tả tác dụng của đơn trị liệu hợp chất 1 (PYY) và trị liệu kết hợp với liraglutide (PYY+Lira) đối với nồng độ triglyxerit.

Hình 12A-12D: Minh họa đồ thị diễn tả tác dụng của hợp chất 1 với chất phụ trợ liraglutide đối với cholesterol, và men gan ở khỉ vàng béo phì. Hình 12A minh họa đồ thị diễn tả tác dụng của đơn trị liệu hợp chất 1 (PYY) và trị liệu kết hợp với liraglutide (PYY+Lira) đối với nồng độ cholesterol. Hình 12B minh họa đồ thị diễn tả tác dụng của đơn trị liệu hợp chất 1 (PYY) và trị liệu kết hợp với liraglutide (PYY+Lira) đối với nồng độ HDL. Hình 12C minh họa đồ thị diễn tả tác dụng của đơn trị liệu hợp chất 1 (PYY) và trị liệu kết hợp với liraglutide (PYY+Lira) đối với nồng độ ALT. Hình 12D minh họa đồ thị diễn tả tác dụng của đơn trị liệu hợp chất 1 (PYY) và trị liệu kết hợp với liraglutide (PYY+Lira) đối với nồng độ AST.

Mô tả chi tiết các phương án thực hiện sáng chế

Nhiều ấn phẩm, bài báo và bằng sáng chế được nêu hoặc được mô tả trong phần tình trạng kỹ thuật của sáng chế và trong toàn bộ bản mô tả; mỗi tham chiếu này được kết hợp đầy đủ vào tài liệu này bằng viện dẫn. Việc trình bày về tài liệu, hoạt động, vật liệu, thiết bị, thành phần, v.v. đã được đưa vào bản mô tả nhằm mục đích cung cấp ngữ cảnh của sáng chế. Việc trình bày này không có ý rằng vấn đề bất kỳ hoặc tất cả các vấn đề này là một phần của kỹ thuật trước đây liên quan đến sáng chế bất kỳ được bộc lộ hoặc được yêu cầu bảo hộ.

Trừ khi được quy định khác đi, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong bản mô tả này có cùng nghĩa thông thường theo hiểu biết của người có trình độ bình thường trong ngành mà sáng chế này có liên quan. Hoặc, các thuật ngữ nhất định được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa như đã nêu trong bản mô tả.

Cần lưu ý là khi được sử dụng trong bản mô tả này và trong các điểm yêu cầu bảo hộ, dạng số ít "một" bao gồm cả các số nhiều trừ khi ngữ cảnh quy định khác.

Trừ khi được quy định khác, giá trị bằng số bất kỳ, như nồng độ hoặc khoảng nồng độ được mô tả trong bản mô tả này, được hiểu là sẽ được biến đổi trong tất cả các trường hợp theo thuật ngữ "khoảng". Theo đó, giá trị bằng số thường bao gồm ± 10% của giá trị được nêu. Ví dụ, nồng độ bằng 1 mg/mL bao gồm 0,9 mg/mL đến 1,1 mg/mL. Tương tự, khoảng nồng độ bằng từ 1% đến 10% (khối lượng/thể tích) bao gồm 0,9% (khối lượng/thể tích) đến 11% (khối lượng/thể tích). Trong bản mô tả này, việc sử dụng khoảng số rõ ràng bao gồm tất cả các khoảng phụ có thể có, tất cả từng giá trị bằng số trong khoảng đó, bao gồm các số nguyên trong các khoảng này và các phân số có các giá trị này trừ khi ngữ cảnh nêu ý khác một cách rõ ràng.

Trừ khi được quy định khác, thuật ngữ "ít nhất" đứng trước một dãy các phần tử sẽ được hiểu là chỉ mọi phần từ trong dãy. Người có trình độ trong ngành sẽ nhận diện, hoặc có khả năng biết rõ, chỉ cần bằng cách sử dụng thực nghiệm thường quy, nhiều phương án tương đương với các phương án cụ thể của sáng chế được mô tả tại đây. Các phương án tương đương được dự kiến bao gồm trong sáng chế.

Trong bản mô tả này, các thuật ngữ "bao gồm", "gồm", "gồm có", "có", "chứa" hoặc "có chứa", hoặc bất kỳ biến thể nào khác của nó, sẽ được hiểu là ngụ ý bao gồm một số nguyên hoặc nhóm số nguyên đã nêu nhưng không loại trừ bất kỳ số nguyên hoặc nhóm số nguyên nào khác, và được dự kiến là không hạn chế hoặc có thể mở rộng. Ví dụ, chế phẩm, hỗn hợp, quy trình, phương pháp, mục hoặc thiết bị bao gồm danh sách các phần tử không nhất thiết chỉ giới hạn ở các phần tử này mà có thể bao gồm các phần tử khác không được

liệt kê rõ ràng hoặc vốn thuộc chế phẩm, hỗn hợp, quy trình, phương pháp, mục hoặc thiết bị đó. Ngoài ra, trừ khi được quy định ngược lại một cách rõ ràng, "hoặc" đề cập đến yếu tố được bao gồm với hoặc và không đề cập yếu tố bị loại trừ với hoặc. Ví dụ, một điều kiện A hoặc B được thỏa mãn bởi điều bất kỳ trong những điều sau đây: A đúng (hoặc có) và B sai (hoặc không có), A sai (hoặc không có) và B đúng (hoặc có), và cả A và B đúng (hoặc có).

Cần hiểu rằng trong bản mô tả này, người có trình độ bình thường trong ngành cũng biết rằng, các thuật ngữ "khoảng", "xấp xỉ", "nói chung", "về cơ bản" và các thuật ngữ tương tự để chỉ kích thước hoặc đặc điểm của thành phần của sáng chế được ưu tiên, được sử dụng để chỉ báo rằng kích thước/đặc điểm không phải là giới hạn hoặc thông số nghiêm ngặt và bao gồm các biến thiên nhỏ mà về nguyên tắc là giống hoặc tương tự. Tối thiểu, các tham chiếu bao gồm thông số thể hiện giá trị bằng số sẽ bao gồm các biến thiên mà, khi sử dụng các nguyên lý toán học và nguyên lý công nghiệp được áp dụng trong ngành (ví dụ, làm tròn, sai số đo lường hoặc sai số hệ thống khác, dung sai chế tạo, v.v.), sẽ không khác số có giá trị đáng kể thấp nhất.

Thuật ngữ "đồng nhất" hoặc phần trăm "đồng nhất", trong ngữ cảnh có hai hoặc nhiều axit nucleic hoặc trình tự polypeptit (ví dụ, trình tự polypeptit PYY_{3-36} vòng, trình tự chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể), chỉ hai hoặc nhiều trình tự hoặc trình tự con giống nhau hoặc có phần trăm xác định các đơn phân axit amin hoặc nucleotit giống nhau, khi so sánh và bắt cặp sẽ tạo sự tương ứng tối đa, như được đo lường bằng cách sử dụng một trong các thuật toán so sánh trình tự sau đây hoặc bằng cách kiểm tra bằng mắt sử dụng các phương pháp được biết đến trong ngành theo quan điểm của sáng chế.

Để so sánh trình tự, thông thường một trình tự đóng vai trò là trình tự tham chiếu còn trình tự thử nghiệm được so sánh với nó. Khi sử dụng thuật toán so sánh trình tự, các trình tự tham chiếu và thử nghiệm được nhập vào máy tính, tọa độ trình tự con được chỉ định, nếu cần, và các tham số chương tình thuật toán trình tự được chỉ định. Thuật toán so sánh trình tự sau đó tính toán phần trăm đồng nhất trình tự cho trình tự thử nghiệm so với trình tự tham chiếu, dựa trên các tham số chương trình được chỉ định.

Có thể thực hiện bắt cặp tối đa các trình tự để so sánh, ví dụ, bằng thuật toán tương đồng tại chỗ của Smith & Waterman, Adv. Appl. Math. (Tiến bộ trong toán học ứng dụng) 2:482 (1981), bằng thuật toán bắt cặp tương đồng của Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. (Tạp chí sinh học phân tử) 48:443 (1970), bằng phương pháp tìm kiếm sự đồng dạng của Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA (Kỷ yếu Viện Hàn lâm Khoa học Quốc gia Hoa Kỳ) 85:2444 (1988), bằng sự triển khai các thuật toán này trên máy tính (GAP, BESTFIT, FASTA,

và TFASTA trong Gói phần mềm di truyền Wisconsin, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), hoặc qua kiểm tra bằng mắt (xem tổng thể, Current Protocols in Molecular Biology (Các quy trình hiện nay trong sinh học phân tử), F.M. Ausubel và cộng sự, btv, Current Protocols ((Các quy trình hiện nay), dự án hợp tác giữa Greene Publishing Associates, Inc. và John Wiley & Sons, Inc., (1995 Supplement) (Ausubel)).

Các ví dụ về các thuật toán phù hợp để xác định phần trăm đồng nhất trình tự và đồng dạng trình tự là thuật toán BLAST and BLAST 2.0, được mô tả lần lượt trong Altschul và cộng sự (1990) J. Mol. Biol. (Tạp chí sinh học phân tử) 215: 403-410 và Altschul và cộng sự (1997) Nucleic Acids Res. (Nghiên cứu axit nucleic) 25: 3389-3402. Phần mềm để thực hiện phân tích BLAST đã có trên thị trường thông qua Trung tâm quốc gia Thông tin công nghệ sinh học (National Center for Biotechnology Information).

Chỉ báo khác rằng hai trình tự axit nucleic hoặc polypepetit về cơ bản là đồng nhất là polypeptit được mã hóa bởi axit nucleic thứ nhất phản ứng chéo miễn dịch với polypeptit được mã hóa bởi axit nucleic thứ hai, như được mô tả ở phần dưới. Theo đó, polypeptit về cơ bản là đồng nhất với polypeptit thứ hai, ví dụ, trong đó hai peptit chỉ khác nhau các thay thế bảo thủ. Chỉ báo khác rằng hai trình tự axit nucleic hoặc polypepetit về cơ bản là đồng nhất là hai phân tử lai hóa với nhau trong các điều kiện khắc nghiệt, như được mô tả dưới đây.

Trong tài liệu này, "đối tượng" có nghĩa là động vật bất kỳ, tốt hơn là động vật có vú, tốt hơn là con người. Thuật ngữ "động vật có vú" được sử dụng trong bản mô tả này bao hàm động vật có vú bất kỳ. Các ví dụ về động vật có vú bao gồm, nhưng không giới hạn ở bò, ngựa, cừu, lợn, mèo, chó, chuột nhắt, chuột, thỏ, chuột lang, khỉ, con người, v.v., cụ thể hơn là con người.

Thuật ngữ "cho sử dụng" theo các phương pháp trong sáng chế nghĩa là phương pháp phòng ngừa, điều trị hoặc cải thiện một hội chứng, rối loạn hoặc bệnh như được mô tả trong tài liệu này bằng cách sử dụng liên hợp của sáng chế hoặc dạng, chế phẩm hoặc dược phẩm chứa hợp chất này. Những phương pháp trên bao gồm bước cho sử dụng một lượng điều trị hữu hiệu liên hợp, dạng, chế phẩm hoặc dược phẩm nói trên vào các thời điểm khác nhau trong quá trình trị liệu hoặc cung cấp đồng thời ở dạng kết hợp. Các phương pháp trong sáng chế phải được hiểu là bao hàm tất cả các phác đồ điều trị được biết đến.

Thuật ngữ "lượng điều trị hữu hiệu" có nghĩa là lượng hoạt chất hoặc dược chất tạo ra các phản ứng sinh học hoặc dược học trong hệ mô, động vật hoặc con người đang được nghiên cứu bởi nhà nghiên cứu, bác sĩ thú y, bác sỹ tư vấn hoặc bác sỹ lâm sàng, có tác

dụng phòng ngừa, điều trị hoặc cải thiện hội chứng, rối loạn hoặc bệnh hoặc các triệu chứng của hội chứng, rối loạn hoặc bệnh đang được điều trị.

Trong tài liệu này, thuật ngữ "chế phẩm" dùng để chỉ một sản phẩm bao gồm các thành phần xác định với lượng xác định, cũng như sản phẩm bất kỳ là kết quả, trực tiếp hay gián tiếp, của sự kết hợp các thành phần xác định với lượng xác định.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "được ghép" chỉ sự liên kết hoặc kết nối hai hoặc nhiều vật thể với nhau. Khi đề cập đến các hợp chất hóa học hoặc sinh học, được ghép có thể đề cập đến kết nối cộng hóa trị giữa hai hoặc nhiều hợp chất hóa học hoặc sinh học. Ví dụ không giới hạn, kháng thể của sáng chế có thể được ghép với một peptit quan tâm để tạo thành peptit ghép với kháng thể. Peptit ghép kháng thể có thể được hình thành thông qua các phản ứng hóa học đặc hiệu được thiết kế để liên hợp kháng thể với peptit. Trong một số phương án nhất định, kháng thể của sáng chế có thể được ghép cộng hóa trị với peptit của sáng chế bằng cầu nối. Ví dụ, cầu nối có thể trước hết được kết nối hóa trị với kháng thể hoặc peptit, sau đó được kết nối hóa trị với peptit hoặc kháng thể.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "cầu nối" chỉ mô-đun hóa học bao gồm mạch nguyên tử hoặc hóa trị gắn kết cộng hóa trị kháng thể với peptit. Cầu nối có thể, ví dụ, bao gồm, nhưng không giới hạn ở cầu nối peptit, cầu nối hyđrocarbon, cầu nối polyetylen glycol (PEG), polypropylen glycol (PPG), cầu nối polysacarit, cầu nối polyeste, cầu nối hỗn hợp bao gồm PEG và dị vòng được nhúng vào, và mạch hyđrocarbon.

Trong tài liệu này, thuật ngữ "liên hợp" đề cập đến kháng thể hoặc mảnh của chúng được liên kết cộng hóa trị với một phần hoạt tính dược lý. Thuật ngữ "được tiếp hợp với" đề cập đến kháng thể của sáng chế hoặc mảnh của chúng được liên kết cộng hóa trị hoặc kết nối cộng hóa trị với một phần hoạt tính dược lý, tốt hơn là peptit điều trị, trực tiếp hoặc gián tiếp thông qua cầu nối. Ví dụ không giới hạn, kháng thể có thể là kháng thể đơn dòng của sáng chế và phần hoạt tính dược lý có thể là một peptit điều trị, như PYY vòng được quan tâm.

Các trình tự peptit được mô tả trong bản mô tả này được viết theo thông lệ trong đó vùng đầu N của peptit ở phía trái và vùng đầu C ở phía phải. Mặc dù đã biết dạng đồng phân của axit amin, dạng L của axit amin được làm đại diện trừ khi được quy định khác một cách rõ ràng.

Kháng thể

Trong một phương án chung, sáng chế đề cập đến kháng thể mới, được kiến tạo là không nhắm đích và có chứa đơn phân xystein có khả năng được sử dụng để tiếp hợp hóa học (ví dụ như ghép) với phần hoạt tính dược lý, như peptit điều trị (ví dụ, peptit PYY

vòng), đặc hiệu theo vị trí, sao cho peptit ghép kháng thể có thời gian bán thải kéo dài/tăng so với peptit đứng riêng. Trong bản mô tả này, thuật ngữ "không nhắm đích" trong ngữ cảnh kháng thể chỉ kháng thể không liên kết đặc hiệu với bất kỳ đích nào *trong cơ thể sống*. Trong bản mô tả này, kháng thể "liên kết đặc hiệu với đích" chỉ kháng thể liên kết với kháng nguyên đích, với KD nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, tốt hơn là nhỏ hơn hoặc bằng 5×10^{-9} M, tốt hơn nữa là nhỏ hơn hoặc bằng 1×10^{-9} M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng 5×10^{-10} M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng 1×10^{-10} M. Thuật ngữ "KD" chỉ hằng số phân ly, thu được từ tỷ lệ Kd với Ka (tức là, Kd/Ka) và được biểu diễn dưới dạng nồng độ mol (M). Có thể xác định giá trị KD cho các kháng thể bằng các phương pháp trong ngành theo quan điểm của sáng chế. Ví dụ, KD của kháng thể có thể được xác định bằng cách sử dụng cộng hưởng plasmon bề mặt, như sử dụng hệ thống cảm biến sinh học, ví dụ, hệ thống Biacore®, hoặc sử dụng công nghệ đo giao thoa tầng sinh học, như hệ thống Octet RED96. Giá trị KD của kháng thể của càng nhỏ, ái lực của kháng thể liên kết với kháng nguyên đích càng cao.

Có thể sử dụng các kháng thể đơn dòng, toàn bộ hoặc mảnh của nó, làm phần kéo dài thời gian bán thải. Các kháng thể đơn dòng là các protein được nghiên cứu kỹ đã được sử dụng và được đặc trưng hóa để được sử dụng *trong cơ thể sống*, và như vậy, các cơ chế chuyển hóa cho phép thời gian bán thải kéo dài *trong cơ thể sống* và các cơ chế chuyển hóa cho phép loại bỏ chúng *trong cơ thể sống* đã được biết rõ. Ngoài ra, sự phân tách theo không gian và thể hiện của hai "nhánh" của kháng thể đơn dòng có thể có ích cho biểu hiện lưỡng trị hiệu quả của phần điều trị (nghĩa là một peptit điều trị). Các thuốc điều trị trong đó độc tố hoặc các loại thuốc phân tử nhỏ khác được liên kết hóa học với kháng thể đơn dòng đã được phát triển nhưng thường sử dụng kháng thể đơn dòng liên kết với kháng nguyên đặc hiệu và nhắm đích liên hợp kháng thể - thuốc vào mô/tế bào quan tâm, mà tốt hơn là biểu hiện kháng nguyên, và thông thường thuốc/phân tử nhỏ được gắn vào kháng thể sao cho không ảnh hưởng đến việc liên kết kháng nguyên của kháng thể.

Đối với các liên hợp peptit điều trị-mAb, kháng thể đơn dòng kéo dài thời gian bán thải không cần phải liên kết đặc hiệu với kháng nguyên. Do đó, một cặp miền biến đổi (V) chuỗi nặng (HC) và chuỗi nhẹ (LC) dự kiến sẽ không liên kết đặc hiệu với đích bất kỳ nào được sử dụng để điều chế kháng thể đơn dòng không nhắm đích được phép ghép cặp của sáng chế. Để thu được kháng thể đơn dòng không nhắm đích được phép ghép cặp, đơn phân xystein được kiến tạo vào một trong những vùng xác định bổ sung (CDR) của kháng thể không nhắm đích được chọn. Phần hoạt tính dược lý (ví dụ, peptit điều trị/hợp chất) có

thể chứa phần hóa học thích hợp để cho phép tiếp hợp phần hoạt tính dược lý với đơn phân xystein được kiến tạo của kháng thể đơn dòng không nhắm đích. Hình 1 minh họa phương pháp tiếp hợp peptit-kháng thể đơn dòng khái quát theo phương án của sáng chế.

Thuật ngữ "kháng thể" như được sử dụng trong bản mô tả này, có nghĩa trong phạm vi rộng và bao gồm các kháng thể đơn dòng bao gồm kháng thể đơn dòng không phải người (ví dụ, chuột), người, thích nghi với người, nhân hóa và hỗn hợp, mảnh kháng thể, kháng thể đặc hiệu đôi hoặc kháng thể đa hiệu, các kháng thể dạng đime, dạng tetrame hoặc đa phân, và kháng thể đơn chuỗi.

Chuỗi nhẹ của kháng thể từ loài động vật có xương sống bất kỳ có thể được phân thành một trong hai loại có sự khác biệt rõ ràng, được gọi là kappa (κ) và lambda (λ), dựa trên trình tự axit amin của các miền hằng định của chúng. Theo đó, các kháng thể của sáng chế có thể chứa miền hằng định của chuỗi nhẹ kappa hoặc lambda. Theo các phương án cụ thể, các kháng thể của sáng chế bao gồm các vùng hằng định của chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ từ kháng thể của chuột hoặc người. Ngoài các miền hằng định nặng và nhẹ, các kháng thể chứa vùng liên kết kháng nguyên được tạo thành từ vùng biến đổi chuỗi nhẹ và vùng biến đổi chuỗi nặng, mỗi vùng chứa ba miền (nghĩa là vùng xác định bổ sung 1-3; (CDR1, CDR2, và CDR3)). Các miền của vùng biến đổi chuỗi nhẹ được gọi là LCDR1, LCDR2, và LCRD3, và các miền của vùng biến đổi chuỗi nặng được gọi là HCDR1, HCRD2, và HCDR3.

Các globulin miễn dịch có thể được phân thành 5 lớp chính, là IgA, IgD, IgE, IgG và IgM, tùy vào trình tự axit amin của miền hằng định chuỗi nặng. IgG là lớp ổn định nhất trong năm loại globulin miễn dịch, có thời gian bán thải trong huyết thanh người là khoảng 23 ngày. IgA và IgG được phân tiếp thành các lớp kháng thể IgA_1, IgA_2, IgG_1, IgG_2, IgG_3 và IgG_4. Mỗi phân lớp trong bốn phân lớp IgG có các chức năng sinh học khác nhau được gọi là chức năng thực thi. Các chức năng thực thi này thường được thực hiện qua trung gian tương tác với thụ thể Fc (FcγR) hoặc bằng cách liên kết với C1q và cố định bổ thể. Liên kết với FcγR có thể dẫn đến sự ly giải tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể, trong khi liên kết với các yếu tố bổ thể có thể dẫn đến ly giải tế bào qua trung gian bổ thể. Kháng thể của sáng chế được sử dụng để kéo dài thời gian bán thải của peptit điều trị không có hoặc có tối thiểu chức năng thực thi, nhưng vẫn giữ được khả năng liên kết với FcRn, liên kết này có thể là phương tiện chính giúp kháng thể kéo dài thời gian bán thải *trong cơ thể sống*.

Trong một phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự gen V dòng mầm Ig người

hoàn toàn, và vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự gen V dòng mầm Ig người hoàn toàn ngoại trừ HCDR3 có trình tự axit amin có SỐ ID TRÌNH TỰ: 143, trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó không liên kết đặc hiệu với bất kỳ kháng nguyên người nào *trong cơ thể sống*. Trong một phương án, sáng chế đề cập đến liên hợp bao gồm kháng thể được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự gen V dòng mầm Ig người hoàn toàn, và vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự gen V dòng mầm Ig người hoàn toàn ngoại trừ HCDR3 có trình tự axit amin có SỐ ID TRÌNH TỰ: 143 và phần hoạt tính dược lý (ví dụ PYY vòng của sáng chế) được tiếp hợp với nó, trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó không liên kết đặc hiệu với bất kỳ kháng nguyên người nào *trong cơ thể sống*. Trong bản công bố này, đối với kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của chúng theo phương án của sáng chế, cụm từ "liên hợp bao gồm kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó và phần hoạt tính dược lý được tiếp hợp với nó" được sử dụng thay thế với cụm từ "kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó được tiếp hợp với phần hoạt tính dược lý".

Trong tài liệu này, thuật ngữ "mảnh gắn kháng nguyên" chỉ mảnh kháng thể, ví dụ như diabody (kháng thể đặc hiệu đôi tái tổ hợp), Fab, Fab', F(ab')2, mảnh Fv, đoạn Fv ổn định đisulfua (dsFv), (dsFv) 2, dsFv đặc hiệu đôi (dsFv-dsFv'), diabody ổn định đisulfua (ds diabody), phân tử kháng thể đơn chuỗi (scFv), kháng thể đơn miền (sdab), đime scFv (diabody lưỡng trị), kháng thể đa hiệu được hình thành từ một phần của kháng thể bao gồm một hoặc nhiều CDR, kháng thể đơn miền được camel hóa, nanobody (kháng thể đơn vùng), kháng thể miền, kháng thể miền lưỡng trị hoặc mảnh kháng thể bất kỳ khác liên kết với kháng nguyên nhưng không bao gồm cấu trúc kháng thể hoàn chỉnh. Mảnh gắn kháng nguyên có khả năng liên kết với cùng kháng nguyên mà kháng thể mẹ hoặc mảnh kháng thể mẹ liên kết. Theo các phương án cụ thể, mảnh gắn kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ, vùng hằng định chuỗi nhẹ, và đoạn Fd (nghĩa là, phần chuỗi nặng có trong mảnh Fab). Theo các phương án cụ thể khác, mảnh gắn kháng nguyên bao gồm Fab và F (ab').

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "kháng thể đơn chuỗi" đề cập đến kháng thể đơn chuỗi thông thường trong lĩnh vực, bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ được kết nối bởi một peptit ngắn gồm khoảng 15 đến khoảng 20 axit amin. Trong bản mô tả này, thuật ngữ "kháng thể đơn miền" đề cập đến kháng thể đơn miền thông thường trong lĩnh vực, bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng hằng định chuỗi nặng hoặc chỉ bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng.

Cụm từ "kháng thể hoặc mảnh kháng thể phân lập" chỉ kháng thể hoặc mảnh kháng thể về cơ bản được tách ra khỏi các kháng thể khác có các tính đặc hiệu kháng nguyên khác (ví dụ, kháng thể phân lập liên kết đặc hiệu với kháng nguyên đích về căn bản được tách khỏi các kháng thể không liên kết đặc hiệu với kháng nguyên đích này). Ngoài ra, kháng thể hoặc mảnh kháng thể phân lập có thể gần như không có vật liệu tế bào và/hoặc hóa chất khác.

Vùng biến đổi của kháng thể bao gồm vùng "khung" bị can thiệp bởi ba "điểm gắn kháng nguyên". Các điểm gắn kháng nguyên được định nghĩa bằng các thuật ngữ khác nhau: (i) Các vùng xác định bổ sung (CDR), ba trong VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3) và ba trong VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3) dựa trên sự biến đổi trình tự (Wu và Kabat, J Exp Med (Tạp chí y học thực nghiệm) 132:211-50, 1970; Kabat và cộng sự, Sequences of Proteins of Immunological Interest (Trình tự protein có lợi ích miễn dịch), ấn bản lần 5. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991). (ii) "Các vùng siêu biến", "HVR", hoặc "HV", ba trong VH (H1, H2, H3) và ba trong VL (L1, L2, L3) chỉ các vùng của các miền biến đổi của kháng thể siêu biến trong cấu trúc như Chothia và Lesk đã định nghĩa (Chothia và Lesk, Mol Biol (Sinh học phân tử) 196:901-17, 1987). Các thuật ngữ khác bao gồm "IMGT-CDR" (Lefranc và cộng sự, Dev Comparat Immunol (Tạp chí Miễn dịch học so sánh và thực nghiệm) 27:55-77, 2003) và "Specificity Determining Residue Usage" ("Cách sử dụng đơn phân quyết định tính đặc hiệu")(SDRU) (Almagro, Mol Recognit (Tạp chí Nhận diện phân tử), 17:132-43, 2004). Cơ sở dữ liệu International ImMunoGeneTics (IMGT) (http://www_mgt_org) cung cấp cách đánh số chuẩn hóa và định nghĩa các điểm gắn kháng nguyên. Sự tương ứng giữa các mô tả về CDR, HV và IMGT được trình bày trong Lefranc và cộng sự, Dev Comparat Immunol (Tạp chí Miễn dịch học so sánh và thực nghiệm) 27:55-77, 2003.

"Khung" hoặc "trình tự khung" là các trình tự còn lại của vùng biến đổi ngoài các trình tự được định nghĩa là điểm gắn kháng nguyên. Bởi vì có thể định nghĩa vị trí liên kết kháng nguyên bằng nhiều thuật ngữ khác nhau như mô tả trên đây, trình tự axit amin chính xác của khung tùy thuộc vào việc vị trí liên kết kháng nguyên được định nghĩa như thế nào.

Trong một phương án của sáng chế, kháng thể được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ có LCDR1, LCDR2 và LCDR3 có trình tự axit amin lần lượt có SỐ ID TRÌNH TỰ: 144, SỐ ID TRÌNH TỰ: 145 và SỐ ID TRÌNH TỰ 146, và vùng biến đổi chuỗi nặng có HCDR1, HCDR2 và HCDR3 có trình tự axit amin lần lượt có SỐ ID TRÌNH TỰ: 141, SỐ ID TRÌNH TỰ: 142 và SỐ ID TRÌNH TỰ 143.

Trong phương án khác, kháng thể được phân lập còn bao gồm vùng Fc có nguồn gốc từ vùng Fc IgG4 người. Vùng Fc IgG4 người đã giảm khả năng liên kết với FcγR và các yếu tố bổ thể so với các kiểu phụ IgG khác. Tốt hơn là, vùng Fc chứa vùng Fc IgG4 người có các thay thế loại bỏ chức năng thực thi. Do đó, kháng thể phân lập còn bao gồm vùng Fc chứa vùng Fc IgG4 người được điều hòa bao gồm một hoặc nhiều thay thế sau: thay thế prolin cho glutamat ở đơn phân 233, alanin hoặc valin cho phenylalanin ở đơn phân 234 và alanin hoặc glutamat cho leuxin ở đơn phân 235 (quy tắc đánh số châu Âu, Kabat, EA và cộng sự (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (Trình tự các protein có lợi về miễn dịch), ấn bản lần thứ 5, Bộ Y tế và Dịch vụ Nhân sinh Hoa Kỳ (U.S. Dept. of Health and Human Services), Bethesda, Md., NIH Số công bố 91-3242). Loại bỏ vị trí glycosyl hóa liên kết N trong vùng Fc IgG4 bằng cách thay thế Ala cho Asn tại đơn phân 297 (quy tắc đánh số châu Âu) là cách khác để đảm bảo loại bỏ hoạt tính thực thi của đơn phân.

Tốt hơn là, kháng thể của sáng chế tồn tại dưới dạng đime liên kết với nhau bằng liên kết đisulfua và các loại tương tác không cộng hóa trị khác nhau. Do đó, phần Fc hữu ích cho kháng thể của sáng chế có thể là vùng Fc IgG4 người có chứa thay thế, như serin thay cho prolin ở vị trí 228 (quy tắc đánh số châu Âu), giúp ổn định sự hình thành đime chuỗi nặng và ngăn ngừa sự hình thành chuỗi Fc nửa IgG4.

Trong một phương án khác, đơn phân Lys đầu C trong chuỗi nặng được loại bỏ, như thường thấy trong các kháng thể đơn dòng được sản xuất bằng cách tái tổ hợp.

"Kháng thể người" chỉ kháng thể có các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ trong đó cả khung và các điểm gắn kháng nguyên đều có nguồn gốc từ các trình tự có nguồn gốc là người. Nếu kháng thể chứa vùng hằng định, vùng hằng định cũng có nguồn gốc từ các trình tự có nguồn gốc là người.

Kháng thể người bao gồm các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ là các trình tự "có nguồn gốc" là người nếu các vùng biến đổi của kháng thể được thu từ hệ thống sử dụng globulin miễn dịch dòng mầm của người hoặc các gen globulin miễn dịch được tái cấu trúc. Các hệ thống này bao gồm các thư viện gen globulin miễn dịch người biểu hiện trên thực khuẩn, và các động vật biến đổi gen không phải là người như chuột mang lôcut globulin miễn dịch người như được mô tả trong tài liệu này. "Kháng thể người" có thể có các khác biệt về axit amin khi so sánh với các trình tự globulin miễn dịch dòng mầm người hoặc các trình tự globulin miễn dịch được tái cấu trúc, ví dụ, do các đột biến soma xảy ra tự nhiên hoặc do đưa các thay thế vào khung hoặc điểm gắn kháng nguyên một cách có chủ ý. Thông thường,

"kháng thể người" có % trình tự axit amin đồng nhất ít nhất ở mức khoảng 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin được mã hóa bởi dòng mầm người hoặc gen globulin miễn dịch được tái cấu trúc. Trong một số trường hợp, "kháng thể người" có thể bao gồm các trình tự khung liên ứng có nguồn gốc từ các phân tích trình tự khung của người, ví dụ như được mô tả trong Knappik và cộng sự, J Mol Biol (Tạp chí Sinh học phân tử) 296:57-86, 2000), hoặc HCDR3 tổng hợp được hợp nhất vào thư viện gen globulin miễn dịch người biểu hiện trên thực khuẩn, ví dụ như được mô tả trong Shi và cộng sự, J Mol Biol (Tạp chí Sinh học phân tử) 397:385-96, 2010 và Bằng sáng chế quốc tế số công bố WO2009/085462). Các kháng thể trong đó các điểm gắn kháng nguyên có nguồn gốc từ các loài không phải là người không bao gồm trong định nghĩa về "kháng thể người".

Các kháng thể nhân hóa phân lập có thể được tổng hợp. Các kháng thể người, mặc dù có nguồn gốc từ các trình tự globulin miễn dịch người, có thể được tạo bằng cách sử dụng các hệ thống như các khung tổng hợp và/hoặc CDR tổng hợp hợp nhất vào bề mặt biểu hiện của thực khuẩn (phage display), hoặc có thể được gây đột biến trong ống nghiệm để tăng cường các đặc tính của kháng thể, tạo nên các kháng thể không tồn tại một cách tự nhiên trong tập hợp toàn bộ các loại dòng mầm của kháng thể người *trong cơ thể sống.*

Trong tài liệu này, thuật ngữ "kháng thể tái tổ hợp" bao gồm tất cả các kháng thể được điều chế, biểu hiện, tạo hoặc phân lập bằng phương tiện tái tổ hợp, như các kháng thể phân lập từ động vật (ví dụ, chuột) được biến đổi gen hoặc chuyển đoạn nhiễm sắc thể đối với các gen globulin miễn dịch người hoặc tế bào lai được tạo từ đó, các kháng thể được phân lập từ tế bào chủ được biến nạp để biểu hiện kháng thể, các kháng thể được phân lập từ thư viện kháng thể tổ hợp, tái tổ hợp, và các kháng thể được điều chế, biểu hiện, tạo hoặc phân lập bằng phương tiện khác bất kỳ liên quan đến việc cắt nối các trình tự gen globulin miễn dịch người với các trình tự ADN khác, hoặc các kháng thể được tạo trong ống nghiệm bằng cách trao đổi nhánh Fab.

Trong tài liệu này, thuật ngữ "kháng thể đơn dòng" chỉ chế phẩm gồm các phân tử kháng thể có thành phần đơn phân tử. Các kháng thể đơn dòng của sáng chế có thể được tạo ra bằng phương pháp tế bào lai, kỹ thuật biểu hiện trên thực khuẩn, kỹ thuật tạo dòng gen lympho bào đơn hoặc bằng phương pháp ADN tái tổ hợp. Ví dụ, có thể tạo các kháng thể đơn dòng bằng tế bào lai bao gồm tế bào B thu được từ một động vật, không phải là người, được chuyển gen, chẳng hạn như chuột nhắt hoặc chuột biến đổi gen, có bộ gen bao gồm gen biến đổi chuỗi nặng và gen biến đổi chuỗi nhẹ của người.

Trong một số phương án nhất định, thuật ngữ "mAb" là kháng thể đơn dòng có trình tự chuỗi nặng biến đổi (VH) bao gồm SỐ ID TRÌNH TỰ: 137 và trình tự chuỗi nhẹ biến đổi (VL) bao gồm SỐ ID TRÌNH TỰ: 139. Trong một số phương án nhất định, mAb là kháng thể đơn dòng người hoàn chỉnh có trình tự chuỗi nặng (HC) bao gồm SỐ ID TRÌNH TỰ: 138 và trình tự chuỗi nhẹ (LC) bao gồm SỐ ID TRÌNH TỰ: 140. Trong một số phương án nhất định, tùy chọn có thể không có đơn phân lysin ở vị trí 446 có SỐ ID TRÌNH TỰ: 138.

Trong tài liệu này, thuật ngữ "kháng thể hỗn hợp" đề cập đến kháng thể trong đó trình tự axit amin của phân tử globulin miễn dịch có nguồn gốc từ hai hoặc nhiều loài. Vùng biến đổi của cả chuỗi nhẹ và chuỗi nặng thường tương ứng với vùng biến đổi của kháng thể có nguồn gốc từ một loài động vật có vú (ví dụ chuột nhắt, chuột, thỏ, v.v.) có tính đặc hiệu, ái lực và khả năng mong muốn, trong khi các vùng hằng định tương ứng với các trình tự của kháng thể có nguồn gốc từ loài động vật có vú khác (ví dụ, con người) để tránh gây ra đáp ứng miễn dịch ở loài đó.

Trong tài liệu này, thuật ngữ "kháng thể đa hiệu" đề cập đến kháng thể bao gồm một số lượng lớn các trình tự miền biến đổi globulin miễn dịch, trong đó trình tự miền biến đổi globulin miễn dịch thứ nhất có tính đặc hiệu liên kết đối với epitope thứ nhất hoặc bao gồm các trình tự dòng mầm thiếu tính đặc hiệu liên kết đã biết bất kỳ và trình tự miền biến đổi globulin miễn dịch thứ hai có tính đặc hiệu liên kết đối với epitope thứ hai hoặc bao gồm các trình tự dòng mầm thiếu tính đặc hiệu liên kết đã biết bất kỳ, và trong đó miền biến đổi globulin miễn dịch thứ nhất và/hoặc thứ hai tùy chọn bao gồm phần hoạt tính dược lý được tiếp hợp (ví dụ peptit điều trị). Trong một phương án, các epitope thứ nhất và thứ hai nằm trên cùng một kháng nguyên, *ví dụ*, cùng một protein (hoặc tiểu phần của protein đa phân). Trong một phương án, các epitope thứ nhất và thứ hai chồng lấp hoặc về cơ bản là chồng lấp lên nhau. Trong một phương án, các epitope thứ nhất và thứ hai không chồng lấp hoặc về cơ bản không chồng lấp lên nhau. Trong một phương án, các epitope thứ nhất và thứ hai không nằm trên cùng một kháng nguyên, *ví dụ*, các protein khác nhau (hoặc các tiểu phần khác nhau của protein đa phân). Trong một phương án, miền biến đổi globulin miễn dịch thứ nhất và thứ hai bao gồm cùng một phần hoạt tính dược lý được tiếp hợp. Trong một phương án, miền biến đổi globulin miễn dịch thứ nhất và thứ hai bao gồm các phần hoạt tính dược lý khác nhau. Trong một phương án, chỉ miền biến đổi globulin miễn dịch thứ nhất là bao gồm phần hoạt tính dược lý được tiếp hợp. Trong một phương án, chỉ miền biến đổi globulin miễn dịch thứ hai là bao gồm phần hoạt tính dược lý được tiếp hợp. Trong một phương án, kháng thể đa hiệu bao gồm miền biến đổi

globulin miễn dịch thứ ba, thứ tư hoặc thứ năm. Trong một phương án, kháng thể đa hiệu là phân tử kháng thể đặc hiệu đôi, kháng thể đặc hiệu ba hoặc phân tử kháng thể đặc hiệu bốn.

Trong tài liệu này, thuật ngữ "kháng thể đặc hiệu đôi" đề cập đến kháng thể đa hiệu liên kết với không quá hai epitope hoặc hai kháng nguyên và/hoặc bao gồm hai phần hoạt tính dược lý được tiếp hợp (ví dụ, phần hoạt tính dược lý được tiếp hợp giống hoặc khác nhau). Kháng thể đặc hiệu đôi có đặc trưng ở chỗ trình tự miền biến đổi globulin miễn dịch thứ nhất có tính đặc hiệu liên kết đối với epitope thứ nhất hoặc bao gồm các trình tự dòng mầm thiếu tính đặc hiệu liên kết đã biết bất kỳ và trình tự miền biến đổi globulin miễn dịch thứ hai có tính đặc hiệu liên kết đối với epitope thứ hai hoặc bao gồm các trình tự dòng mầm thiếu tính đặc hiệu liên kết đã biết bất kỳ, và trong đó miền biến đổi globulin miễn dịch thứ nhất và/hoặc thứ hai tùy chọn bao gồm phần hoạt tính dược lý được tiếp hợp. Trong một phương án, các epitope thứ nhất và thứ hai nằm trên cùng một kháng nguyên, *ví dụ*, cùng một protein (hoặc tiểu phần của protein đa phân). Trong một phương án, các epitope thứ nhất và thứ hai chồng lấp hoặc về cơ bản là chồng lấp lên nhau. Trong một phương án, các epitope thứ nhất và thứ hai không nằm trên cùng một kháng nguyên, *ví dụ*, các protein khác nhau (hoặc các tiểu phần khác nhau của protein đa phân). Trong một phương án, miền biến đổi globulin miễn dịch thứ nhất và thứ hai bao gồm cùng một phần hoạt tính dược lý được tiếp hợp. Trong một phương án, miền biến đổi globulin miễn dịch thứ nhất và thứ hai bao gồm các phần hoạt tính dược lý khác nhau. Trong một phương án, chỉ miền biến đổi globulin miễn dịch thứ nhất là bao gồm phần hoạt tính dược lý được tiếp hợp. Trong một phương án, chỉ miền biến đổi globulin miễn dịch thứ hai là bao gồm phần hoạt tính dược lý được tiếp hợp. Trong một phương án, kháng thể đặc hiệu đôi bao gồm trình tự miền biến đổi chuỗi nhẹ và trình tự miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có tính đặc hiệu liên kết đối với epitope thứ nhất hoặc bao gồm các trình tự dòng mầm thiếu tính đặc hiệu liên kết đã biết bất kỳ và trình tự miền biến đổi chuỗi nhẹ và trình tự miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai có tính đặc hiệu liên kết đối với epitope thứ hai hoặc bao gồm các trình tự dòng mầm thiếu tính đặc hiệu liên kết đã biết bất kỳ, và trong đó miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và/hoặc thứ hai tùy chọn bao gồm phần hoạt tính dược lý được tiếp hợp. Trong một phương án, miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và thứ hai bao gồm cùng một phần hoạt tính dược lý được tiếp hợp. Trong một phương án, miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và thứ hai bao gồm các phần hoạt tính dược lý được tiếp hợp khác nhau. Trong một phương án, chỉ miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất là bao gồm phần hoạt tính dược lý được tiếp hợp. Trong một phương án, chỉ miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai là bao gồm phần hoạt tính dược lý được tiếp hợp.

Trong bản mô tả này, "kháng thể đầy đủ chiều dài" chỉ một kháng thể có hai chuỗi nặng kháng thể đầy đủ chiều dài và hai chuỗi nhẹ kháng thể đầy đủ chiều dài. Chuỗi nặng (HC) kháng thể đầy đủ chiều dài bao gồm các miền biến đổi và miền hằng định chuỗi nặng đã biết là VH, CH1, CH2, và CH3. Chuỗi nhẹ (LC) kháng thể đầy đủ chiều dài bao gồm các miền biến đổi và miền hằng định chuỗi nhẹ đã biết là VL và CL. Kháng thể đầy đủ chiều dài có thể thiếu lysin đầu C (K) trong một hoặc cả hai chuỗi nặng.

Thuật ngữ "nhánh Fab" hay "nửa phân tử" chỉ một cặp chuỗi nặng-chuỗi nhẹ liên kết đặc hiệu với một kháng nguyên.

Có thể tạo các kháng thể đặc hiệu đôi đầy đủ chiều dài, ví dụ, bằng cách trao đổi nhánh Fab (hoặc trao đổi nửa phân tử) giữa hai kháng thể lưỡng trị đơn đặc hiệu bằng cách đưa các thay thế tại giao diện CH3 chuỗi nặng tại mỗi nửa phân tử để hỗ trợ hình thành dị đime của hai nửa phân tử kháng thể có tính đặc hiệu khác nhau *trong ống nghiệm* trong môi trường không có tế bào hoặc bằng cách đồng biểu hiện. Phản ứng trao đổi nhánh Fab là kết quả của phản ứng isome hóa liên kết đisulfua và sự phân ly-kết hợp các miền CH3. Các liên kết đisulfua chuỗi nặng trong các vùng bản lề của các kháng thể đơn đặc hiệu mẹ bị khử. Các xystein tự do thu được của một trong các kháng thể đơn đặc hiệu mẹ tạo thành liên kết đisulfua giữa các chuỗi nặng với các đơn phân xystein của phân tử kháng thể đơn đặc hiệu mẹ thứ hai và đồng thời các miền CH3 của các kháng thể mẹ được giải phóng và tái tạo bằng quá trình phân ly-kết hợp. Các miền CH3 của các nhánh Fab có thể được kiến tạo để hỗ trợ quá trình dị đime hóa hơn là đồng đime hóa. Sản phẩm tạo thành là kháng thể đặc hiệu đôi có hai nhánh Fab hoặc hai nửa phân tử mỗi nửa liên kết với một epitope khác nhau.

Trong bản mô tả này, "đồng đime hóa", đối với các kháng thể, chỉ sự tương tác của hai chuỗi nặng có các trình tự axit amin CH3 đồng nhất. Trong bản mô tả này, "đồng đime", đối với các kháng thể, chỉ kháng thể có hai chuỗi nặng có các trình tự axit amin CH3 đồng nhất.

Trong bản mô tả này, "dị đime hóa", đối với các kháng thể, chỉ sự tương tác của hai chuỗi nặng có các trình tự axit amin CH3 không đồng nhất. Trong bản mô tả này, "dị đime", đối với các kháng thể, chỉ kháng thể có hai chuỗi nặng có các trình tự axit amin CH3 không đồng nhất.

Có thể sử dụng phương pháp "knob-in-hole" (nghĩa là mô hình gói các mạch bên của axit amin giữa các chuỗi xoắn alpha liền kề) (xem, ví dụ, Bằng sáng chế quốc tế Số công bố WO 2006/028936) để tạo các kháng thể đặc hiệu đôi đầy đủ chiều dài. Tóm tắt như sau, các axit amin được chọn tạo thành giao diện của các miền CH3 trong IgG người có thể bị đột

biến ở các vị trí tác động đến các tương tác của các miền CH3 để thúc đẩy việc tạo thành dị đime. Một axit amin có mạch bên nhỏ (hole - lỗ) được đưa vào chuỗi nặng của một kháng thể liên kết đặc hiệu với kháng nguyên thứ nhất và một axit amin có mạch bên lớn (knob - đầu núm) được đưa vào chuỗi nặng của một kháng thể liên kết đặc hiệu với kháng nguyên thứ hai. Sau khi đồng biểu hiện hai kháng thể, dị đime được tạo thành, là kết quả của tương tác ưu tiên của chuỗi nặng có "hole" ("lỗ") với chuỗi nặng có "knob" ("đầu núm"). Ví dụ về các cặp thay thế CH3 tạo thành đầu núm và lỗ là (được biểu hiện là vị trí điều hòa tại miền CH3 thứ nhất của chuỗi nặng thứ nhất/vị trí điều hòa tại miền CH3 thứ hai của chuỗi nặng thứ hai): T366Y/F405A, T366W/F405W, F405W/Y407A, T394W/Y407T, T394S/Y407A, T366W/T394S, F405W/T394S và T366W/T366S_L368A_Y407V.

Có thể sử dụng các phương pháp khác như phương pháp thúc đẩy quá trình dị đime hóa chuỗi nặng bằng tương tác tĩnh điện bằng cách thay thế các gốc tích điện dương tại một mặt CH3 và các gốc tích điện âm tại mặt CH3 thứ hai, như được mô tả trong Bằng sáng chế Hoa Kỳ Số công bố US2010/0015133; Bằng sáng chế Hoa Kỳ Số công bố US2009/0182127; Bằng sáng chế Hoa Kỳ Số công bố US2010/028637, hoặc Bằng sáng chế Hoa Kỳ Số công bố US2011/0123532. Trong các phương pháp khác, quá trình dị đime hóa có thể được thúc đẩy bởi các thay thế sau (được biểu hiện là vị trí điều hòa tại miền CH3 thứ nhất của chuỗi nặng thứ nhất/vị trí điều hòa tại miền CH3 thứ hai của chuỗi nặng thứ hai): L351Y_F405A_Y407V/T394W, T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V, T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V, L351Y_Y407A/T366A_K409F, L351Y_Y407A/T366V_K409F, Y407A/T366A_K409F, hoặc T350V_L351Y_F405A_Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W như được mô tả trong Bằng sáng chế Hoa Kỳ Số công bố US2012/0149876 hoặc Bằng sáng chế Hoa Kỳ Số công bố US2013/0195849.

Ngoài các phương pháp được mô tả ở phần trên, các kháng thể đặc hiệu đôi có thể được tạo *trong ống nghiệm* trong môi trường không có tế bào bằng cách đưa các đột biến bất đối xứng vào các vùng CH3 của hai kháng thể đồng đime đơn đặc hiệu và tạo thành kháng thể dị đime đặc hiệu đôi từ hai kháng thể đồng đime đơn đặc hiệu mẹ trong các điều kiện khử để cho phép isome hóa liên kết đisulfua theo các phương pháp được mô tả trong Bằng sáng chế quốc tế Số công bố WO2011/131746. Trong các phương pháp này, kháng thể lưỡng trị đơn đặc hiệu thứ nhất và kháng thể lưỡng trị đơn đặc hiệu thứ hai được kiến tạo để có một số thay thế nhất định tại miền CH3 làm tăng tính bền của dị đime; các kháng thể được ủ cùng nhau

trong các điều kiện khử đủ để cho phép các xystein trong vùng bản lề trải qua quá trình isome hóa liên kết đisulfua; từ đó tạo ra kháng thể đặc hiệu đôi bằng cách trao đổi nhánh Fab. Các điều kiện ủ nuôi cấy có thể được khôi phục lại tình trạng không khử. Ví dụ về các chất khử có thể được sử dụng là 2- mercaptoetylamin (2-MEA), đithiothreitol (DTT), đithioerythritol (DTE), glutathion, tris(2-carboxyetyl)phosphin (TCEP), L-xystein và beta-mercaptoetanol, tốt nhất là chất khử được chọn từ nhóm bao gồm: 2-mercaptoetylamin, đithiothreitol và tris(2-carboxyetyl)phosphin. Ví dụ, có thể ủ trong ít nhất 90 phút ở nhiệt độ ít nhất bằng 20°C với sự có mặt của ít nhất 2-MEA 25 mM hoặc với sự có mặt của ít nhất đithiothreitol 0,5 mM với độ pH bằng từ 5-8, ví dụ với độ pH bằng 7,0 hoặc độ pH bằng 7,4.

Việc đánh số đơn phân axit amin trong miền hằng định của kháng thể trong toàn bộ bản mô tả tuân thủ theo chỉ mục EU như được mô tả trong Kabat và cộng sự, Sequences of Proteins of Immunological Interest (Trình tự protein có lợi ích miễn dịch), Tái bản lần 5. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991), trừ khi được quy định khác.

Các liên hợp

Trong phương án chung khác, sáng chế đề cập đến liên hợp bao gồm kháng thể của sáng chế được tiếp hợp cộng hóa trị với phần hoạt tính dược lý, như peptit điều trị tổng hợp (ví dụ, peptit PYY vòng), đặc hiệu theo vị trí, sao cho peptit ghép kháng thể có thời gian bán thải kéo dài/tăng so với peptit khi đứng riêng. Sáng chế cũng đề cập đến các chế phẩm dược và các phương pháp sử dụng chúng. Các liên hợp này hữu ích trong phòng ngừa, điều trị hoặc cải thiện bệnh hoặc rối loạn như béo phì, tiểu đường týp II, hội chứng chuyển hóa (tức là Hội chứng X), kháng insulin, suy giảm dung nạp glucoza (ví dụ như không dung nạp glucoza), tăng đường huyết, tăng insulin máu, tăng triglyxerit máu, giảm glucoza huyết do tăng insulin máu bẩm sinh (CHI), rối loạn mỡ máu, xơ vữa động mạch, bệnh thận do tiểu đường, các yếu tố nguy cơ tim mạch khác như tăng huyết áp và các yếu tố nguy cơ tim mạch liên quan đến nồng độ cholesterol và/hoặc lipit không được kiểm soát, loãng xương, viêm, bệnh gan nhiễm mỡ không do uống rượu (NAFLD), viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), bệnh thận và/hoặc bệnh chàm, và một số bệnh khác.

Trong một số phương án, kháng thể của sáng chế được biến đổi để bao gồm ít nhất một thay thế đơn phân xystein có khả năng được tiếp hợp với phần hoạt tính dược lý để kéo dài/tăng thời gian bán thải của phần hoạt tính dược lý. Trong một số phương án, ít nhất một thay thế đơn phân xystein có mặt trong vùng xác định bổ sung của kháng thể. Trong một số phương án, ít nhất một thay thế đơn phân xystein có mặt trong vùng xác định bổ sung chuỗi nặng (HCDR).

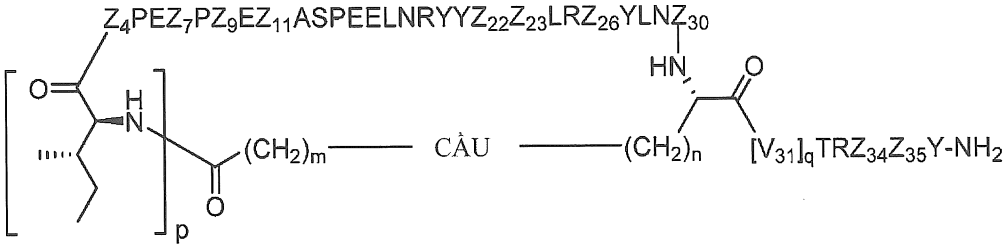
Trong một số phương án, ít nhất một thay thế đơn phân xystein có mặt trong HCDR3, trong đó HCDR3 bao gồm trình tự axit amin có SỐ ID TRÌNH TỰ:143. Trong một số phương án, kháng thể bao gồm HCDR3 bao gồm trình tự axit amin có SỐ ID TRÌNH TỰ: 143 có ít nhất một thay thế xystein bổ sung có khả năng được tiếp hợp với phần hoạt tính dược lý.

Trong một số phương án, phần hoạt tính dược lý có thể bao gồm cầu nối. Cầu nối có thể được biến đổi hóa học để cho phép tiếp hợp kháng thể với phần hoạt tính dược lý. Cầu nối có thể, ví dụ, bao gồm, nhưng không giới hạn ở cầu nối peptit, cầu nối hyđrocarbon, cầu nối polyetylen glycol (PEG), polypropylen glycol (PPG), cầu nối polysacarit, cầu nối polyeste, cầu nối hỗn hợp bao gồm PEG và dị vòng được nhúng vào, hoặc mạch hyđrocarbon. Ví dụ, cầu nối PEG có thể bao gồm 2-24 đơn vị PEG.

Trong một số phương án, kháng thể đơn dòng của sáng chế được tiếp hợp với một, hai, ba, bốn, năm hoặc sáu phần hoạt tính dược lý (ví dụ như (các) peptit điều trị) được đề cập. Trong các phương án ưu tiên, kháng thể đơn dòng không nhắm đích được tiếp hợp với hai phần hoạt tính dược lý được đề cập. Trong một số phương án nhất định trong đó kháng thể đơn dòng được tiếp hợp với ít nhất hai phần hoạt tính dược lý được quan tâm, các phần hoạt tính dược lý được quan tâm có thể là cùng một phần hoạt tính dược lý hoặc có thể là các loại phần hoạt tính dược lý khác nhau.

Các phương pháp tiếp hợp kháng thể của sáng chế với các phần hoạt tính dược lý của sáng chế đã được biết đến trong ngành. Tóm lại, các kháng thể của sáng chế có thể được khử bằng chất khử (ví dụ: TCEP (tris(2-carboxyetyl) phosphin), được tinh chế (ví dụ, bằng cách hấp phụ protein A hoặc lọc gel) và được tiếp hợp với phần hoạt tính dược lý (ví dụ, bằng cách cung cấp peptit đông khô cho kháng thể được khử trong các điều kiện cho phép tiếp hợp). Sau phản ứng tiếp hợp, liên hợp có thể được tinh chế bằng phép sắc ký trao đổi ion hoặc sắc ký tương tác kỵ nước (HIC) với bước tinh chế cuối cùng là hấp phụ protein A. Trong một số phương án nhất định, các kháng thể của sáng chế có thể được tinh chế trước khi được khử bằng các phương pháp HIC. Xem mô tả chi tiết hơn về các phương pháp tiếp hợp, xem, ví dụ trong, Ví dụ 103, và Dennler và cộng sự, Antibodies (Kháng thể) 4: 197-224 (2015).

Trong bản mô tả này, sáng chế đề cập đến liên hợp bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó được ghép với peptit PYY vòng, trong đó peptit PYY vòng được biểu diễn theo Công thức I hoặc chất dẫn xuất hoặc muối dược dụng của nó:



Công thức I

trong đó

p bằng 0 hoặc 1;

m bằng 0, 1, 2, 3, 4, hoặc 5;

n bằng 1, 2, 3 hoặc 4;

q bằng 0 hoặc 1; miễn là q chỉ bằng 1 khi không có Z_{30};

CẦU là -Ph-CH_2-S-, -triazolyl-, -NHC(O)CH_2S-, -SCH_2C(O)NH-,

-$(OCH_2CH_2)_2$NHC(O)CH_2S, -NHC(O)-, hoặc -CH_2S-;

Z_4 là K, A, E, S, hoặc R;

Z_7 là A hoặc K;

Z_9 là G hoặc K;

Z_{11} là D hoặc K;

Z_{22} là A hoặc K;

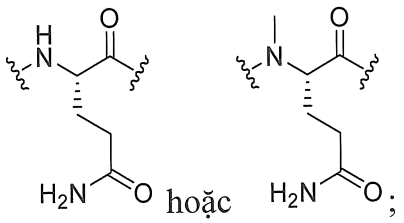
Z_{23} là S hoặc K;

Z_{26} là A hoặc H;

Z_{30} là L, W, không có mặt, hoặc K;

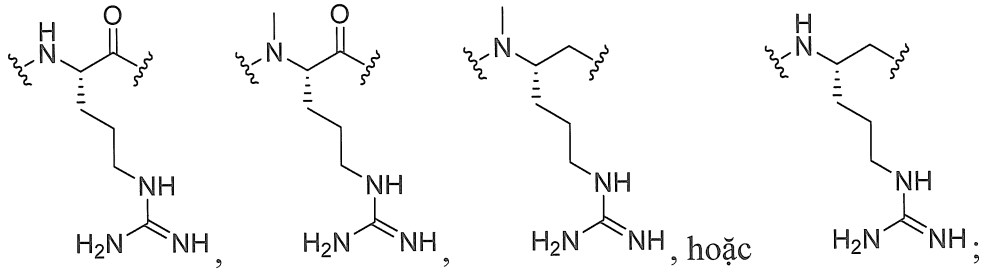
miễn là Z_{30} chỉ không có mặt khi q bằng 1;

Z_{34} là



;

Z_{35} là



trong đó chất dẫn xuất là hợp chất có công thức I được biến đổi bằng một hoặc nhiều quy trình được chọn từ nhóm bao gồm amit hóa, glycosyl hóa, carbamyl hóa, sulfat hóa, phosphoryl hóa, tạo vòng, liên kết với chất béo, hoặc gắn kết với polyetylen glycol (pegylation).

Trong một số phương án, peptit PYY vòng là chất dẫn xuất của peptit PYY vòng có có công thức I được biến đổi bằng một hoặc nhiều quy trình được chọn từ nhóm bao gồm amit hóa, liên kết với chất béo, gắn kết với polyetylen glycol (pegylation), hoặc muối dược dụng của nó.

Trong một số phương án, peptit PYY vòng được biểu diễn theo công thức I hoặc chất dẫn xuất hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

p bằng 0 hoặc 1;

m bằng 0, 1, 2, 3, 4, hoặc 5;

n bằng 1, 2, 3 hoặc 4;

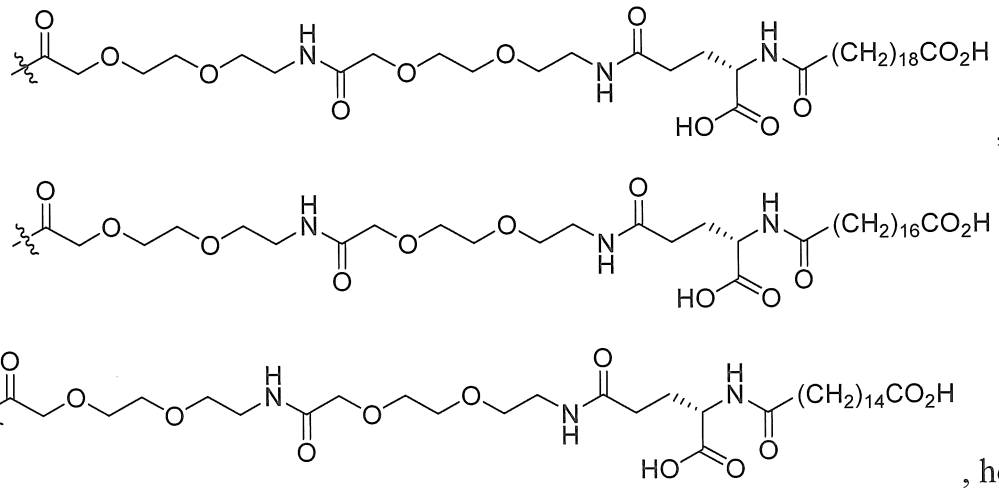
q bằng 0 hoặc 1; miễn là q chỉ bằng 1 khi không có Z_{30};

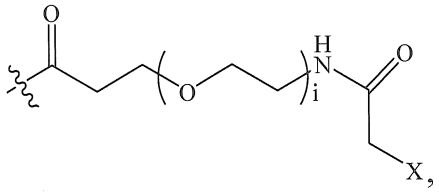
CẦU là -Ph-CH_2-S-, -triazolyl-, -NHC(O)CH_2S-, -SCH_2C(O)NH-,

-$(OCH_2CH_2)_2$NHC(O)CH_2S, -NHC(O)-, hoặc -CH_2S-;

Z_4 là K, A, E, S, hoặc R;

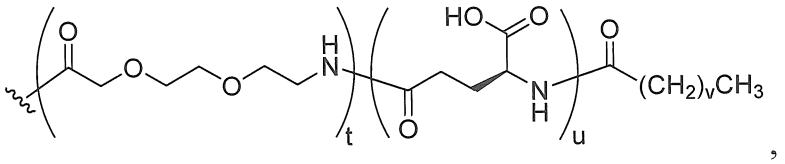
Z_7 là A hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này tùy chọn được thay thế bằng





trong đó i là số nguyên bằng từ 0 đến 24, và X = Br, I hoặc Cl,

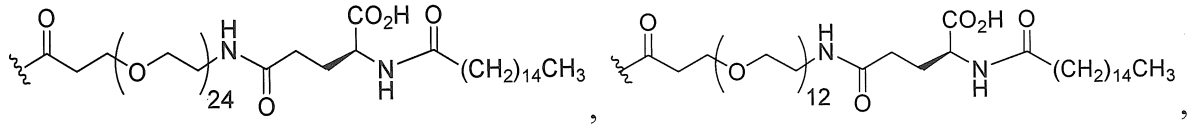
-C(O)CH_2Br, -C(O)CH_2I, hoặc -C(O)CH_2Cl; Z_9 là G hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này tùy chọn được thay thế bằng

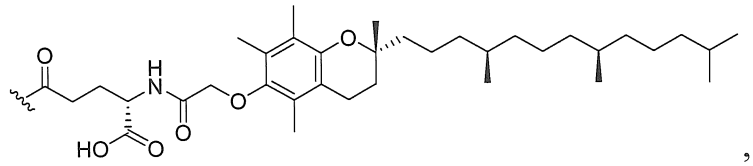


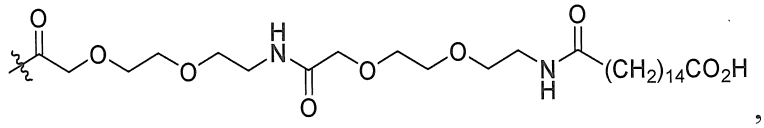
trong đó t bằng 0, 1, hoặc 2;

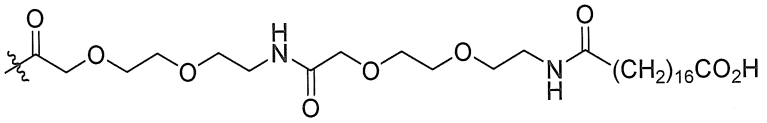
u bằng 0 hoặc 1; và

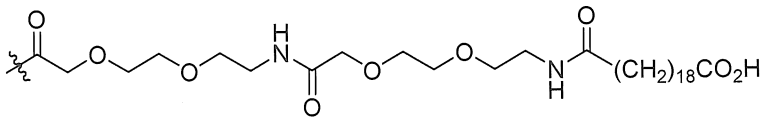
v bằng 14, 16, hoặc 18;

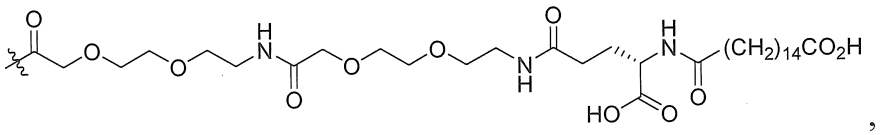


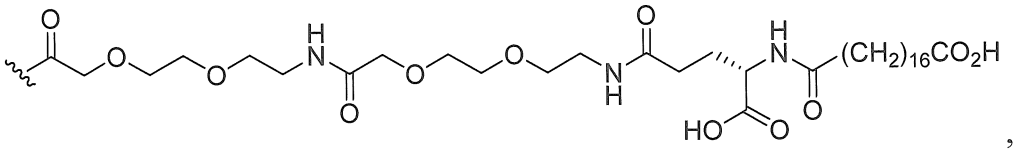


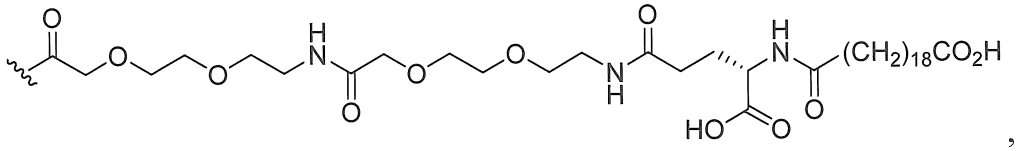


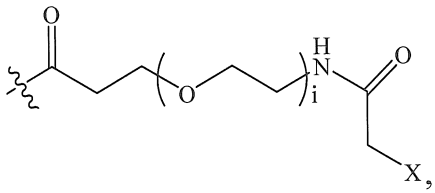






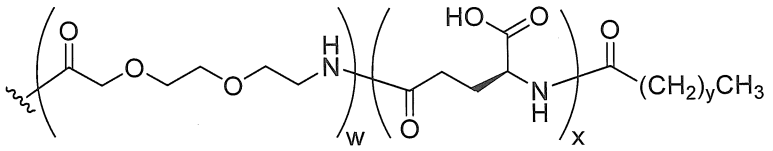






trong đó i là số nguyên bằng từ 0 đến 24, và X = Br, I hoặc Cl, $C(O)CH_2Br$, $-C(O)CH_2I$, hoặc $-C(O)CH_2Cl$;

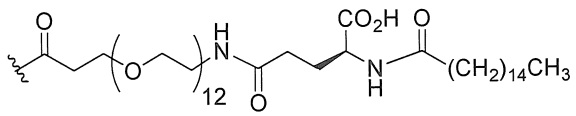
Z_{11} là D hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này tùy chọn được thay thế bằng

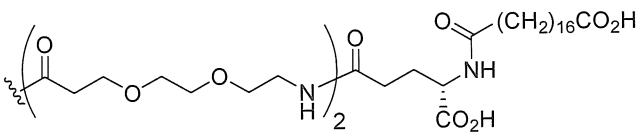


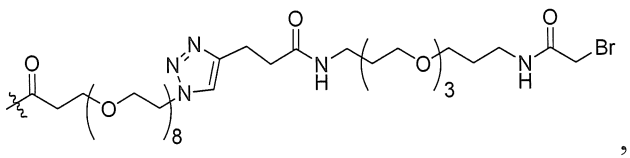
trong đó w bằng 0, 1, 2 hoặc 4;

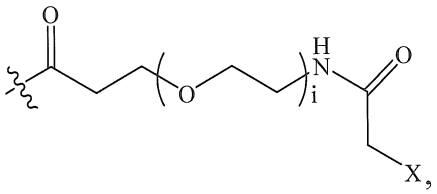
x bằng 0 hoặc 1; và

y bằng 14, 16, hoặc 18;

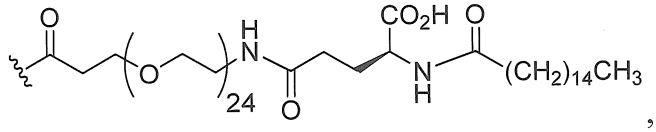


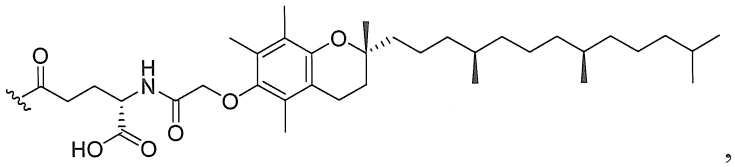


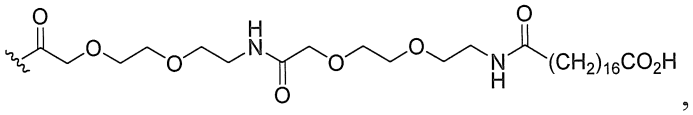


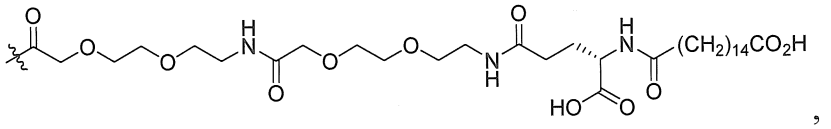


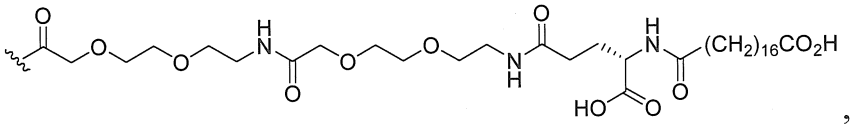
trong đó i là số nguyên bằng từ 0 đến 24, và X = Br, I hoặc Cl,

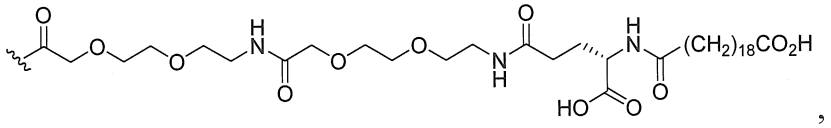








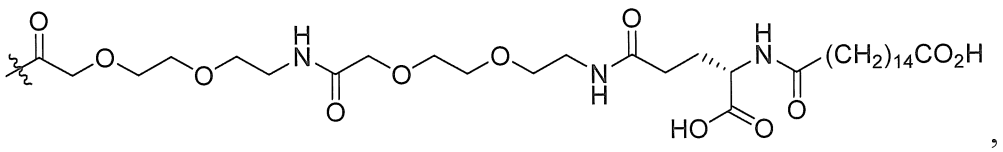


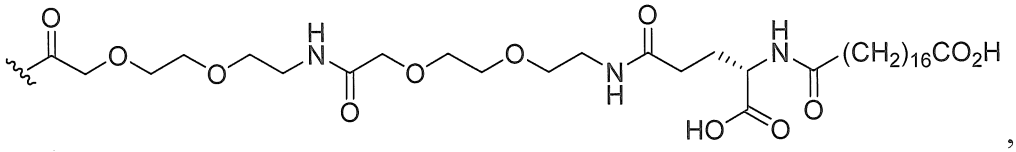


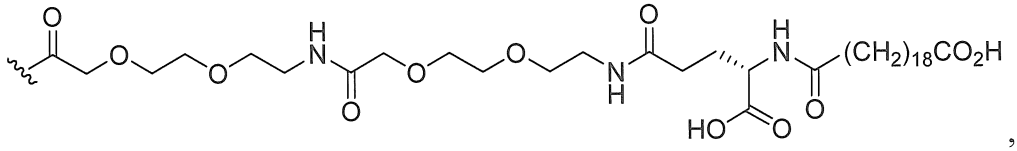
-C(O)CH_2I,

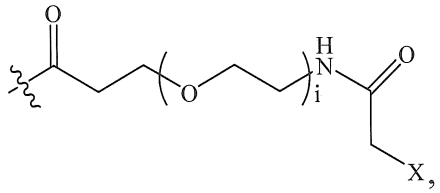
-C(O)CH_2Cl hoặc -C(O)CH_2Br;

Z_{22} là A hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này tùy chọn được thay thế bằng



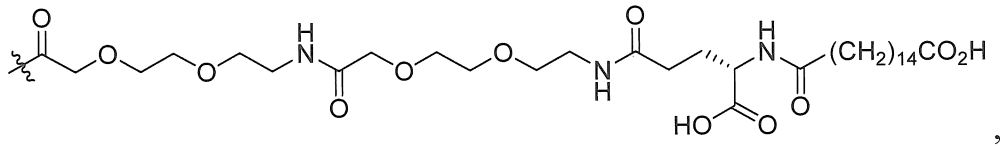

,

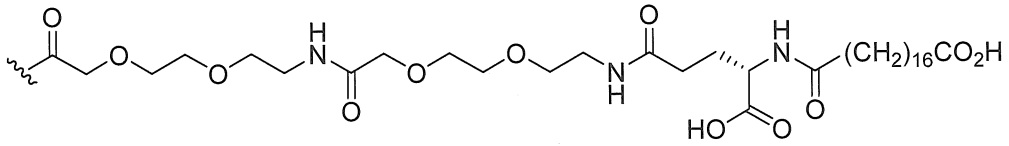

,

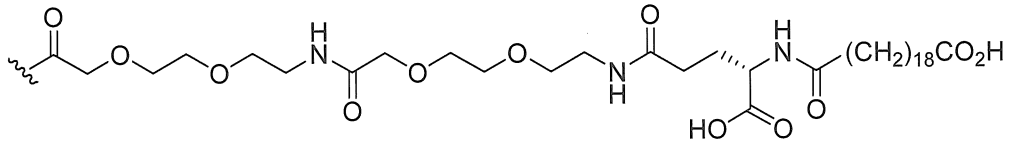

hoặc ,

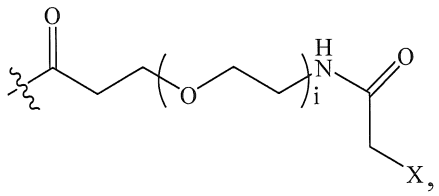
trong đó i là số nguyên bằng từ 0 đến 24, và X = Br, I hoặc Cl, C(O)CH_2Br, -C(O)CH_2I, hoặc -C(O)CH_2Cl;

Z_{23} là S hoặc K; trong đó mạch bên amino của K này tùy chọn được thay thế bằng


,


,

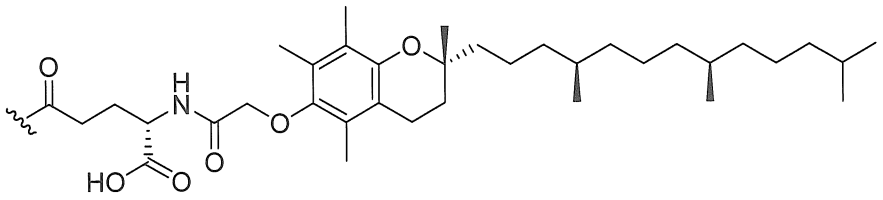

,

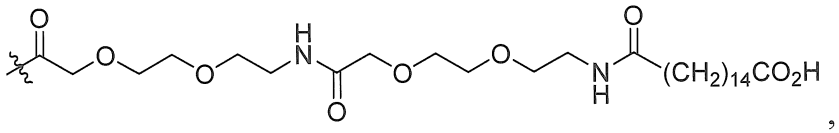

hoặc ,

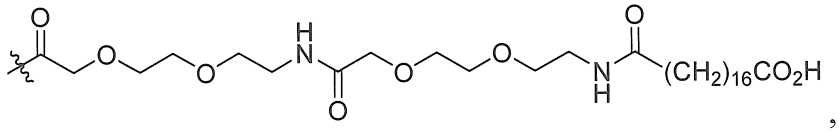
trong đó i là số nguyên bằng từ 0 đến 24, và X = Br, I hoặc Cl, C(O)CH_2Br, -C(O)CH_2I, hoặc -C(O)CH_2Cl;

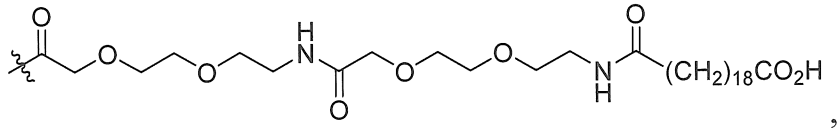
Z_{26} là A hoặc H;

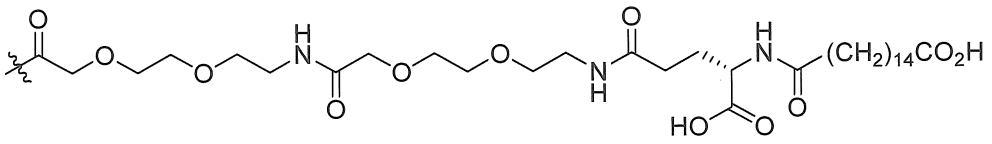
Z_{30} là L, W, không có, hoặc K, miễn là Z_{30} chỉ không có mặt khi q bằng 1, trong đó mạch bên amino của K này tùy chọn được thay thế bằng

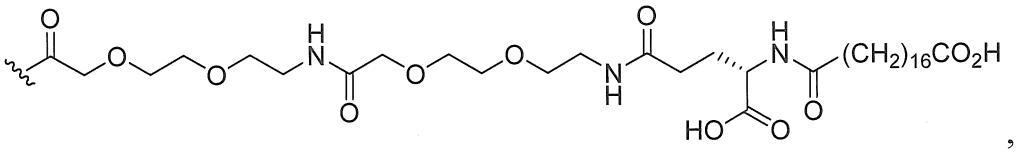

,

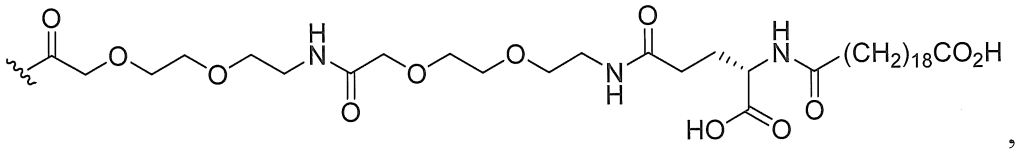

,

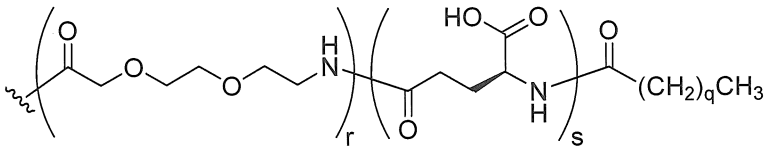

,


,


,


,

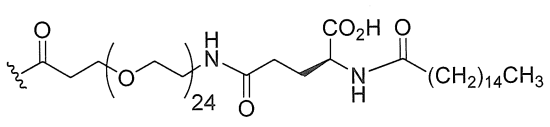

,

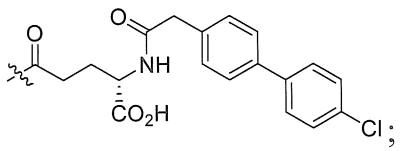

,

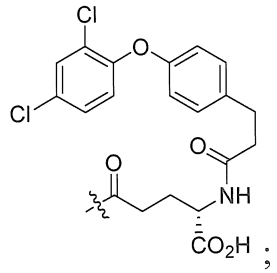
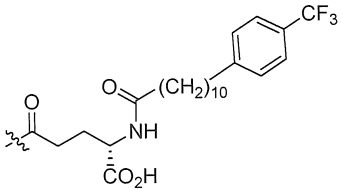
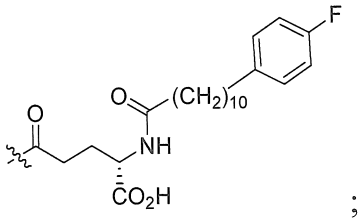
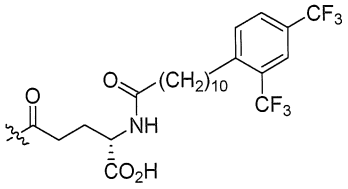
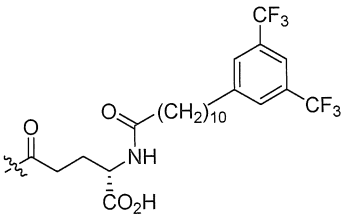
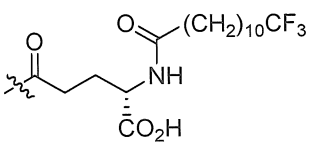
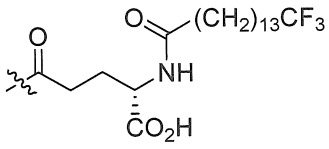
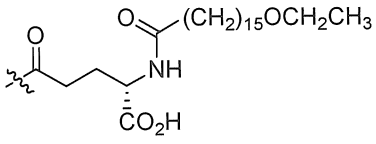
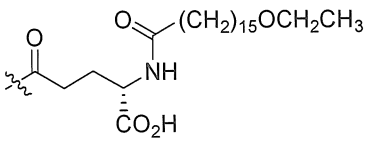
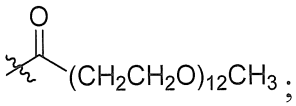
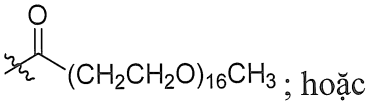
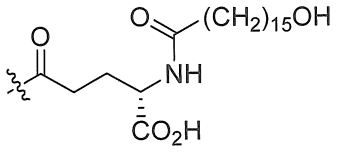
trong đó r bằng 0, 1, hoặc 2;

s bằng 0 hoặc 1; và

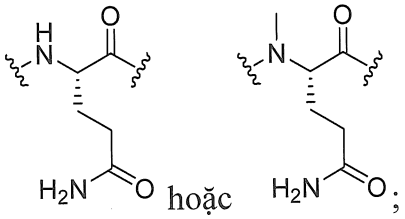
q bằng 14, 16 hoặc 18; hoặc


;


;

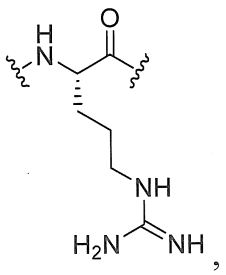
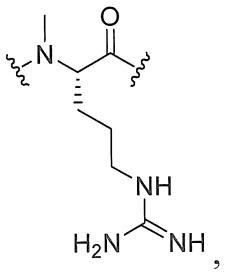
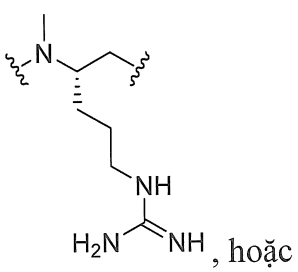
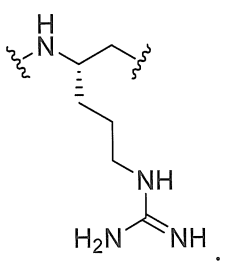

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

; hoặc

;

Z_{34} là


hoặc

;

Z_{35} là


,

,

, hoặc

.

Trong một số phương án, peptit PYY vòng được biểu diễn theo công thức I hoặc chất dẫn xuất hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

p bằng 0 hoặc 1;

m bằng 0, 1, 2, 3, hoặc 5;

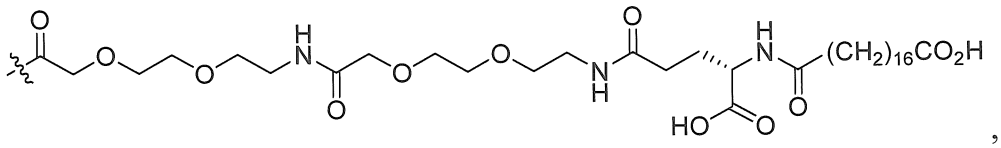
n bằng 1, 2, hoặc 4;

q bằng 0 hoặc 1; miễn là q chỉ bằng 1 khi không có Z_{30};

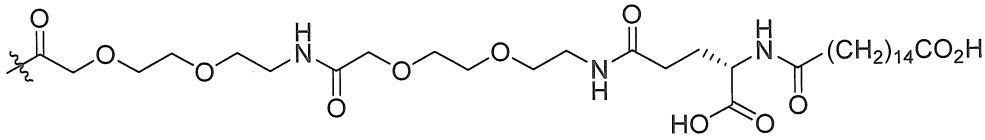
CẦU là -Ph-CH_2-S-, -triazolyl-, -NHC(O)CH_2S-, -SCH_2C(O)NH-, -$(OCH_2CH_2)_2$NHC(O)CH_2S, -NHC(O)-, hoặc -CH_2S-;

Z_4 là K, A, E, S, hoặc R;

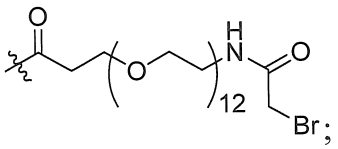
Z_7 là A hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này được thay thế bằng



,

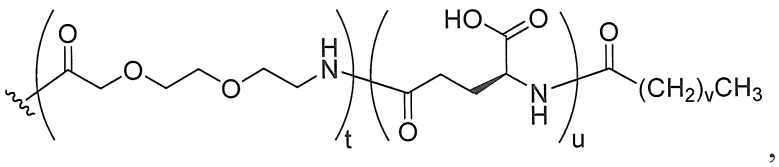


, hoặc



;

Z_9 là G hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này được thay thế bằng



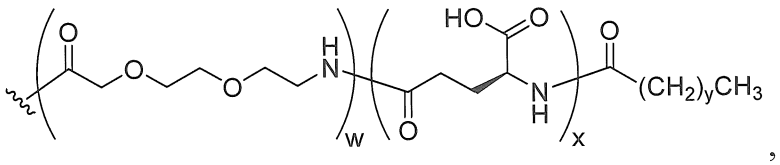
,

trong đó t bằng 0;

u bằng 1; và

v bằng 14;

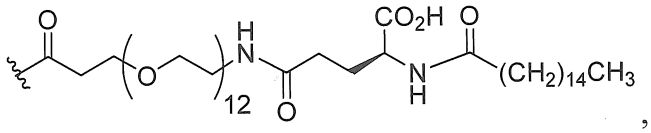
Z_{11} là D hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này tùy chọn được thay thế bằng

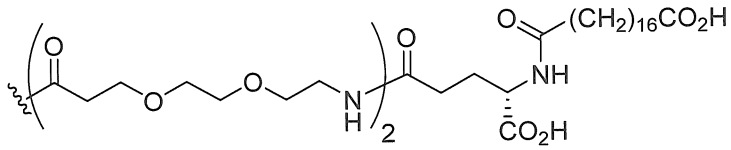


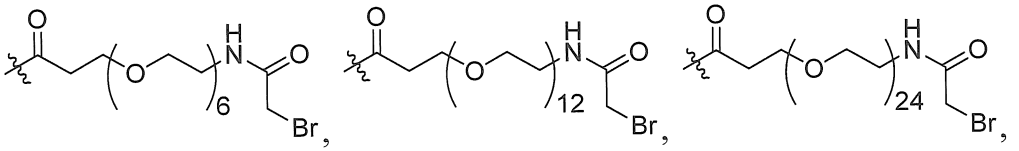
trong đó w bằng 0 hoặc 4;

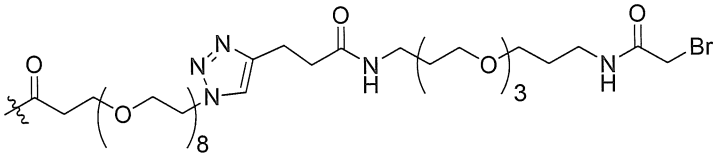
x bằng 1; và

y bằng 14;

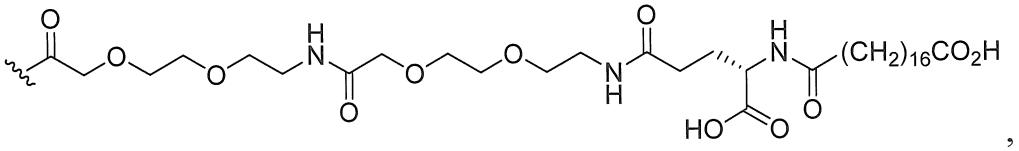


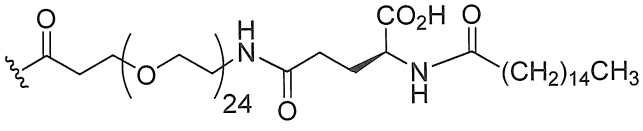


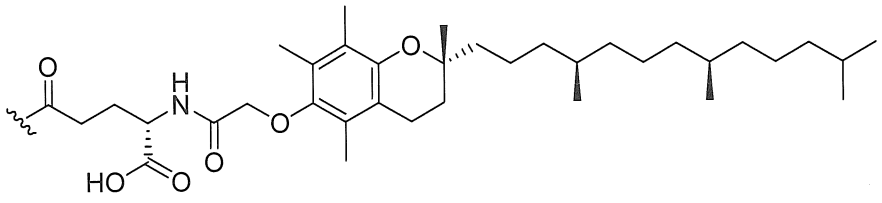


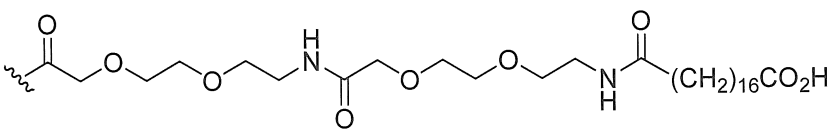


, -C(O)CH$_2$Br,



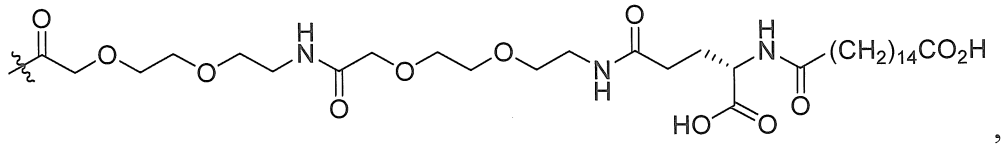




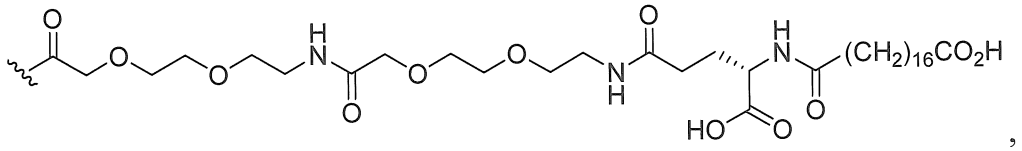


, hoặc

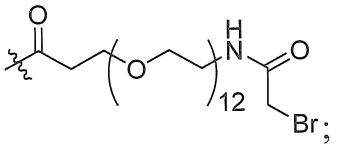
Z_{22} là A hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này được thay thế bằng



,

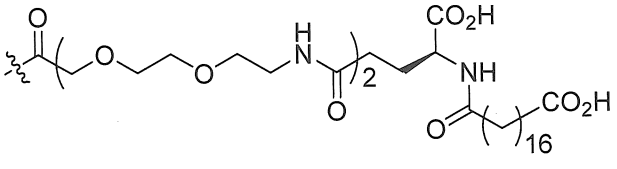


,

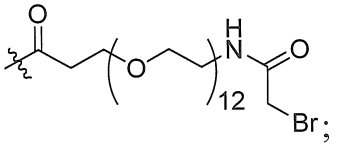


;

Z_{23} là S hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này được thay thế bằng



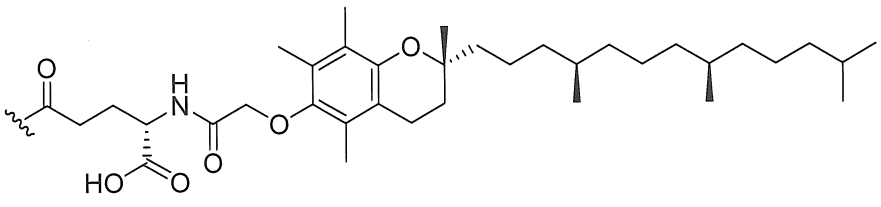
, hoặc



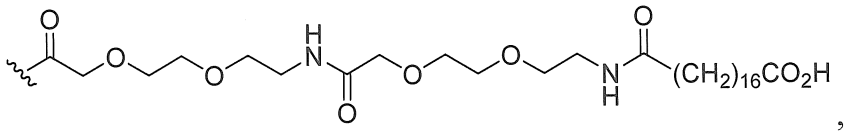
;

Z_{26} là A hoặc H;

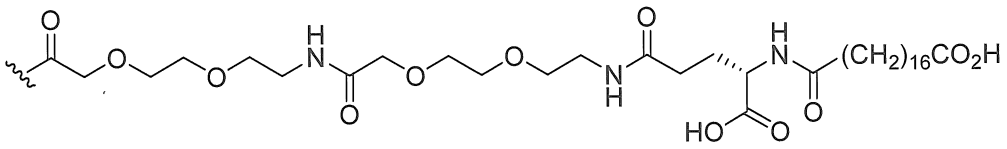
Z_{30} là L hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này được thay thế bằng



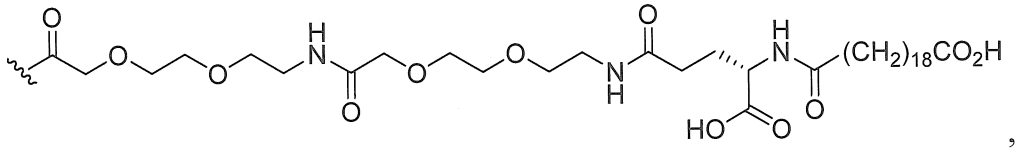
,



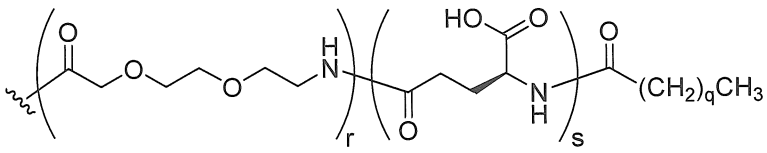
,



,



,

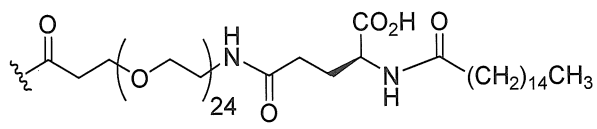


,

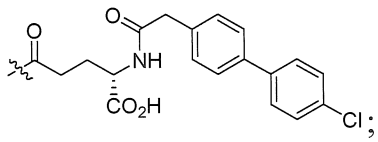
trong đó r bằng 0, hoặc 2;

s bằng 1; và

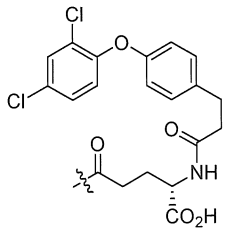
q bằng 14, 16 hoặc 18; hoặc



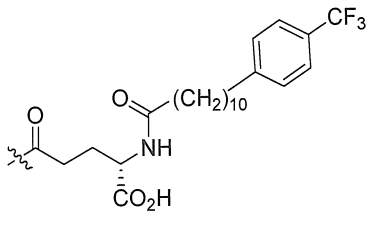
;



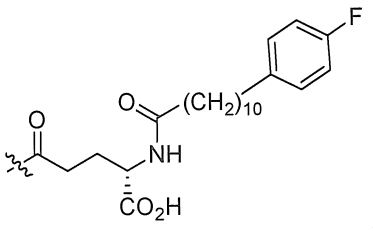
;



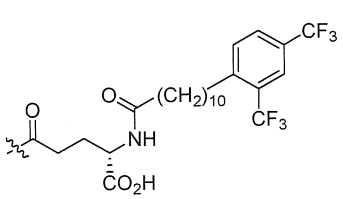
;



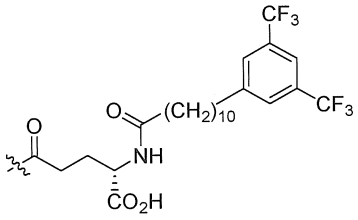
;



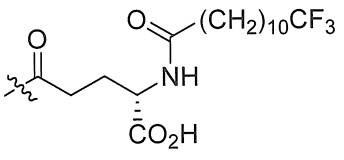
;



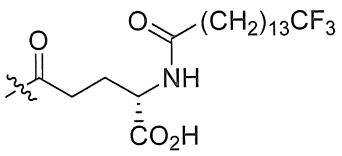
;



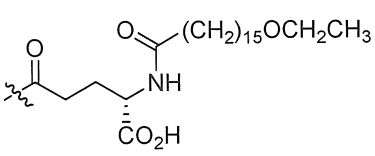
;



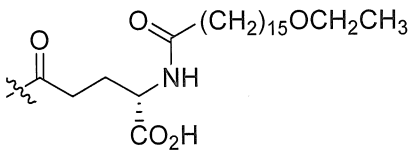
;



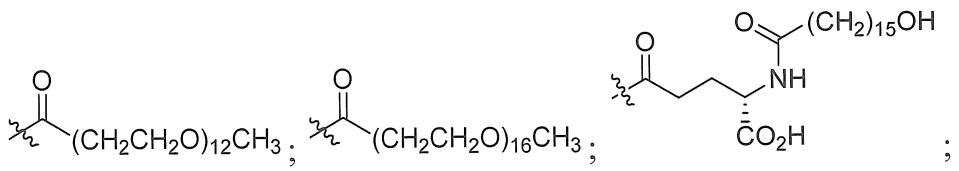
;



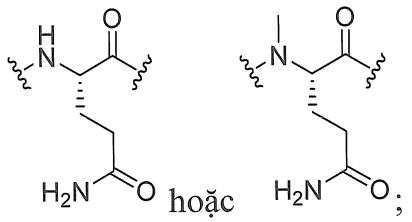
;



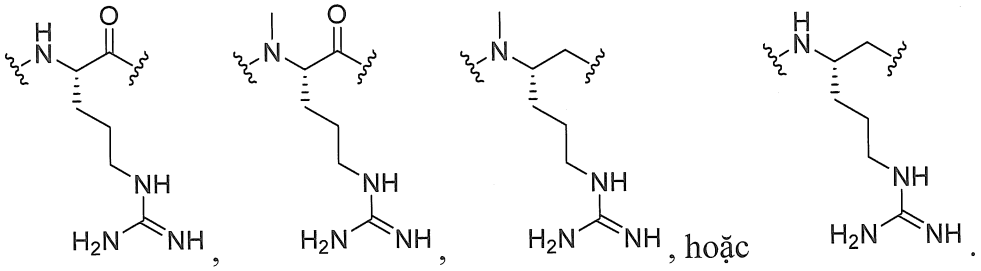
;



Z_{34} là



Z_{35} là



Trong một số phương án, liên hợp bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh của nó được tiếp hợp với peptit PYY vòng, trong đó peptit PYY vòng được chọn từ nhóm bao gồm các SỐ ID TRÌNH TỰ: 1-100 và các SỐ ID TRÌNH TỰ: và SEQ ID NOs:147-156. Trong phương án ưu tiên, liên hợp bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh của nó được tiếp hợp với peptit PYY vòng, trong đó peptit PYY vòng được chọn từ nhóm bao gồm SỐ ID TRÌNH TỰ: 1, các SỐ ID TRÌNH TỰ: 73-100, và các SỐ ID TRÌNH TỰ: 147-156.

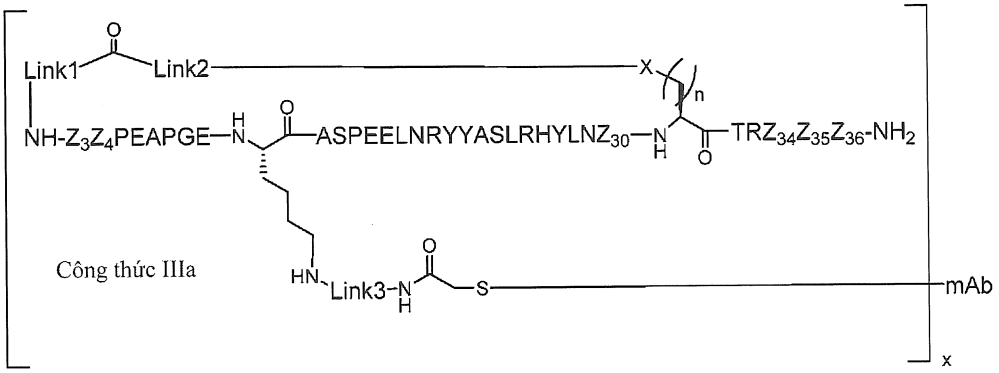
Trong một số phương án, kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó liên kết cộng hóa trị với peptit PYY vòng ở vị trí đơn phân lysin của peptit PYY vòng qua cầu nối. Cầu nối, ví dụ, bao gồm cầu nối được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol (PEG)8-triazolyl-CH_2CH_2CO-PEG4, chuỗi PEG gồm 2-24 đơn vị PEG, chuỗi alkyl chứa 2-10 nguyên tử carbon, $(Gly_4Ser)_j$ trong đó j = 1-4, $(AlaPro)_u$ trong đó u = 1-10, hoặc liên kết.

Kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo một phương án của sáng chế có thể được tiếp hợp với peptit PYY vòng ở một hoặc nhiều vị trí axit amin của

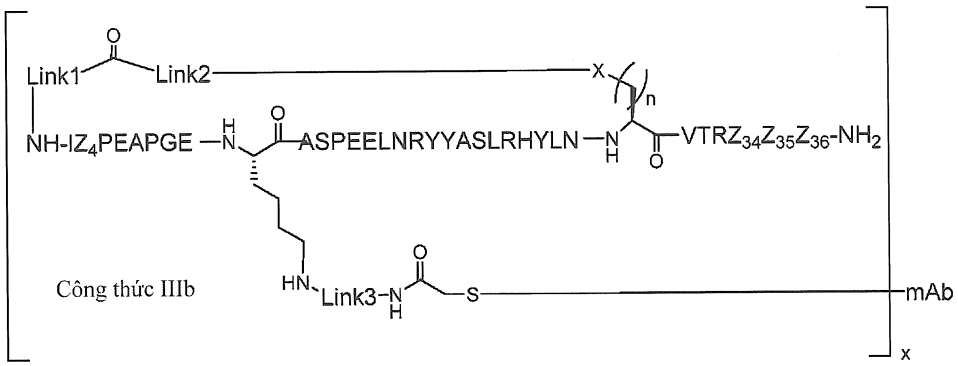
PYY vòng, như đơn phân axit amin 4, 7, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 30, hoặc 31 của PYY bằng các phương pháp đã biết trong ngành. Cách đánh số đơn phân axit amin theo cách đánh số $hPYY_{3-36}$. Trong một số phương án, chỉ một trong các Z_7, Z9, Z_{11}, Z_{22} và Z_{23} trong công thức I là lysin, và lysin được liên kết cộng hóa trị với đơn phân xystein được kiến tạo của kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó qua cầu nối. Trong phương án ưu tiên, kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo một phương án của sáng chế được tiếp hợp với peptit PYY vòng ở đơn phân 11 của PYY vòng. Trong phương án ưu tiên khác, phân tử ưa điện tử, như bromoaxetamit hoặc maleimit, được đưa vào mạch bên của PYY vòng, như là mạch bên của lysin ở đơn phân 11 của peptit PYY vòng, và phân tử ưa điện tử này phản ứng đặc hiệu vị trí với nhóm sulfhyđryl có đơn phân Cys được kiến tạo vào CDR, tốt hơn là HCDR3 của kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, từ đó tạo liên kết hóa trị giữa peptit PYY vòng và kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó. Tốt hơn là, peptit PYY vòng được chọn từ nhóm bao gồm SỐ ID TRÌNH TỰ: 1, các SỐ ID TRÌNH TỰ: 73-100, và các SỐ ID TRÌNH TỰ: 147-156. Trong một phương án, phân tử ưa điện tử được đưa trực tiếp vào mạch bên của PYY vòng. Trong phương án khác, phân tử ưa điện tử được đưa gián tiếp vào mạch bên của PYY vòng qua cầu nối.

Sáng chế còn cung cấp các chế phẩm dược bao gồm các liên hợp của sáng chế và còn bao gồm chất mang dược dụng.

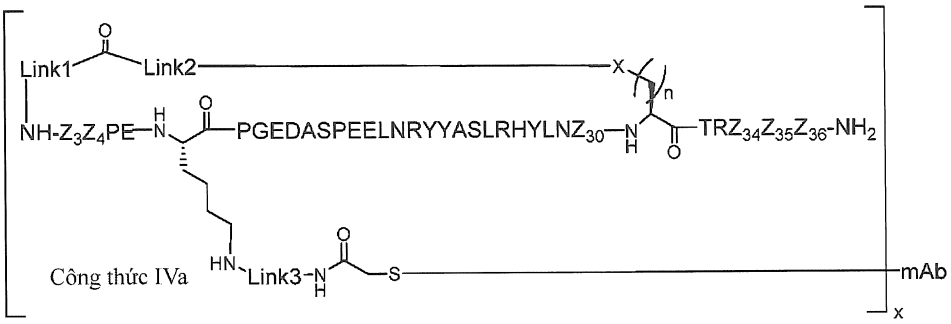
Sáng chế cũng cung cấp liên hợp bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó được ghép với peptit PYY vòng, trong đó các liên hợp được lần lượt biểu diễn bằng các công thức IIIa-b, IVa-b, Va-b, và/hoặc VIa-b.



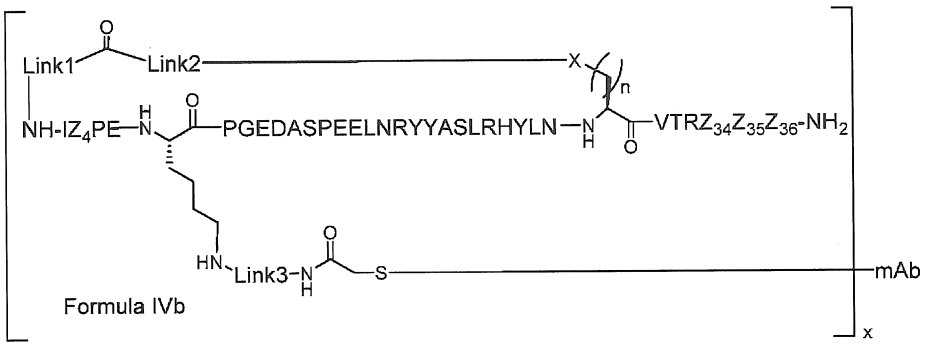
Công thức IIIa



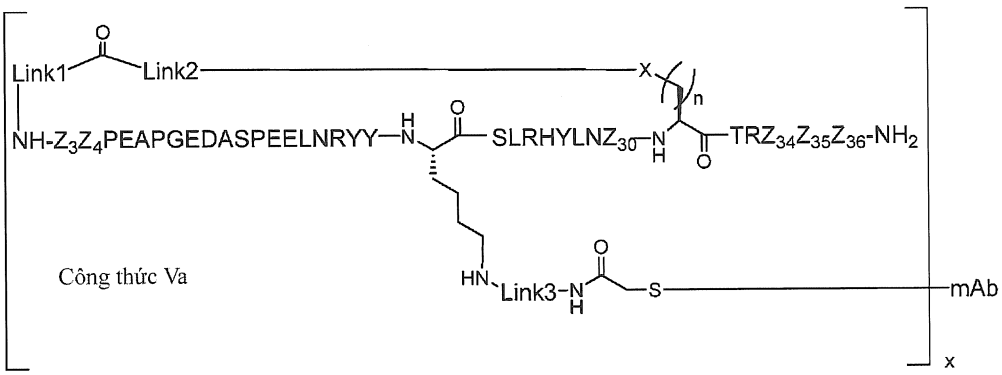
Công thức IIIb



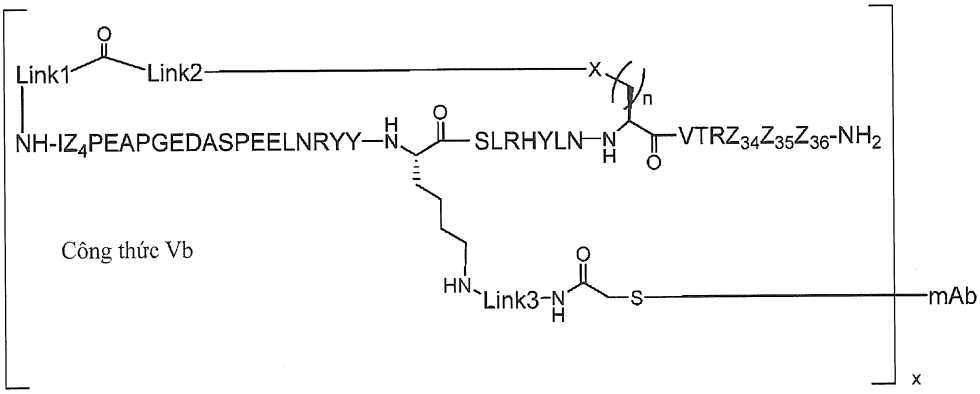
Công thức IVa



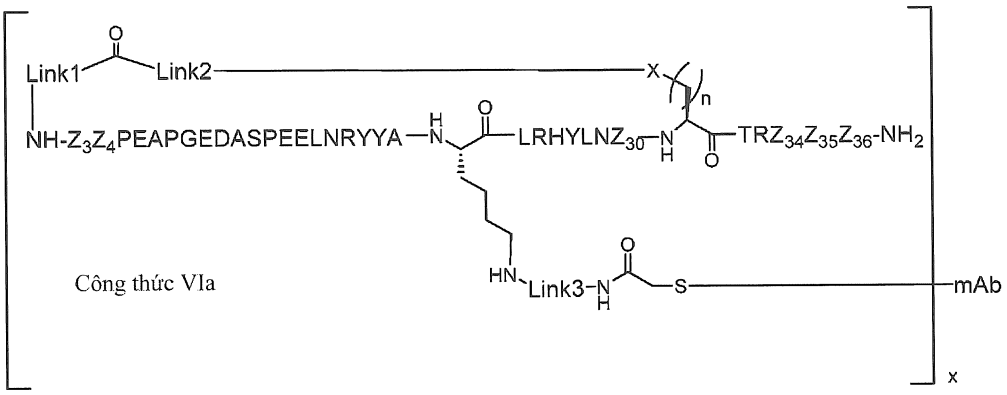
Formula IVb



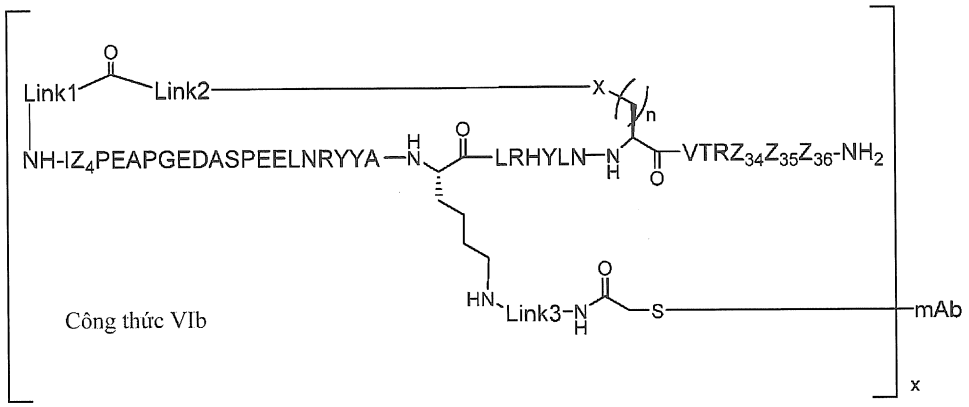
Công thức Va



Công thức Vb



Công thức VIa



Công thức VIb

Trong các công thức IIIa-b, IVa-b, Va-b, và VIa-b,

x có thể là, ví dụ 1, 2, 3, 4, 5, hoặc 6, tốt hơn là 2.

cầu nối 1 có thể là, ví dụ G, βA, -$COCH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2NH$-, γ-aminobutanoyl, GG, -$CO(CH_2)_mSCH_2$- (miễn là khi cầu nối 2 = -NH-, m=1, 2) hoặc liên kết;

cầu nối 2 có thể là, ví dụ –CH2-, benzyl, etyltriazolyl, -NH-, hoặc liên kết;

n có thể là, ví dụ 1, 2, hoặc 3;

X có thể là, ví dụ –S- hoặc –CH_2-;

Z_3 có thể là, ví dụ I hoặc liên kết;

Z_4 có thể là, ví dụ K, S hoặc R;

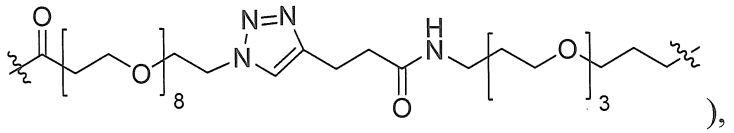
Z_{30} có thể là, ví dụ L, W, K (mPEG16), hoặc K (mPEG12);

Z_{34} có thể là, ví dụ Q, trong đó Q này tùy chọn là N metyl hóa trên alpha-amit nitơ;

Z_{35} có thể là, ví dụ R, trong đó R này tùy chọn là N metyl hóa trên alpha-amit nitơ, hoặc R được khử carbonyl hóa, tạo thành liên kết psi-($Z_{35}Z_{36}$) amit, hoặc R là cả N metyl hóa trên alpha-amit nitơ và được khử carbonyl hóa tạo thành liên kết *psi*-($Z_{35}Z_{36}$) amit;

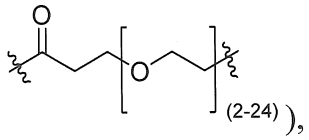
Z_{36} có thể là, ví dụ Y (Tyr), Cha (β-xyclohexylalanin), Aic (axit 2-aminoindane-2-carboxylic) hoặc F (Phe), trong đó F này tùy chọn được thế ở vị trí para bằng flo (4-F-Phe), clo (4-Cl-Phe), brom (4-Br-Phe), iođo (4-I-Phe), amino (4-NH_2-Phe); và

Liên kết 3 có thể, ví dụ, bao gồm sự amit hóa bất kỳ trong các amit hóa sau đây đối với mạch bên lysin: (PEG)8-triazolyl-CH_2CH_2CO-PEG4 (bao gồm



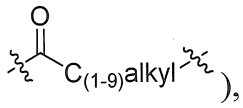
),

chuỗi PEG gồm 2-24 đơn vị PEG (bao gồm



),

chuỗi alkyl chứa 2-10 nguyên tử carbon (bao gồm

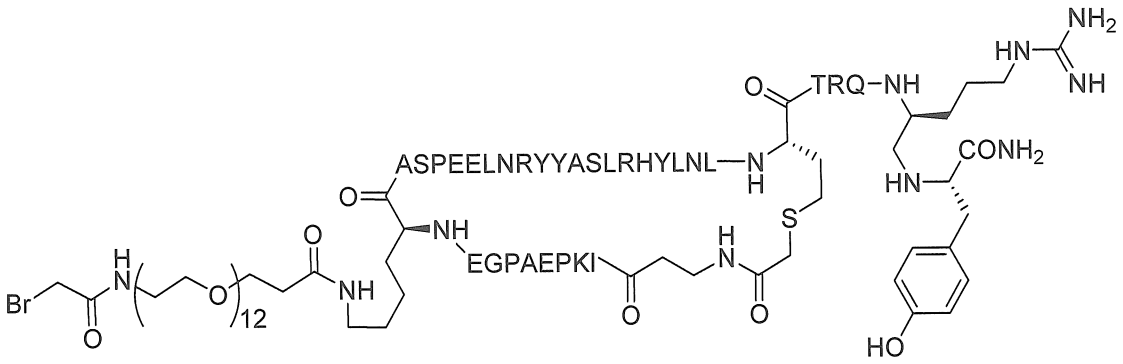


),

$(Gly_4Ser)_j$ trong đó j = 1-4, $(AlaPro)_u$ trong đó u = 1-10, hoặc –Nh-cầu nối 3- có thể được thay thế bằng liên kết.

Sáng chế cũng cung cấp liên hợp bao gồm kháng thể đơn dòng (mAb) hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó được ghép với peptit PYY vòng (cPYY), qua cầu nối (L): cPYY-L]$_2$-mAb, trong đó liên hợp bao gồm trình tự PYY vòng được chọn từ nhóm bao gồm các SỐ ID TRÌNH TỰ: 102-127 hoặc muối dược dụng của nó, mAb là kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo một phương án của sáng chế, và]$_2$ là 1 hoặc 2 peptit PYY vòng được liên kết cộng hóa trị với mAb.

Sáng chế còn cung cấp bao gồm các chất tương tự dạng vòng có đầu N đến mạch bên của PYY biểu hiện mức đồng nhất trình tự bằng ít nhất 70%, 75% 80%, 85%, 90%, 95%, hoặc 99% với PYY_{3-36} người ($hPYY_{3-36}$). Về phương pháp xác định mức đồng nhất trình tự giữa hai chất tương tự là hai peptit



(SỐ ID TRÌNH TỰ 1) và $hPYY_{3-36}$



(SỐ ID TRÌNH TỰ:101) được cho bắt cặp. Mức đồng nhất trình tự giữa chất tương tự so với $hPYY_{(3-36)}$ được tính bằng cách lấy tổng số đơn phân được bắt cặp trừ đi số đơn phân khác nhau (tức là số các đơn phân đồng nhất được bắt cặp) rồi chia cho tổng số đơn phân trong $hPYY_{3-36}$. Trong ví dụ này, số đơn phân khác nhau là D11 đã được đổi lấy K11 được thay thế, theo sau là V31 được đổi lấy hC31, và cuối cùn R35 đã được khử carbonyl hóa. Theo đó, trong ví dụ này, mức đồng nhất trình tự là (34-3)/34 X 100.

Các peptit PYY vòng

PYY_{3-36} là hormon nội sinh được các tế bào L tiết ra tại phần ruột đầu xa, có tác dụng làm chất chủ vận của thụ thể Y2 để ức chế lượng thu nạp thức ăn. Với vai trò trong việc kiểm soát cảm giác ngon miệng và lượng thu nạp thức ăn cũng như tác dụng chống xuất tiết và hỗ trợ hấp thụ ở đường ruột - dạ dày ở động vật có vú, PYY_{3-36} có thể có hiệu quả trong điều trị bệnh béo phì và các tình trạng liên quan trong một số rối loạn đường ruột - dạ dày. Tuy nhiên, việc sử dụng PYY_{3-36} làm thuốc điều trị bị giới hạn bởi cơ chế chuyển hóa nhanh và thời gian bán thải lưu hành ngắn ngủi của nó Theo đó, sáng chế nhìn chung được hướng đến liên hợp PYY_{3-36} được biến đổi, liên hợp này kéo dài thời gian bán thải của peptit PYY_{3-36} và giảm cơ chế chuyển hóa của peptit *trong cơ thể sống*.

Trong các phương án của sáng chế, các peptit PYY_{3-36} được biến đổi là các peptit PYY vòng. Thuật ngữ "peptit PYY vòng", "chất tương tự PYY_{3-36} vòng" và "chất tương tự

peptit PYY_{3-36} vòng" có thể sử dụng thay thế cho nhau. Các ví dụ về các peptit PYY vòng có thể được sử dụng trong các liên hợp được mô tả trong Đơn xin cấp bằng sáng chế Hoa Kỳ số 62/413,613, nộp ngày 27 tháng 10 năm 2016,và Đơn xin cấp bằng sáng chế Hoa Kỳ số _____ có tiêu đề "Cyclic peptit tyrosin tyrosin compounds as modulators of neuropeptit receptors," (Hợp chất peptit tyrosin tyrosin vòng làm chất điều hòa của thụ thể neuropeptit"), được nộp cùng ngày với đơn này với Số hồ sơ tham chiếu PRD3411, nội dung của cả hai đơn này sau đây được kết hợp đầy đủ vào tài liệu này bằng viện dẫn.

Trong tài liệu này, thuật ngữ "NTSC-PYY" được sử dụng để mô tả chất tương tự dạng vòng có đầu N đến mạch bên của PYY.

Các trình tự peptit được mô tả trong bản mô tả này được viết theo thông lệ trong đó vùng đầu N của peptit ở phía trái và vùng đầu C ở phía phải. Mặc dù đã biết dạng đồng phân của axit amin, dạng L của axit amin được làm đại diện trừ khi được quy định khác một cách rõ ràng. Để tiện mô tả các phân tử của sáng chế, các cách viết tắt theo thông lệ và không theo thông lệ cho các axit amin khác nhau (cả mã hai chữ cái và mã ba chữ cái) và các phần nhóm chức đều được sử dụng. Những người có trình độ trong ngành đều biết các cách viết tắt này, nhưng để cho rõ, chúng tôi liệt kê như dưới đây: A = Ala = alanin; R = Arg = arginin; N = Asn = asparagin; D = Asp = axit aspartic; βA = βAla = beta-alanin; C = Cys = xystein; hC = hCys = homoxystein; E = Glu = axit glutamic; Q = Gln = glutamin; G = Gly = glyxin; H = His = histiđin; I = Ile = isoleuxin; L = Leu = leuxin; K = Lys = lysin; Nle = norleuxin; F = Phe = phenylalanin; P = Pro = prolin; S = Ser = serin; T = Thr = threonin; W = Trp = tryptophan; Y = Tyr = tyrosin và V = Val = valin.

Để tiện lợi, cách đánh số đơn phân axit amin sử dụng trong đặt tên các peptit NTSC-PYY của sáng chế tuân thủ theo phương pháp đặt tên $hPYY_{3-36}$. Các thay thế axit amin đặc hiệu được đưa vào các peptit NTSC-PYY, so với các đơn phân tự nhiên ở các vị trí tương ứng trong $hPYY_{3-36}$, được biểu thị bằng các mã axit amin phù hợp, theo vị trí thay thế. Theo đó, "S4" trong peptit NTSC-PYY chỉ peptit trong đó serin đã thay thế đơn phân lys4 tự nhiên tương ứng của $hPYY_{3-36}$. Tương tự, "hC31" trong peptit NTSC-PYY chỉ peptit trong đó homoxystein đã thay thế đơn phân val31 tự nhiên tương ứng của $hPYY_{3-36}$. Các thay thế axit amin bổ sung diễn ra bên trong các peptit NTSC-PYY được mô tả theo thông lệ này và sẽ được người có trình độ trong ngành hiểu.

Để thuận lợi, thông lệ đặt tên được sử dụng cho các peptit NTSC-PYY của sáng chế sẽ hợp nhất các đơn phân amino tham gia vòng theo (các) nhóm liên kết giữa chúng theo hướng

trái sang phải, bắt đầu từ đơn phân đầu N tham gia vòng. Trong mọi trường hợp, đơn phân axit amin đầu N của vòng sẽ liên kết qua nhóm chức α-amino của chúng với nhóm liên kết, mà nhóm này cũng liên kết với đơn phân mạch bên của axit amin ở vị trí 31 của peptit NTSC-PYY. Theo đó, "xyclo-(I3-*m*-COPhCH_2-hC31)" được sử dụng để mô tả vòng của peptit NTSC-PYY trong đó nhóm chức α-amino của Ile3 được axyl hóa với đơn phân axit *meta*-toluic, mà nhóm metyl còn được liên kết bằng liên kết thioete với mạch bên của đơn phân hCys31. Tương tự, "xyclo-(K4-CO$(CH_2)_2$NHCOCH_2-hC31)" được sử dụng để mô tả vòng của peptit NTSC-PYY, trong đó đơn phân Ile3 tự nhiên đã bị làm mất và nhóm chức α-amino (bây giờ là đầu N) của lys4 của nó được axyl hóa bởi nhóm 3-axetamiđopropanoyl, axetamiđo metylen cacbon của nó được kết nối với mạch bên của đơn phân hCys31 bằng liên kết thioete.

Có thể hợp nhất các đơn phân lysin ở một số vị trí của trình tự $hPYY_{3-36}$ để cung cấp thành phần xử lý chức năng thuận tiện cho việc dẫn xuất thêm. Các đơn phân lysin có thể được điều hòa để được ghép cặp với kháng thể đơn dòng trực tiếp hoặc gián tiếp. Trong ghép cặp gián tiếp với kháng thể đơn dòng, đơn phân lysin có thể được điều hòa để bao gồm cầu nối mà sẽ cho phép peptit PYY vòng được ghép cặp với kháng thể đơn dòng. Chuyên gia trong ngành sẽ nhận thấy rằng các đồng đẳng liên quan có thể được sử dụng hiệu quả như vậy và đã được dự kiến trong bản mô tả này.

Thuật ngữ "K(γ-Glu)", xuất hiện trong trình tự peptit, thể hiện đơn phân lysinyl mà nhóm ε-amino mạch bên của nó đã được axyl hóa bởi nhóm γ-carboxyl của axit glutamic.

Thuật ngữ "K(γ-Glu-Pal (palmitoyl))" thể hiện đơn phân lysinyl mà nhóm ε-amino mạch bên của nó đã được axyl hóa bởi nhóm γ-carboxyl của axit N-hexađecan-1-oylglutamic.

Thuật ngữ "K(γ-Glu-Stear (stearoyl))" thể hiện đơn phân lysinyl mà nhóm ε-amino mạch bên của nó đã được axyl hóa bởi nhóm γ-carboxyl của axit N-octađecan-1-oylglutamic.

Thuật ngữ "K(γ-Glu-Arach (arachidoyl))" thể hiện đơn phân lysinyl mà nhóm ε-amino mạch bên của nó đã được axyl hóa bởi nhóm γ-carboxyl của axit N-đođecan-1-oylglutamic.

Thuật ngữ "K(OEG) (8-amino-3,6-đioxaoctanoyl)" thể hiện đơn phân lysinyl mà nhóm ε-amino mạch bên của nó đã được axyl hóa bởi axit 8-amino-3,6-đioxaoctanoic.

Thuật ngữ, "$(OEG)_2$" thể hiện đơn vị OEG được liên kết cùng nhau sau liên kết amit (tức là, axit 17-amino-10-oxo-3,6,12,15-tetraoxa-9-azaheptađecanoic).

Thuật ngữ "K$(OEG)_2$" thể hiện đơn phân lysinyl mà nhóm ε-amino mạch bên của nó đã được axyl hóa bởi axit 17-amino-10-oxo-3,6,12,15-tetraoxa-9-azaheptađecanoic.

Thuật ngữ "K((OEG)$_2$-γ-Glu" thể hiện đơn phân lysinyl mà nhóm ε-amino mạch bên của nó đã được axyl hóa bởi axit (22*S*)-22-amino-10,19-đioxo-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-điazatricosanеđioic qua nhóm chức axit 1-carboxylic của nó.

Thuật ngữ "K((OEG)$_2$-γ-Glu-Stear)" thể hiện đơn phân lysinyl mà nhóm ε-amino mạch bên của nó đã được axyl hóa bởi axit (22*S*)-10,19-đioxo-22-stearamiđo-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-điazatricosanеđioic qua nhóm chức axit 1-carboxylic của nó.

Thuật ngữ "K((OEG)$_2$-γ-Glu-$COC_{16}CO_2H$)" thể hiện đơn phân lysinyl mà nhóm ε-amino mạch bên của nó đã được axyl hóa bởi axit (21*S*)-9,18,23-trioxo-2,5,11,14-tetraoxa-8,17,22-triazanonatriacontan-1,21,39-tricarboxylic qua nhóm chức axit 1-carboxylic của nó.

Tương tự, thuật ngữ "K((OEG)$_2$-γ-Glu-$COC_{18}CO_2H$)" thể hiện đơn phân lysinyl mà nhóm ε-amino mạch bên của nó đã được axyl hóa bởi axit (21*S*)-9,18,23-trioxo-2,5,11,14-tetraoxa-8,17,22-triazahentetracontan-1,21,41-tricarboxylic qua nhóm chức axit 1-carboxylic của nó.

Thuật ngữ "K((OEG)$_2$-$COC_{16}CO_2H$)" thể hiện đơn phân lysinyl mà nhóm ε-amino mạch bên của nó đã được axyl hóa bởi axit 10,19-đioxo-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-điazahexatriacontanđioic qua nhóm chức axit 1-carboxylic của nó.

Thuật ngữ "K(PEG24-AcBr)" thể hiện đơn phân lysinyl mà nhóm ε-amino mạch bên của nó đã được axyl hóa bởi axit N-bromoaxetyl-75-amino-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73-tetracosaoxapentaheptacontanoic qua nhóm chức axit 1-carboxylic của nó.

Thuật ngữ "K(PEG12-AcBr)" thể hiện đơn phân lysinyl mà nhóm ε-amino mạch bên của nó đã được axyl hóa bởi axit N-bromoaxetyl-39-amino-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37-đođecaoxanonatriacontanoic qua nhóm chức axit 1-carboxylic của nó.

Thuật ngữ "K(PEG6-AcBr)" thể hiện đơn phân lysinyl mà nhóm ε-amino mạch bên của nó đã được axyl hóa bởi axit N-bromoaxetyl-3-[(17-amino-3,6,9,12,15-pentaoxaheptađec-1-yl)oxy]-propanoic qua nhóm chức axit 1-carboxylic của nó.

Thuật ngữ "K(PEG8-triazolyl-CH_2CH_2CO-PEG4-AcBr)" thể hiện đơn phân lysinyl mà nhóm ε-amino mạch bên của nó đã được axyl hóa bởi axit 27-[4-[2-[3-[2-[2-[3-(N-bromoaxetylamino)propoxy]etoxy]etoxy]propylaminocarbonyl]etyl]tetrazol-1-yl]-4,7,10,13,16,19,22,25-octaoxaheptacosanoic qua nhóm chức axit 1-carboxylic của nó.

Thuật ngữ "K(mPEG16)" thể hiện đơn phân lysinyl mà nhóm ε-amino mạch bên của nó đã được axyl hóa bởi axit 4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49-hexadecaoxapentacontanoic qua nhóm chức axit 1-carboxylic của nó.

Thuật ngữ "K(mPEG12)" thể hiện đơn phân lysinyl mà nhóm ε-amino mạch bên của nó đã được axyl hóa bởi axit 4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37-đođecaoxaoctatriacontanoic qua nhóm chức axit 1-carboxylic của nó.

Thuật ngữ "VitE" thể hiện đơn vị α-tocopherolyl trong phân tử.

Thuật ngữ "AcVitE" thể hiện đơn vị α-tocopherolyl mà nhóm phenolic của nó mang nhóm chức metylenylcarboxy liên kết với ete.

Thuật ngữ, "K-γ-Glu-AcVitE" thể hiện đơn phân lysinyl mà nhóm ε-amino mạch bên của nó đã được axyl hóa bởi axit (2-(((2*R*)-2,5,7,8-tetrametyl-2-((4*R*,8*R*)-4,8,12-trimetyltriđexyl)chroman-6-yl)oxy)axetyl)-L-glutamic qua nhóm chức axit γ-carboxylic của nó.

Nhiều hợp chất/liên hợp của sáng chế hợp nhất liên kết amit khử giữa đơn phân đầu C của trình tự, Y36, và đơn phân liền kề của nó R35. Liên kết amit khử này được thể hiện bằng thuật ngữ, "*psi*-(R35,Y36)".

Các đơn phân axit amin bao gồm một số trình tự nhất định của sáng chế chứa nhóm α-amino đã được metyl hóa. Theo đó, thuật ngữ "N-Me-Q34" hoặc "N-Me-R35" lần lượt thể hiện α-N-metylat glutamin tại vị trí 34 của trình tự và α-N-metylat arginin tại vị trí 34 của trình tự.

Thuật ngữ "N-Me-Q34, *psi*-(R35,Y36)" trong mô tả trình tự chỉ trình tự chứa cả đơn phân α-metyl glutamin tại vị trí 34, cũng như liên kết amit khử giữa các đơn phân R35 và Y36.

Tương tự, thuật ngữ "N-Me-R35, *psi*-(R35,Y36)" trong mô tả trình tự chỉ trình tự chứa cả đơn phân α-metyl arginin tại vị trí 35, cũng như liên kết amit khử giữa đơn phân này và Y36.
Các phần kéo dài thời gian bán thải

Bên cạnh kháng thể của sáng chế hoặc mảnh gắn kháng nguyên của chúng, các liên hợp của sáng chế có thể hợp nhất một hoặc nhiều phần khác để kéo dài thời gian bán thải của phần hoạt tính dược lý (ví dụ, peptit PYY vòng, ví dụ như thông qua tương tác cộng hóa trị. Các ví dụ về các phần kéo dài thời gian bán thải khác bao gồm, nhưng không hạn chế trong albumin, biến thể albumin, protein và/hoặc miền liên kết với albumin, transferrin và các mảnh và các chất tương tự của nó. Các phần kéo dài thời gian bán thải bổ sung có thể hợp nhất vào các liên hợp của sáng chế có thể bao gồm, ví dụ, các phân tử polyetylen glycol (PEG), như PEG5000 hoặc PEG20,000, axit béo và các este của axit béo có các chiều dài mạch khác nhau, ví dụ: flaurat, myristat, stearat, arachidat, behenat, oleat, arachiđonat, axit

octaneđioic, axit tetradecaneđioic, axit octađecaneđioic, axit đocosaneđioic, v.v., polylysin, octan, carbohyđrat (đextran, xenluloza, oligo- hoặc polysacarit) để mang lại các tính chất mong muốn. Các phần này có thể là thể dung hợp trực tiếp với trình tự mã hóa giàn giáo protein và có thể được tạo ra bằng các kỹ thuật tạo dòng và biểu hiện tiêu chuẩn. Hoặc, có thể sử dụng các phương pháp ghép hóa học thông thường để gắn các phần này vào các liên hợp được tạo bằng cách tái tổ hợp và hóa học của sáng chế.

Chẳng hạn, phần pegyl có thể được thêm vào các phân tử peptit của sáng chế bằng cách hợp nhất đơn phân xystein với đầu C của phân tử và gắn nhóm pegyl vào xystein bằng các phương pháp đã biết.

Các phân tử peptit của sáng chế hợp nhất các phần bổ sung có thể được so sánh về chức năng bằng một số xét nghiệm thông thường. Ví dụ, hoạt tính sinh học hoặc dược động học của peptit điều trị được đề cập, khi đứng riêng hoặc khi trong liên hợp theo sáng chế, có thể được xét nghiệm bằng các xét nghiệm đã biết trong ống nghiệm hoặc trong cơ thể sống và được so sánh.

Chế phẩm dược

Trong phương án chung khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm dược bao gồm các liên hợp và hợp chất của sáng chế và chất mang dược dụng. Trong tài liệu này, thuật ngữ "chế phẩm dược" có nghĩa là sản phẩm bao gồm liên hợp của sáng chế cùng với chất mang dược dụng. Các liên hợp và hợp chất của sáng chế và chế phẩm bao gồm chúng cũng có ích trong sản xuất dược phẩm cho các ứng dụng điều trị được đề cập trong bản mô tả.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "chất mang" chỉ tá dược, chất pha loãng, chất làm đầy, dung dịch đệm, muối, chất ổn định, chất làm tan, dầu, lipit, lipit chứa túi tinh, vi cầu, bao nang trong hạt mỡ, hoặc vật liệu khác phổ biến trong ngành để sử dụng trong chế phẩm dược. Cần hiểu rằng các đặc trưng của chất mang, tá dược hoặc chất pha loãng sẽ phụ thuộc vào đường dùng được áp dụng cụ thể. Trong bản mô tả này, thuật ngữ "chất mang dược dụng" chỉ vật liệu không gây độc hại và không ảnh đến hiệu quả của chế phẩm theo sáng chế hoặc hoạt tính sinh học của chế phẩm theo sáng chế. Theo các phương án cụ thể, theo quan điểm của bản mô tả này, chất mang dược dụng bất kỳ phù hợp để sử dụng trong chế phẩm dược kháng thể có thể được sử dụng trong sáng chế.

Các muối axit/anion dược dụng để sử dụng trong sáng chế bao gồm, và không giới hạn axetat, benzen sulfonat, benzoat, bicacbonat, bitartrat, bromua, canxi eđetat, camsylat,

cacbonat, clorua, xitrat, đihyđroclorua, eđetat, eđisylat, estolat, esylat, fumarat, glyceptat, gluconat, glutamat, glycollylarsanilat, hexylresorcinat, hyđrabamin, hyđrobromua, hyđroclorua, hyđroxynaphthoat, iođua, isethionat, lactat, lactobionat, malat, maleat, manđelat, mesylat, metylbromua, metylnitrat, metylsulfat, mucat, napsylat, nitrat, pamoat, pantothenat, photphat/điphotphat, polygalacturonat, salixylat, stearat, subaxetat, sucxinat, sulfat, tannat, tartrat, teoclat, tosylat và triethiođit. Các axit hữu cơ hoặc vô cơ bao gồm, và không giới hạn, axit hyđriođic, percloric, sulfuric, phosphoric, propionic, glycolic, metansulfonic, hyđroxyetansulfonic, oxalic, 2-naphtalensulfonic, p-toluensulfonic, xyclohexansulfamic, sacarinic hoặc trifloaxetic.

Các muối bazơ/cation dược dụng bao gồm, và không giới hạn trong các chất sau: nhôm, 2-amino-2-hyđroxymetyl-propan-1,3-điol (còn gọi là tris(hyđroxymetyl)aminometan, trometan hay "TRIS"), amoniac, benzathin, t-butylamin, canxi, cloprocain, cholin, xyclohexylamin, đietanolamin, etylenđiamin, liti, L-lysin, magiê, meglumin, N-metyl-D-glucamin, piperiđin, kali, procain, quinin, natri, trietanolamin, hoặc kẽm.

Trong các phương án khác, các chế phẩm dược dụng được cung cấp bao gồm các liên hợp của sáng chế với khối lượng bằng từ khoảng 0,001 mg/ml đến khoảng 100 mg/ml, từ khoảng 0,01 mg/ml đến khoảng 50 mg/ml, hoặc từ khoảng 0,1 mg/ml đến khoảng 25 mg/ml. Chế phẩm dược dụng có thể có độ pH bằng từ khoảng 3,0 đến khoảng 10, ví dụ từ khoảng 3 đến khoảng 7, hoặc từ khoảng 5 đến khoảng 9. Chế phẩm có thể còn bao gồm ít nhất một thành phần được chọn từ nhóm bao gồm hệ chất đệm, (các) chất bảo quản, (các) chất trương lực, (các) chất tạo chelat, (các) chất ổn định và (các) chất hoạt động bề mặt.

Chế phẩm bao gồm các hoạt chất dược với các chất mang dược dụng đã được biết đến trong ngành, ví dụ, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Khoa học và thực hành dược phẩm) (ví dụ, Ấn bản thứ 21 (2005), và các ấn bản bất kỳ sau đó). Các ví dụ không giới hạn về thành phần bổ sung bao gồm: chất đệm, chất pha loãng, dung môi, chất điều hòa trương lực, chất bảo quản, chất ổn định, và chất tạo chelat. Một hoặc nhiều chất mang dược dụng có thể được sử dụng trong điều chế chế phẩm dược của sáng chế.

Trong một phương án của sáng chế, chế phẩm dược là chế phẩm dạng lỏng. Ví dụ ưu tiên về chế phẩm dạng lỏng là chế phẩm chứa nước, tức là chế phẩm có chứa nước. Chế phẩm dạng lỏng có thể bao gồm dung dịch, huyền phù, nhũ tương, vi nhũ tương, gel, v.v. Chế phẩm chứa nước thường bao gồm ít nhất 50% khối lượng nước, hoặc ít nhất 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, hoặc ít nhất 95% khối lượng nước.

Trong một phương án, chế phẩm dược có thể được bào chế thành dung dịch tiêm có thể được tiêm, ví dụ, qua dụng cụ tiêm (ví dụ, ống tiêm hoặc bơm truyền). Dung dịch tiêm có thể được truyền, ví dụ, dưới da, trong cơ, trong màng bụng, hoặc trong tĩnh mạch.

Trong phương án khác, chế phẩm dược là chế phẩm dạng rắn, ví dụ, chế phẩm được sấy khô đông lạnh hoặc sấy phun, mà có thể được sử dụng như nguyên trạng, hoặc bác sĩ hoặc bệnh nhân thêm dung môi và/hoặc chất pha loãng vào trước khi dùng. Dạng bào chế rắn có thể bao gồm viên nén, như viên được ép, và/hoặc viên nén được bao phủ và viên nang (ví dụ như viên nang gelatin rắn hoặc mềm). Chế phẩm dược có thể ở dạng gói, kẹo, bột, hạt, viên ngậm, hoặc bột để pha hoàn nguyên dung dịch, chẳng hạn.

Các dạng bào chế có thể giải phóng ngay tức thì, trong trường hợp này chúng có thể bao gồm chất mang tan trong nước hoặc có thể phân tán, hoặc chúng có thể giải phóng chậm, giải phóng lâu dài, hoặc giải phóng biến đổi, trong trường hợp này chúng có thể bao gồm các polyme không tan trong nước điều hòa tốc độ phân ly của dạng bào chế trong đường dạ dày ruột.

Trong các phương án khác, chế phẩm dược có thể được truyền bằng đường trong mũi, trong miệng hoặc dưới lưỡi.

Độ pH trong chế phẩm chứa nước có thể bằng từ 3 đến 10. Trong một phương án của sáng chế, độ pH của chế phẩm bằng từ khoảng 7,0 đến khoảng 9,5 Trong phương án khác của sáng chế, độ pH của chế phẩm bằng từ khoảng 3,0 đến khoảng 7,0.

Trong phương án khác của sáng chế, chế phẩm dược bao gồm chất đệm. Các ví dụ không hạn chế về chất đệm bao gồm: arginin, axit aspartic, bixin, xitrat, đinatri hyđro phosphat, axit fumaric, glyxin, glyxylglyxin, histiđin, lysin, axit maleic, axit malic, natri axetat, natri carbonat, natri đihyđro phosphat, natri phosphat, sucxinat, axit tartaric, trixin, và tris(hyđroxymetyl)-aminometan, và hỗn hợp của chúng. Chất đệm có thể có mặt riêng biệt theo từng chất hoặc có mặt trong tổ hợp, với nồng độ bằng khoảng 0,01 mg/ml đến khoảng 50 mg/ml, ví dụ từ khoảng 0,1 mg/ml đến khoảng 20 mg/ml. Chế phẩm dược bao gồm từng chất đệm cụ thể này trong các phương án thay thế của sáng chế.

Trong phương án khác của sáng chế, chế phẩm dược bao gồm chất bảo quản. Các ví dụ không hạn chế về chất đệm bao gồm: benzethoni clorua, axit benzoic, rượu benzylic, bronopol, butyl 4-hyđroxybenzoat, clobutanol, clocresol, clohexiđin, clophenesin, o-cresol, m-cresol, p-cresol, etyl 4-hyđroxybenzoat, imidurea, metyl 4-hyđroxybenzoat, phenol, 2-phenoxyetanol, 2-phenyletanol, propyl 4-hyđroxybenzoat, natri đehyđroaxetat,

thiomerosal, và hỗn hợp của chúng. Chất bảo quản có thể có mặt riêng biệt theo từng chất hoặc có mặt trong tổ hợp, với nồng độ bằng khoảng 0,01 mg/ml đến khoảng 50 mg/ml, ví dụ từ khoảng 0,1 mg/ml đến khoảng 20 mg/ml. Chế phẩm dược bao gồm từng chất đệm cụ thể này trong các phương án thay thế của sáng chế.

Trong phương án khác của sáng chế, chế phẩm dược bao gồm chất trương lực. Các ví dụ không hạn chế của phương án bao gồm muối (như natri clorua), axit amin (như glyxin, histiđin, arginin, lysin, isoleuxin, axit aspartic, tryptophan, và threonin), alditol (như glyxerol, 1,2-propanđiol propylenglycol), 1,3-propanđiol, và 1,3-butanđiol), polyetylenglycol (ví dụ PEG400), và hỗn hợp của nó. Ví dụ khác về chất trương lực bao gồm đường. Các ví dụ không hạn chế về đường có thể là mono-, đi-, hoặc polysacarit, hoặc glucan tan trong nước, bao gồm, ví dụ fructoza, glucoza, mannoza, sorboza, xyloza, maltoza, lactoza, sucroza, trehaloza, đextran, pululan, đextrin, xyclođextrin, alpha và beta- HPCD, tinh bột tan, tinh bột hyđroxyetyl và natri carboxymetylxenluloza. Ví dụ khác về chất trương lực là rượu đường, trong đó thuật ngữ "rượu đường" được xác định là C(4-8) hyđrocarbon có ít nhất một nhóm —OH Các ví dụ không hạn chế về rượu bao gồm manitol, sorbitol, inositol, galactitol, dulxitol, xylitol, và arabitol. Chế phẩm dược bao gồm từng chất trương lực cụ thể này trong các phương án thay thế của sáng chế. Chất trương lực có thể có mặt riêng biệt theo từng chất hoặc có mặt trong tổ hợp, với nồng độ bằng khoảng 0,01 mg/ml đến khoảng 50 mg/ml, ví dụ từ khoảng 0,1 mg/ml đến khoảng 20 mg/ml. Chế phẩm dược bao gồm từng chất trương lực cụ thể này trong các phương án thay thế của sáng chế.

Trong phương án khác của sáng chế, chế phẩm dược bao gồm chất tạo chelat. Các ví dụ không giới hạn về chất tạo chelat bao gồm axit xitric, axit aspartic, muối của axit etylenđiamintetraaxetic (EDTA), và hỗn hợp của chúng. Chất tạo chelat có thể có mặt riêng biệt theo từng chất hoặc có mặt trong tổ hợp, với nồng độ bằng khoảng 0,01 mg/ml đến khoảng 50 mg/ml, ví dụ từ khoảng 0,1 mg/ml đến khoảng 20 mg/ml. Chế phẩm dược bao gồm từng chất tạo chelat cụ thể này trong các phương án thay thế của sáng chế.

Trong phương án khác của sáng chế, chế phẩm dược bao gồm chất ổn định. Các ví dụ không hạn chế về các chất ổn định bao gồm một hoặc nhiều chất ức chế cộng gộp, một hoặc nhiều chất ức chế oxy hóa, một hoặc nhiều chất hoạt động bề mặt, và/hoặc một hoặc nhiều chất ức chế proteaza.

Trong phương án khác của sáng chế, chế phẩm dược bao gồm chất ổn định, trong đó chất ổn định này bao gồm carboxy-/hyđroxyxenluloza và chất dẫn xuất của nó (như HPC,

HPC-SL, HPC-L và HPMC), xyclođextrin, 2-metylthioetanol, polyetylen glycol (như PEG 3350), rượu polyvinyl (PVA), polyvinyl pyroliđon, muối (như natri clorua), chất chứa lưu huỳnh như monothioglyxerol), hoặc axit thioglycolic. Chất ổn định có thể có mặt riêng biệt theo từng chất hoặc có mặt trong tổ hợp, với nồng độ bằng khoảng 0,01 mg/ml đến khoảng 50 mg/ml, ví dụ từ khoảng 0,1 mg/ml đến khoảng 20 mg/ml. Chế phẩm dược bao gồm từng chất ổn định cụ thể này trong các phương án thay thế của sáng chế.

Trong các phương án khác của sáng chế, chế phẩm dược bao gồm một hoặc nhiều chất hoạt động bề mặt, tốt hơn là bao gồm chất hoạt động bề mặt, ít nhất một chất hoạt động bề mặt, hoặc hai chất hoạt động bề mặt khác nhau. Thuật ngữ "chất hoạt động bề mặt" chỉ phân tử bất kỳ hoặc ion bao gồm một phần tan trong nước (ưa nước), và phần tan trong chất béo. Chất hoạt động bề mặt có thể, ví dụ, được chọn từ nhóm bao gồm các chất hoạt động bề mặt anion, chất hoạt động bề mặt cation, chất hoạt động bề mặt không điện ly, và/hoặc chất hoạt động bề mặt ion lưỡng tính. Chất hoạt động bề mặt có thể có mặt riêng biệt theo từng chất hoặc có mặt trong tổ hợp, với nồng độ bằng khoảng 0,1 mg/ml đến khoảng 20 mg/ml. Chế phẩm dược bao gồm từng chất hoạt động bề mặt cụ thể này trong các phương án thay thế của sáng chế.

Trong phương án khác của sáng chế, chế phẩm dược bao gồm một hoặc nhiều chất ức chế proteaza, như, ví dụ, EDTA, và/hoặc axit benzamiđin hyđroclorua (HCl). Chất ức chế proteaza có thể có mặt riêng biệt theo từng chất hoặc có mặt trong tổ hợp, với nồng độ bằng khoảng 0,1 mg/ml đến khoảng 20 mg/ml. Chế phẩm dược bao gồm từng chất ức chế proteaza cụ thể này trong các phương án thay thế của sáng chế.

Chế phẩm dược của sáng chế có thể bao gồm lượng axit amin dạng bazơ đủ để giảm chế phẩm tổng hợp của polypeptit trong quá trình bảo quản chế phẩm. Thuật ngữ "bazơ axit amin" chỉ một hoặc nhiều axit amin (như methionin, histiđin, imiđazol, arginin, lysin, isoleuxin, axit apartic, tryptophan, threonin), hoặc chất tương tự của chúng. Axit amin bất kỳ có thể có mặt dưới dạng bazơ tự do hoặc dạng muối. Chất đồng phân lập thể bất kỳ (tức laf, L, D, hoặc hỗn hợp của nó) của bazơ axit amin có thể có mặt. Bazơ axit amin có thể có mặt riêng biệt theo từng chất hoặc kết hợp với bazơ axit amin khác, với nồng độ bằng khoảng 0,01 mg/ml đến khoảng 50 mg/ml, ví dụ từ khoảng 0,1 mg/ml đến khoảng 20 mg/ml. Chế phẩm dược bao gồm từng bazơ axit amin này trong các phương án thay thế của sáng chế.

Đối với chuyên gia trong ngành, rõ ràng liều hiệu dụng trong điều trị đối với các liên hợp trong sáng chế này hoặc chế phẩm dược của các hợp chất đó sẽ khác nhau theo tác dụng mong muốn. Vì vậy, các liều lượng tối ưu được sử dụng có thể đã được người có trình độ

trong ngành xác định và sẽ khác nhau tùy theo liên hợp cụ thể được dùng, chế độ dùng, độ mạnh của chế phẩm, và sự phát triển của tình trạng bệnh. Ngoài ra, các yếu tố liên quan đến đối tượng cụ thể đang được điều trị, bao gồm tuổi tác, cân nặng, chế độ ăn và thời gian dùng thuốc, sẽ dẫn đến việc cần phải điều chỉnh liều lượng đến mức điều trị thích hợp.

Đối với tất cả chỉ định, các liên hợp của sáng chế tốt hơn là được cho sử dụng bên ngoài với liều bằng khoảng 1 µg đến khoảng 5 mg mỗi ngày theo liều đơn hoặc liều được chia nhỏ (ví dụ, liều đơn có thể được chia thành 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, hoặc 10 liều nhỏ), hoặc khoảng 0,01 µg/kg đến khoảng 500 µg/kg mỗi liều, tốt hơn là khoảng 0,05 µg/kg đến khoảng 250 µg/kg, tốt hơn là thấp hơn khoảng 50 µg/kg. Các liều trong các khoảng này dĩ nhiên sẽ khác nhau tùy vào từng chất chủ vận, và người có trình độ trong ngành hoàn toàn có thể xác định được. Do đó, các liều lượng trên là điển hình cho trường hợp trung bình. Dĩ nhiên có thể có những trường hợp khuyên dùng phạm vi liều lượng cao hơn hoặc thấp hơn, và những trường hợp đó nằm trong phạm vi sáng chế này.

Trong những phương án khác, liên hợp của sáng chế được cho sử dụng với liều bằng khoảng 1 µg đến khoảng 5 mg, hoặc với liều bằng khoảng 0,01 µg/kg đến khoảng 500 µg/kg, tốt hơn là với liều bằng khoảng 0,05 µg/kg đến khoảng 250 µg/kg, tốt hơn là với liều thấp hơn khoảng 50 µg/kg, với thuốc điều trị thứ hai (ví dụ, liraglutide) với liều bằng khoảng 1 µg đến khoảng 5 mg, hoặc với liều bằng khoảng 0,01 µg/kg đến khoảng 500 µg/kg, tốt hơn là với liều bằng khoảng 0,05 µg/kg đến khoảng 250 µg/kg, tốt hơn là với liều thấp hơn khoảng 50 µg/kg.

Muối dược dụng của các liên hợp của sáng chế bao gồm các muối không độc thường gặp hoặc các muối amoni bậc bốn được hình thành từ các axit hoặc bazơ vô cơ hoặc hữu cơ. Ví dụ về các muối axit trên bao gồm axetat, adipat, benzoat, benzen sulfonat, xitrat, long não, đođexylsulfat, hyđroclorua, hyđrobromua, lactat, maleat, metansulfonat, nitrat, oxalat, pivalat, propionat, suxinat, sulfat và tartrat. Các muối bazơ bao gồm muối amoni, muối của kim loại kiềm như muối natri và muối kali, muối của kim loại kiềm thổ như muối canxi và muối magiê, muối có bazơ hữu cơ như muối đixyclohexylamino và muối có axit amin như arginin. Ngoài ra, các nhóm có tính bazơ chứa nitơ có thể được tạo thành bazơ bậc bốn, ví dụ bằng các halogenua alkyl.

Các chế phẩm dược của sáng chế có thể được sử dụng theo bất cứ phương thức nào đảm bảo mục đích sử dụng của chế phẩm. Ví dụ các phương thức này bao gồm sử dụng qua đường ngoài ruột, dưới da, trong tĩnh mạch, trong cơ, trong màng bụng, qua da, trong miệng hoặc mắt. Có thể sử dụng qua đường miệng. Các chế phẩm thích hợp để sử dụng

qua đường ngoài ruột bao gồm các dung dịch chứa nước của liên hợp có hoạt tính ở dạng tan trong nước, ví dụ các muối tan trong nước, dung dịch axit, dung dịch kiềm, dung dịch đextroza-nước, dung dịch hyđrat cacbon đẳng trương và các phức hệ bao thể.

Sáng chế này cũng bao gồm phương pháp tạo chế phẩm dược bao gồm việc pha trộn một chất mang dược dụng với liên hợp bất kỳ của sáng chế này. Ngoài ra, sáng chế này bao gồm các chế phẩm dược được tạo ra bằng cách pha trộn một hoặc nhiều chất mang dược dụng với liên hợp bất kỳ của sáng chế này.

Ngoài ra, các liên hợp của sáng chế này có thể chứa một hoặc nhiều chất đa hình hoặc dạng tinh thể vô định hình và do vậy được đưa vào phạm vi sáng chế. Ngoài ra, các liên hợp có thể hình thành các solvat, ví dụ với nước (tức là hyđrat) hoặc các dung môi hữu cơ thông thường. Trong bản mô tả này, thuật ngữ "solvat" nghĩa là sự liên kết vật lý của các liên hợp của sáng chế với một hoặc nhiều phân tử dung môi. Sự liên kết vật lý này liên quan đến các mức độ liên kết cộng hóa trị và ion khác nhau, bao gồm liên kết hyđrô. Trong một số trường hợp, solvat sẽ có khả năng phân lập, ví dụ khi một hoặc nhiều phân tử dung môi được kết hợp trong mạng tinh thể của chất rắn tinh thể. Thuật ngữ "solvat" có ý bao hàm cả solvat pha dung dịch và solvat có thể được phân lập. Có rất nhiều ví dụ về solvat phù hợp như các etanolat, metanolat và tương tự.

Sáng chế này nhằm bao hàm các chất đa hình và solvat của các liên hợp trong sáng chế này vào phạm vi của sáng chế. Vì vậy, trong các phương pháp điều trị của sáng chế này, thuật ngữ "sử dụng" bao hàm các phương thức điều trị, cải thiện hoặc phòng ngừa một hội chứng, rối loạn hoặc bệnh mô tả trong tài liệu này bằng các liên hợp trong sáng chế này hoặc một chất đa hình hoặc solvat của hợp chất đó mà rõ ràng sẽ nằm trong phạm vi của sáng chế mặc dù không được tiết lộ cụ thể.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến liên hợp của sáng chế để sử dụng làm dược phẩm.

Sáng chế này bao gồm tiền dược của các liên hợp của sáng chế này trong phạm vi của nó. Nhìn chung, những tiền dược này sẽ là các dẫn xuất chức năng của các liên hợp sẵn sàng được chuyển đổi *trong cơ thể sống* thành liên hợp yêu cầu. Vì vậy, trong các phương pháp điều trị của sáng chế này, thuật ngữ "sử dụng" bao hàm việc điều trị các rối loạn khác nhau đã được mô tả bằng liên hợp được bộc lộ cụ thể hoặc liên hợp không được bộc lộ cụ thể, nhưng chuyển đổi thành liên hợp chỉ định trong *cơ thể sống* sau khi sử dụng cho bệnh nhân. Các quy

trình truyền thống về cách chọn lọc và điều chế các dẫn xuất tiền dược phù hợp được mô tả, ví dụ trong "Kiểu tiền dược" ("Design of Prodrugs"), btv. H. Bundgaard, Elsevier, 1985.

Ngoài ra, trong phạm vi của sáng chế này, bất cứ nguyên tố nào, cụ thể khi được đề cập liên quan đến liên hợp của sáng chế, đều bao hàm tất cả đồng vị và hỗn hợp đồng vị của nguyên tố đó, dù xuất hiện tự nhiên hay được tổng hợp, dù phân bố trong tự nhiên hay ở dạng làm giàu đồng vị. Ví dụ, đề cập đến hyđro có nghĩa là đề cập đến ^{1}H, ^{2}H (D), và ^{3}H (T) trong phạm vi của nó. Tương tự, các đề cập đến cacbon và oxy có nghĩa là đề cập đến lần lượt 12C, ^{13}C và ^{14}C và ^{16}O và ^{18}O trong phạm vi của nó. Các chất đồng vị có thể phóng xạ hoặc không phóng xạ. Các liên hợp được gắn nhãn phóng xạ của sáng chế có thể bao gồm đồng vị phóng xạ được chọn từ nhóm gồm ^{3}H, ^{11}C, ^{18}F, ^{122}I, ^{123}I, ^{125}I, ^{131}I, ^{75}Br, ^{76}Br, ^{77}Br và ^{82}Br. Đồng vị phóng xạ nên được chọn từ nhóm gồm ^{3}H, ^{11}C và ^{18}F.

Một số liên hợp của sáng chế này có thể tồn tại dưới dạng atropisomer. Atropisomer là các đồng phân lập thể tạo ra từ quá trình quay bị cản trở về các liên kết đơn trong đó hàng rào tương tác lập thể đối với quá trình quay đủ cao để cho phép phân lập các đồng phân hình thể. Cần hiểu rằng tất cả các đồng phân hình thể nói trên và hỗn hợp của chúng được bao hàm trong phạm vi của sáng chế này.

Trong trường hợp các liên hợp theo sáng chế này có ít nhất một tâm lập thể, chúng có thể tồn tại theo đó dưới dạng đồng phân đối ảnh hoặc đồng phân không đối ảnh. Cần hiểu rằng tất cả các đồng phân nói trên và hỗn hợp của chúng được bao hàm trong phạm vi của sáng chế này.

Trong trường hợp quá trình điều chế các liên hợp theo sáng chế đòi hỏi phải trộn lẫn các đồng phân lập thể, các đồng phân này có thể được phân tách bằng các kỹ thuật truyền thống như sắc ký điều chế. Các liên hợp có thể được điều chế ở dạng triệt quang, hoặc từng đồng phân đối ảnh có thể được điều chế bằng cách tổng hợp từng đồng phân đối ảnh hay bằng cách phân giải. Ví dụ, các liên hợp có thể được phân giải thành các đồng phân đối ảnh cấu phần bằng các kỹ thuật tiêu chuẩn như hình thành các cặp đồng phân phi đối ảnh bằng cách tạo muối với một axit có hoạt tính quang học như axit (-)-đi-p-toluoyl-D-tartaric và/hoặc axit (+)-đi-p-toluoyl-L-tartaric, sau đó kết tinh phân đoạn và tái tạo bazơ tự do. Các liên hợp cũng có thể được phân giải bằng cách tạo các este hoặc amit đồng phân phi đối ảnh, sau đó phân tách bằng phương pháp sắc ký và loại bỏ chất phụ trợ bất đối xứng. Hoặc, cũng có thể phân giải các liên hợp bằng cách sử dụng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) hoặc SFC cột bất đối xứng. Trong một số

trường hợp đồng phân quay của các liên hợp có thể tồn tại mà có thể được quan sát bằng 1H NMR dẫn đến các mũi đa phức tạo và hợp nhất đỉnh trong phổ 1H NMR.

Trong các quá trình điều chế các liên hợp của sáng chế này, có thể sẽ cần và/hoặc phát sinh nhu cầu bảo vệ các nhóm nhạy cảm hoặc nhóm phản ứng trên bất kỳ phân tử nào liên quan. Điều này có thể đạt được bằng các nhóm bảo vệ thông dụng như các nhóm bảo vệ được mô tả trong Các nhóm bảo vệ trong hóa học hữu cơ, btv. J.F.W. McOmie, Plenum Press, 1973; và T.W. Greene & P.G.M. Wuts, Các nhóm bảo vệ trong tổng hợp hữu cơ, John Wiley & Sons, 1991, mỗi tài liệu này sau đây được hợp nhất vào bản mô tả này bằng viện dẫn vì tất cả các lý do. Các nhóm bảo vệ có thể được loại bỏ ở giai đoạn thuận tiện tiếp theo bằng các phương pháp được biết đến trong ngành.

Phương pháp sử dụng

Sáng chế đề cập đến phương pháp phòng ngừa, điều trị hoặc cải thiện hội chứng, rối loạn hoặc bệnh qua trung gian thụ thể Y2 ở đối tượng cần điều trị bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu liên hợp, hợp chất hoặc chế phẩm dược của sáng chế.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp phòng ngừa, điều trị, trì hoãn khởi phát, hoặc cải thiện rối loạn, bệnh hoặc tình trạng hoặc một hoặc nhiều triệu chứng bất kỳ của rối loạn, bệnh hoặc tình trạng ở đối tượng cần điều trị, bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu liên hợp, hợp chất hoặc chế phẩm dược của sáng chế.

Theo các phương án cụ thể của sáng chế, bệnh, rối loạn hoặc tình trạng được chọn từ nhóm bao gồm béo phì, tiểu đường týp I hoặc týp II, hội chứng chuyển hóa (tức là Hội chứng X), kháng insulin, suy giảm dung nạp glucoza (ví dụ như không dung nạp glucoza), tăng đường huyết, tăng insulin máu, tăng triglyxerit máu, giảm glucoza huyết do tăng insulin máu bẩm sinh (CHI), rối loạn mỡ máu, xơ vữa động mạch, bệnh thận do tiểu đường, các yếu tố nguy cơ tim mạch khác như tăng huyết áp và các yếu tố nguy cơ tim mạch liên quan đến nồng độ cholesterol và/hoặc lipit không được kiểm soát, loãng xương, viêm, bệnh gan nhiễm mỡ không do uống rượu (NAFLD), viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), bệnh thận và/hoặc bệnh chàm.

Theo các phương án cụ thể, lượng điều trị hữu hiệu là lượng điều trị đủ để đạt một, hai, ba, bốn hoặc nhiều hiệu quả sau đây: (i) giảm hoặc cải thiện mức độ nghiêm trọng của bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan; (ii) giảm thời gian bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan; (iii) ngăn chặn sự tiến triển bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên

quan; (iv) làm thoái lui bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan; (v) ngăn chặn sự phát triển hoặc khởi phát bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan; (vi) ngăn chặn sự tái phát bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan; (vii) giảm việc nhập viện của đối tượng bị bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan; (viii) giảm thời gian nằm viện của đối tượng bị bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan; (ix) tăng khả năng sống của đối tượng bị bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan; (xi) ức chế hoặc làm giảm bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan ở đối tượng; và/hoặc (xii) tăng cường hoặc cải thiện hiệu quả điều trị hoặc phòng ngừa của liệu pháp khác.

Liều hoặc lượng điều trị hữu hiện có thể thay đổi theo nhiều yếu tố, như bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị, cách sử dụng, vị trí đích, tình trạng sinh lý học của đối tượng (bao gồm, ví dụ, tuổi, cân nặng, sức khỏe), dù đối tượng là người hoặc con vật, dược phẩm khác được sử dụng, và dù việc điều trị là phòng ngừa hoặc chữa bệnh. Các liều điều trị được chuẩn độ tối ưu để tối ưu hóa tính an toàn và hiệu quả.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "trị bệnh", "trị", và "điều trị" đều chỉ việc cải thiện, đảo ngược ít nhất một thông số cơ thể có thể đo được liên quan đến bệnh, rối loạn hoặc tình trạng, làm chậm sự tiến triển hoặc phát triển, mà có thể, nhưng không nhất thiết, được thể hiện ra ở đối tượng. Thuật ngữ "trị bệnh", "trị", và "điều trị" có thể chỉ việc dẫn đến sự thoái lui, ngăn chặn hoặc ít nhất làm chậm sự tiến triển của bệnh, rối loạn hoặc tình trạng. Trong phương án cụ thể, "trị bệnh", "trị", và "điều trị" chỉ sự làm giảm nhẹ, ngăn chặn sự tiến triển hoặc khởi phát, hoặc giảm thời gian diễn ra một hoặc nhiều triệu chứng liên quan đến bệnh, rối loạn hoặc tình trạng. Trong phương án cụ thể, "trị bệnh", "trị", và "điều trị" chỉ việc ngăn chặn sự tái phát của bệnh, rối loạn hoặc tình trạng. Trong phương án cụ thể, "trị bệnh", "trị", và "điều trị" chỉ mức tăng thời gian sống sót của đối tượng mắc bệnh, rối loạn hoặc tình trạng. Trong phương án cụ thể, "trị bệnh", "trị", và "điều trị" chỉ việc loại bỏ bệnh, rối loạn hoặc tình trạng ở đối tượng.

Trong một phương án, sáng chế cũng cung cấp phương pháp phòng ngừa, điều trị, trì hoãn khởi phát, hoặc cải thiện bệnh béo phì hoặc một hoặc nhiều triệu chứng bất kỳ của bệnh béo phì ở đối tượng cần điều trị, phương pháp bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu liên hợp, hợp chất hoặc chế phẩm dược của sáng chế. Trong một số phương án, cân nặng cơ thể của đối tượng được giảm ở mức, ví dụ, bằng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,1%, bằng từ khoảng 0,1% đến khoảng 0,5%, bằng từ khoảng 0,5% đến

khoảng 1%, bằng từ khoảng 1% đến khoảng 5%, bằng từ khoảng 2% đến khoảng 3%, bằng từ khoảng 5% đến khoảng 10%, bằng từ khoảng 10% đến khoảng 15%, bằng từ khoảng 15% đến khoảng 20%, bằng từ khoảng 20% đến khoảng 25%, bằng từ khoảng 25% đến khoảng 30%, bằng từ khoảng 30% đến khoảng 35%, bằng từ khoảng 35% đến khoảng 40%, bằng từ khoảng 40% đến khoảng 45%, hoặc bằng từ khoảng 45% đến khoảng 50%, so với cân nặng cơ thể của đối tượng trước khi sử dụng liên hợp, hợp chất, chế phẩm dược, dạng bào chế hoặc dược phẩm của sáng chế được mô tả trong bản mô tả này, hoặc so với đối tượng không được nhận liên hợp, hợp chất, chế phẩm dược, dạng bào chế hoặc dược phẩm bất kỳ của sáng chế được mô tả trong bản mô tả này.

Trong một số phương án, sự giảm cân nặng cơ thể được duy trì, ví dụ, trong khoảng 1 tuần, trong khoảng 2 tuần, trong khoảng 3 tuần, trong khoảng 1 tháng, trong khoảng 2 tháng, trong khoảng 3 tháng, trong khoảng 4 tháng, trong khoảng 5 tháng, trong khoảng 6 tháng, trong khoảng 7 tháng, trong khoảng 8 tháng, trong khoảng 9 tháng, trong khoảng 10 tháng, trong khoảng 11 tháng, trong khoảng 1 năm, trong khoảng 1,5 năm, trong khoảng 2 năm, trong khoảng 2,5 năm, trong khoảng 3 năm, trong khoảng 3,5 năm, trong khoảng 4 năm, trong khoảng 4,5 năm, trong khoảng 5 năm, trong khoảng 6 năm, trong khoảng 7 năm, trong khoảng 8 năm, trong khoảng 9 năm, trong khoảng 10 năm, trong khoảng 15 năm, hoặc trong khoảng 20 năm.

Sáng chế này đưa ra phương pháp phòng ngừa, điều trị, trì hoãn sự khởi phát hoặc cải thiện hội chứng, rối loạn hoặc bệnh, hoặc một hoặc nhiều triệu chứng của hội chứng, rối loạn hoặc bệnh đã nêu ở đối tượng cần điều trị, trong đó hội chứng, rối loạn hoặc bệnh này được chọn từ nhóm bao gồm béo phì, tiểu đường týp 1 hoặc týp 2, hội chứng chuyển hóa (tức là Hội chứng X), kháng insulin, suy giảm dung nạp glucoza (ví dụ như không dung nạp glucoza), tăng đường huyết, tăng insulin máu, tăng triglyxerit máu, giảm glucoza huyết do tăng insulin máu bẩm sinh (CHI), rối loạn mỡ máu, xơ vữa động mạch, bệnh thận do tiểu đường, các yếu tố nguy cơ tim mạch khác như tăng huyết áp và các yếu tố nguy cơ tim mạch liên quan đến nồng độ cholesterol và/hoặc lipit không được kiểm soát, loãng xương, viêm, gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD), viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), bệnh thận và chàm, bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu liên hợp, hợp chất, hoặc chế phẩm dược của sáng chế.

Trong bản mô tả này, hội chứng chuyển hóa đề cập đến đối tượng có một hoặc nhiều triệu chứng bất kỳ sau đây: lượng đường trong máu cao (ví dụ, đường huyết lúc đói cao),

huyết áp cao, nồng độ cholesterol bất thường (ví dụ, nồng độ HDL thấp), nồng độ triglyxerit trong máu bất thường (ví dụ, triglyxerit trong máu cao), vòng eo lớn (tức là chu vi vòng eo), tăng mỡ trong vùng bụng, kháng insulin, không dung nạp glucose, tăng nồng độ protein phản ứng C (nghĩa là trạng thái tiền viêm) và tăng nồng độ chất ức chế hoạt hóa plasminogen trong huyết tương 1 và nồng độ fibrinogen (nghĩa là trạng thái tiền huyết khối).

Sáng chế cũng cung cấp phương pháp làm giảm lượng thu nạp thức ăn ở đối tượng cần điều trị, phương pháp bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu liên hợp, hợp chất hoặc chế phẩm dược của sáng chế. Trong một số phương án, lượng thức ăn thu nạp của đối tượng được giảm ở mức, ví dụ, bằng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,1%, bằng từ khoảng 0,1% đến khoảng 0,5%, bằng từ khoảng 0,5% đến khoảng 1%, bằng từ khoảng 1% đến khoảng 5%, bằng từ khoảng 2% đến khoảng 3%, bằng từ khoảng 5% đến khoảng 10%, bằng từ khoảng 10% đến khoảng 15%, bằng từ khoảng 15% đến khoảng 20%, bằng từ khoảng 20% đến khoảng 25%, bằng từ khoảng 25% đến khoảng 30%, bằng từ khoảng 30% đến khoảng 35%, bằng từ khoảng 35% đến khoảng 40%, bằng từ khoảng 40% đến khoảng 45%, hoặc bằng từ khoảng 45% đến khoảng 50%, so với lượng thức ăn thu nạp của đối tượng trước khi sử dụng liên hợp, hợp chất, chế phẩm, dạng bào chế, dược phẩm, hoặc các tổ hợp của sáng chế được mô tả trong bản mô tả này, hoặc so với đối tượng không được nhận liên hợp, hợp chất, chế phẩm, dạng bào chế, dược phẩm hoặc tổ hợp bất kỳ của sáng chế được mô tả trong bản mô tả này.

Trong một số phương án, lượng thức ăn thu nạp được duy trì, ví dụ, trong khoảng 1 tuần, trong khoảng 2 tuần, trong khoảng 3 tuần, trong khoảng 1 tháng, trong khoảng 2 tháng, trong khoảng 3 tháng, trong khoảng 4 tháng, trong khoảng 5 tháng, trong khoảng 6 tháng, trong khoảng 7 tháng, trong khoảng 8 tháng, trong khoảng 9 tháng, trong khoảng 10 tháng, trong khoảng 11 tháng, trong khoảng 1 năm, trong khoảng 1,5 năm, trong khoảng 2 năm, trong khoảng 2,5 năm, trong khoảng 3 năm, trong khoảng 3,5 năm, trong khoảng 4 năm, trong khoảng 4,5 năm, trong khoảng 5 năm, trong khoảng 6 năm, trong khoảng 7 năm, trong khoảng 8 năm, trong khoảng 9 năm, trong khoảng 10 năm, trong khoảng 15 năm, hoặc trong khoảng 20 năm.

Sáng chế cũng cung cấp phương pháp làm giảm glycated hemoglobin (A1C) ở đối tượng cần điều trị, phương pháp bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu liên hợp, hợp chất hoặc chế phẩm dược của sáng chế. Trong một số phương án, lượng A1C của

đối tượng được giảm ở mức, ví dụ, bằng từ khoảng 0,001% đến khoảng 0,01%, từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,1%, từ khoảng 0,1% đến khoảng 0,2%, từ khoảng 0,2% đến khoảng 0,3%, từ khoảng 0,3% đến khoảng 0,4%, từ khoảng 0,4% đến khoảng 0,5%, từ khoảng 0,5% đến khoảng 1%, từ khoảng 1% đến khoảng 1,5%, từ khoảng 1,5% đến khoảng 2%, từ khoảng 2% đến khoảng 2,5%, từ khoảng 2,5% đến khoảng 3%, từ khoảng 3% đến khoảng 4%, từ khoảng 4% đến khoảng 5%, từ khoảng 5% đến khoảng 6%, từ khoảng 6% đến khoảng 7%, từ khoảng 7% đến khoảng 8%, từ khoảng 8% đến khoảng 9%, hoặc từ khoảng 9% đến khoảng 10% so với lượng A1C của đối tượng trước khi sử dụng liên hợp, hợp chất, chế phẩm, dạng bào chế, dược phẩm, hoặc các tổ hợp của sáng chế được mô tả trong bản mô tả này, hoặc so với đối tượng không được nhận liên hợp, hợp chất, chế phẩm, dạng bào chế, dược phẩm hoặc tổ hợp bất kỳ của sáng chế được mô tả trong bản mô tả này.

Trong các phương án khác, sáng chế cung cấp các phương pháp làm giảm nồng độ glucoza trong máu khi đói ở đối tượng cần điều trị, các phương pháp bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu liên hợp, hợp chất hoặc chế phẩm dược của sáng chế. Nồng độ glucoza trong máu khi đói có thể được giảm xuống thấp hơn khoảng 140 đến khoảng 150 mg/dL, thấp hơn khoảng 140 đến khoảng 130 mg/dL, thấp hơn khoảng 130 đến khoảng 120 mg/dL, thấp hơn khoảng 120 đến khoảng 110 mg/dL, thấp hơn khoảng 110 đến khoảng 100 mg/dL, thấp hơn khoảng 100 đến khoảng 90 mg/dL, hoặc thấp hơn khoảng 90 đến khoảng 80 mg/dL, so với nồng độ glucoza trong máu khi đói của đối tượng trước khi sử dụng liên hợp, hợp chất, chế phẩm, dạng bào chế, dược phẩm, hoặc các tổ hợp của sáng chế được mô tả trong bản mô tả này, hoặc so với đối tượng không được nhận liên hợp, hợp chất, chế phẩm, dạng bào chế, dược phẩm hoặc tổ hợp bất kỳ của sáng chế được mô tả trong bản mô tả này.

Sáng chế cũng cung cấp phương pháp điều hòa hoạt tính thụ thể Y2 ở đối tượng cần điều trị, phương pháp bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu liên hợp, hợp chất hoặc chế phẩm dược của sáng chế. Trong tài liệu này, "điều hòa" có nghĩa là tăng hoặc giảm hoạt tính của thụ thể.

Trong một số phương án, lượng hữu hiệu liên hợp hoặc hợp chất của sáng chế hoặc dạng, chế phẩm hoặc dược phẩm của nó được cho đối tượng cần điều trị sử dụng mỗi ngày một lần, hai lần một ngày, ba lần một ngày, bốn lần một ngày, năm lần một ngày, sáu lần một ngày, bảy lần một ngày, hoặc tám lần một ngày. Trong các phương án khác, lượng hữu hiệu liên hợp hoặc hợp chất của sáng chế hoặc dạng, chế phẩm hoặc dược phẩm của nó được cho đối tượng cần điều trị sử dụng hai ngày một lần, mỗi tuần một lần, mỗi tuần

hai lần, mỗi tuần ba lần, mỗi tuần bốn lần, mỗi tuần năm lần, mỗi tuần sáu lần, mỗi tháng hai lần, mỗi tháng ba lần, hoặc mỗi tháng bốn lần.

Trong phương án khác, sáng chế cung cấp phương pháp phòng ngừa, điều trị, trì hoãn khởi phát, hoặc cải thiện bệnh, rối loạn hoặc hội chứng hoặc một hoặc nhiều triệu chứng bất kỳ của bệnh, rối loạn hoặc hội chứng này ở đối tượng cần điều trị, phương pháp bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu liên hợp, hợp chất hoặc chế phẩm dược của sáng chế trong liệu pháp kết hợp. Trong một số phương án nhất định, liệu pháp kết hợp là dùng với thuốc điều trị thứ hai. Trong một số phương án nhất định, liệu pháp kết hợp là kết hợp với liệu pháp phẫu thuật.

Như được sử dụng trong tài liệu này, thuật ngữ "kết hợp" trong ngữ cảnh sử dụng hai hoặc nhiều liệu pháp điều trị cho đối tượng, chỉ việc sử dụng nhiều hơn một liệu pháp.

Trong tài liệu này, liệu pháp điều trị kết hợp chỉ việc cho đối tượng cần điều trị sử dụng một hoặc nhiều thuốc điều trị bổ sung, hoặc một hoặc nhiều liệu pháp phẫu thuật, sử dụng đồng thời với lượng hữu hiệu liên hợp hoặc hợp chất của sáng chế hoặc dạng, chế phẩm hoặc chế phẩm dược của nó. Trong một số phương án, một hoặc nhiều thuốc điều trị hoặc các liệu pháp phẫu thuật bổ sung có thể được dùng trong cùng ngày với lượng hữu hiệu liên hợp của sáng chế, còn trong các phương án khác, một hoặc nhiều thuốc điều trị hoặc các liệu pháp phẫu thuật bổ sung có thể được dùng trong cùng tuần hoặc cùng tháng với lượng hữu hiệu liên hợp hoặc hợp chất của sáng chế.

Trong một số phương án nhất định, trong đó bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh béo phì, đái tháo đường týp II, hội chứng chuyển hóa, kháng insulin và rối loạn mỡ máu, thuốc điều trị thứ hai có thể là thuốc chống đái tháo đường. Trong một số phương án nhất định, thuốc chống đái tháo đường có thể là thuốc điều hòa thụ thể peptit giống như glucagon 1 (GLP-1).

Sáng chế cũng nhằm mục đích phòng ngừa, điều trị, trì hoãn sự khởi phát hoặc cải thiện bệnh, rối loạn, hội chứng, hoặc triệu chứng được mô tả trong bản mô tả này ở đối tượng cần điều trị bằng liệu pháp điều trị kết hợp bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu liên hợp, hợp chất hoặc chế phẩm dược của sáng chế, kết hợp với một hoặc nhiều thuốc điều trị sau đây: chất ức chế đipeptiđyl peptiđaza-4 (DPP-4) (ví dụ: sitagliptin, saxagliptin, linagliptin, alogliptin, v.v.); chất chủ vận thụ thể GLP-1 (ví dụ: chất chủ vận thụ thể GLP-1 tác dụng thời gian ngắn như exenatide và lixisenatide; chất chủ vận thụ thể GLP-1 tác dụng tức thì như liraglutide; chất chủ vận thụ thể GLP-1 tác dụng kéo dài như exenatide giải

phóng chậm, albiglutide, dulaglutide); chất ức chế đồng vận chuyển natri- glucoza 2 (SGLT-2) (ví dụ, canaglifozin, đapaglifozin, empaglifozin, v.v.); các chất càng hóa axit mật (ví dụ, colesevelam, v.v.); chất chủ vận thụ thể đopamin (ví dụ, bromocriptin giải phóng nhanh). điguanua (ví dụ, metformin, v.v.); insulin; oxyntomodulin; sulfonylurea (ví dụ, chlorpropamide, glimepiride, glipizide, glyburide, glibenclamide, glibornuride, glisoxepide, glyclopyramide, tolazamide, tolbutamide, acetohexamide, carbutamide, v.v.); và thiazoliđinđion (ví dụ; pioglitazon, rosiglitazon, lobeglitazon, ciglitazon, darglitazon, englitazon, netoglitazon, rivoglitazon, troglitazon, v.v.). Trong một số phương án, giảm liều lượng của thuốc điều trị bổ sung khi được cho kết hợp với liên hợp hoặc hợp chất của sáng chế. Trong một số phương án, khi sử dụng kết hợp với liên hợp hoặc hợp chất của sáng chế, thuốc điều trị bổ sung có thể được sử dụng với liều thấp hơn khi sử dụng từng thuốc riêng biệt.

Theo một số phương án nhất định, trong đó bệnh, rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm béo phì, tiểu đường týp I hoặc týp II, hội chứng chuyển hóa (tức là Hội chứng X), kháng insulin, suy giảm dung nạp glucoza (ví dụ như không dung nạp glucoza), tăng đường huyết, tăng insulin máu, tăng triglyxerit máu, giảm glucoza huyết do tăng insulin máu bẩm sinh (CHI), rối loạn mỡ máu, xơ vữa động mạch, bệnh thận do tiểu đường, các yếu tố nguy cơ tim mạch khác như tăng huyết áp và các yếu tố nguy cơ tim mạch liên quan đến nồng độ cholesterol và/hoặc lipit không được kiểm soát, loãng xương, viêm, bệnh gan nhiễm mỡ không do uống rượu (NAFLD), viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), bệnh thận và/hoặc bệnh chàm, thuốc điều trị thứ hai có thể là liraglutide.

Sáng chế nhằm mục đích phòng ngừa, điều trị, trì hoãn sự khởi phát hoặc cải thiện bệnh, rối loạn, hội chứng, hoặc triệu chứng được mô tả trong bản mô tả này ở đối tượng cần điều trị bằng liệu pháp điều trị kết hợp bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu liên hợp, hợp chất hoặc chế phẩm dược của sáng chế, kết hợp với liệu pháp phẫu thuật. Trong một số phương án nhất định, liệu pháp phẫu thuật có thể là phẫu thuật giảm cân (ví dụ, phẫu thuật nối tắt dạ dày, như phẫu thuật nối tắt dạ dày Roux-en-Y; cắt tạo dạ dày hình ống; phẫu thuật thắt dạ dày điều chỉnh; chuyển dòng mật tụy kèm chuyển dòng tá tràng; bóng đặt trong dạ dày; tạo nếp gấp dạ dày; và kết hợp bất kỳ của chúng).

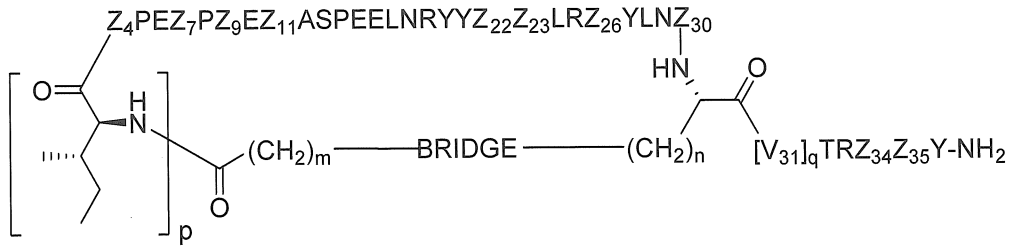
Trong các phương án trong đó một hoặc nhiều thuốc điều trị bổ sung, hoặc các liệu pháp phẫu thuật có thể được dùng trong cùng ngày với lượng hữu hiệu liên hợp hoặc hợp chất của sáng chế, liên hợp hoặc hợp chất của sáng chế có thể được cho dùng trước, sau hoặc đồng thời với thuốc điều trị bổ sung hoặc liệu pháp phẫu thuật. Việc sử dụng thuật

ngữ "kết hợp" không giới hạn trình tự sử dụng liệu pháp điều trị cho đối tượng. Ví dụ, có thể cho đối tượng sử dụng liệu pháp thứ nhất (ví dụ, chế phẩm được mô tả trong tài liệu này) trước khi (ví dụ, 5 phút, 15 phút, 30 phút, 45 phút, 1 giờ, 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ, 12 giờ, 16 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ, 1 tuần, 2 tuần, 3 tuần, 4 tuần, 5 tuần, 6 tuần, 8 tuần, hoặc 12 tuần trước), đồng thời với, hoặc sau khi (ví dụ, 5 phút, 15 phút, 30 phút, 45 phút, 1 giờ, 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ, 12 giờ, 16 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ, 1 tuần, 2 tuần, 3 tuần, 4 tuần, 5 tuần, 6 tuần, 8 tuần, hoặc 12 tuần sau) sử dụng liệu pháp thứ hai.

Các phương án

Sáng chế còn cung cấp các phương án không giới hạn sau đây.

Phương án 1 là liên hợp bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó được ghép với peptit PYY vòng, trong đó peptit PYY vòng được biểu diễn theo Công thức I hoặc chất dẫn xuất hoặc muối dược dụng của nó:



Công thức I

trong đó

p bằng 0 hoặc 1;

m bằng 0, 1, 2, 3, 4, hoặc 5;

n bằng 1, 2, 3 hoặc 4;

q bằng 0 hoặc 1; miễn là q chỉ bằng 1 khi không có Z_{30};

CẦU là -Ph-CH_2-S-, -triazolyl-, -NHC(O)CH_2S-, -SCH_2C(O)NH-,

-$(OCH_2CH_2)_2$NHC(O)CH_2S, -NHC(O)-, hoặc -CH_2S-;

Z_4 là K, A, E, S, hoặc R;

Z_7 là A hoặc K;

Z_9 là G hoặc K;

Z_{11} là D hoặc K;

Z_{22} là A hoặc K;

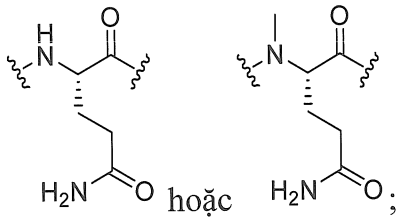
Z_{23} là S hoặc K;

Z_{26} là A hoặc H:

Z_{30} là L, W, không có mặt, hoặc K;

miễn là Z_{30} chỉ không có mặt khi q bằng 1;

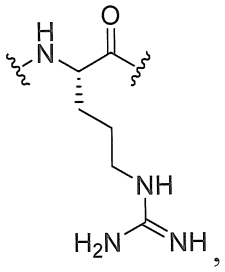
Z_{34} là



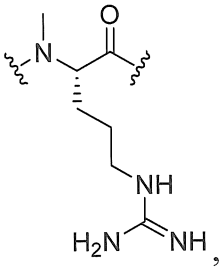
hoặc

;

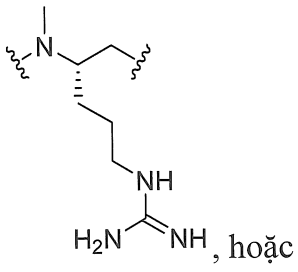
Z_{35} là



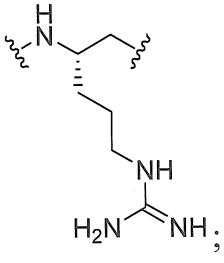
,



,



, hoặc



;

trong đó chất dẫn xuất là hợp chất có công thức I được biến đổi bằng một hoặc nhiều quy trình được chọn từ nhóm bao gồm amit hóa, glycosyl hóa, carbamyl hóa, sulfat hóa, phosphoryl hóa, tạo vòng, liên kết với chất béo, hoặc gắn kết với polyetylen glycol (pegylation).

Phương án 2 là liên hợp theo phương án 1, trong đó peptit PYY vòng là chất dẫn xuất của peptit PYY vòng có có công thức I được biến đổi bằng một hoặc nhiều quy trình được chọn từ nhóm bao gồm amit hóa, liên kết với chất béo, gắn kết với polyetylen glycol (pegylation), hoặc muối dược dụng của nó.

Phương án 3 là liên hợp theo phương án 1, trong đó peptit PYY vòng được biểu diễn theo công thức I hoặc chất dẫn xuất hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

p bằng 0 hoặc 1;

m bằng 0, 1, 2, 3, 4, hoặc 5;

n bằng 1, 2, 3 hoặc 4;

q bằng 0 hoặc 1; miễn là q chỉ bằng 1 khi không có Z_{30};

CẦU là -Ph-CH_2-S-, -triazolyl-, -NHC(O)CH_2S-, -SCH_2C(O)NH_2-, -$(OCH_2CH_2)_2$NHC(O)CH_2S, -NHC(O)-, hoặc -CH_2S-;

Z_4 là K, A, E, S, hoặc R;

Z_7 là A hoặc K,

Z_9 là G hoặc K,

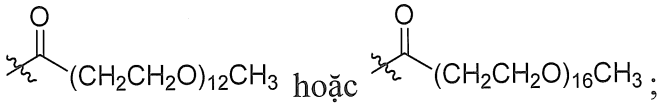
Z_{11} là D hoặc K,

Z_{22} là A hoặc K,

Z_{23} là S hoặc K,

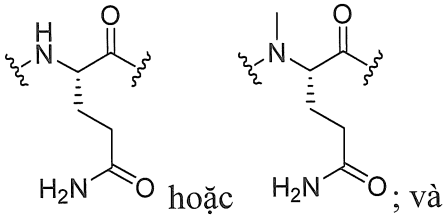
Z_{26} là A hoặc H;

Z_{30} là L hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này được thay thế bằng



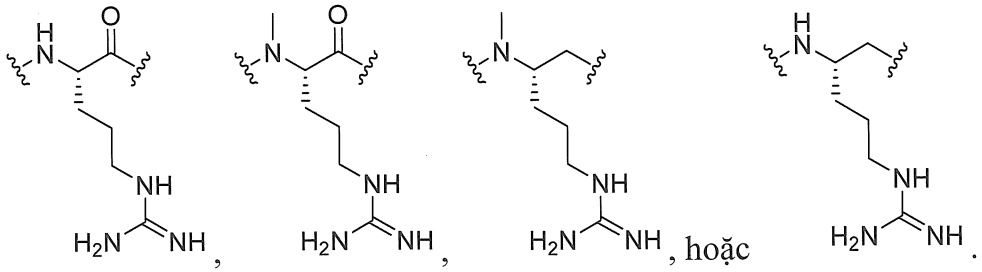
;

Z_{34} là



; và

Z_{35} là



.

Phương án 4 là liên hợp theo phương án 1, trong đó peptit PYY vòng được biểu diễn theo công thức I hoặc chất dẫn xuất hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

p bằng 0 hoặc 1;

m bằng 0, 1, 2, 3, hoặc 5;

n bằng 1, 2, hoặc 4;

q bằng 0 hoặc 1; miễn là q có thể chỉ bằng 1 khi không có Z_{30};

CẦU là -Ph-CH_2-S-, -triazolyl-, -NHC(O)CH_2S-, -SCH_2C(O)NH_2-, -$(OCH_2CH_2)_2$NHC(O)CH_2S, -NHC(O)-, hoặc -CH_2S-;

Z_4 là K, A, E, S, hoặc R;

Z_7 là A hoặc K,

Z_9 là G hoặc K,

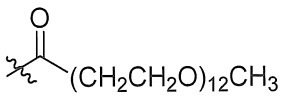
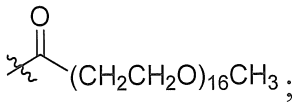
Z_{11} là D hoặc K,

Z_{22} là A hoặc K,

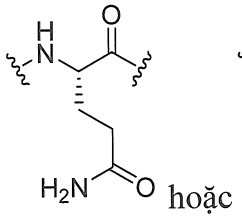
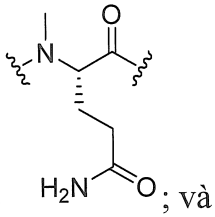
Z_{23} là S hoặc K,

Z_{26} là A hoặc H;

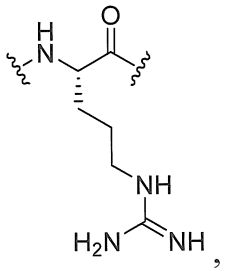
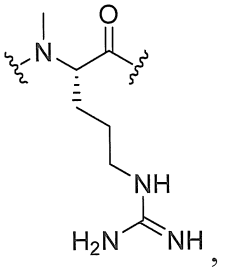
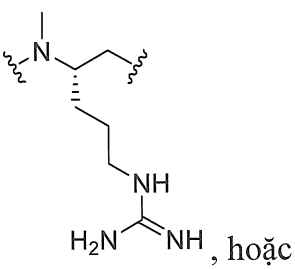
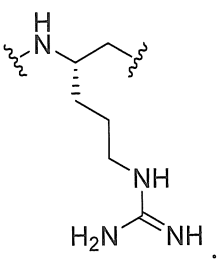
Z_{30} là L hoặc K, trong đó mạch bên amino của K này được thay thế bằng

 hoặc  ;

Z_{34} là

 hoặc  ; và

Z_{35} là

 ,  ,  , hoặc  .

Phương án 2 là liên hợp bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó được ghép với peptit PYY vòng, trong đó các liên hợp được lần lượt biểu diễn bằng các công thức IIIa-b, IVa-b, Va-b, và/hoặc Via-b, trong đó trong công thức IIIa-b, IVa-b, Va-b, và VIa-b,

x có thể là, ví dụ 1, 2, 3, 4, 5, hoặc 6, tốt hơn là 2.

cầu nối 1 có thể là, ví dụ G, βA, -$COCH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2NH$-, γ-aminobutanoyl, GG, -$CO(CH_2)_mSCH_2$- (miễn là khi cầu nối 2 = -NH-, m=1, 2) hoặc liên kết;

cầu nối 2 có thể là, ví dụ –CH2-, benzyl, etyltriazolyl, -NH-, hoặc liên kết;

n có thể là, ví dụ 1, 2, hoặc 3;

X có thể là, ví dụ –S- hoặc –CH_2-;

Z_3 có thể là, ví dụ I hoặc liên kết;

Z_4 có thể là, ví dụ K, S hoặc R;

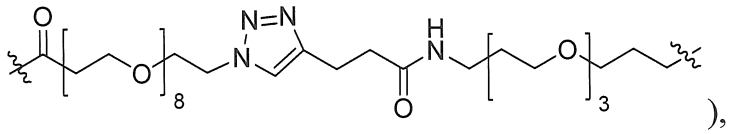
Z_{30} có thể là, ví dụ L, W, K (mPEG16), hoặc K (mPEG12);

Z_{34} có thể là, ví dụ Q, trong đó Q này tùy chọn là N metyl hóa trên alpha-amit nitơ;

Z_{35} có thể là, ví dụ R, trong đó R này tùy chọn là N metyl hóa trên alpha-amit nitơ, hoặc R được khử carbonyl hóa, tạo thành liên kết psi-($Z_{35}Z_{36}$) amit, hoặc R là cả N metyl hóa trên alpha-amit nitơ và được khử carbonyl hóa tạo thành liên kết *psi*-($Z_{35}Z_{36}$) amit;

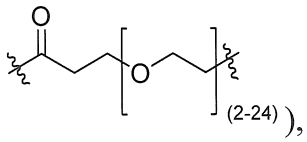
Z_{36} có thể là, ví dụ Y (Tyr), Cha (β-xyclohexylalanin), Aic (axit 2-aminoindane-2-carboxylic) hoặc F (Phe), trong đó F này tùy chọn được thế ở vị trí para bằng flo (4-F-Phe), clo (4-Cl-Phe), brom (4-Br-Phe), iođo (4-I-Phe), amino (4-NH_2-Phe); và

Liên kết 3 có thể, ví dụ, bao gồm sự amit hóa bất kỳ trong các amit hóa sau đây đối với mạch bên lysin: (PEG)8-triazolyl-CH_2CH_2CO-PEG4 (bao gồm



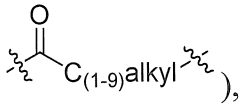
),

chuỗi PEG gồm 2-24 đơn vị PEG (bao gồm



),

chuỗi alkyl chứa 2-10 nguyên tử carbon (bao gồm



),

$(Gly_4Ser)_j$ trong đó j = 1-4, $(AlaPro)_u$ trong đó u = 1-10, hoặc –Nh-cầu nối 3- có thể được thay thế bằng liên kết.

Phương án 6 là liên hợp theo phương án 1, trong đó peptit PYY vòng được chọn từ nhóm bao gồm các SỐ ID TRÌNH TỰ:1-100.

Phương án 7 là liên hợp theo phương án bất kỳ trong các phương án 1-6, trong đó kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó liên kết cộng hóa trị với peptit PYY vòng ở vị trí đơn phân lysin của peptit PYY vòng qua cầu nối.

Phương án 8 là liên hợp theo phương án 7, trong đó cầu nối được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol (PEG)8-triazolyl-CH_2CH_2CO-PEG4, chuỗi PEG gồm 2-24 đơn vị PEG, chuỗi alkyl chứa 2-10 nguyên tử carbon, $(Gly_4Ser)_j$ trong đó j = 1-4, $(AlaPro)_u$ trong đó u = 1-10, và liên kết.

Phương án 9 là liên hợp theo phương án 8, trong đó chỉ một trong các Z_7, Z9, Z_{11}, Z_{22} và Z_{23} trong công thức I là lysin, và lysin được liên kết cộng hóa trị với đơn phân xystein được kiến tạo của kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó qua cầu nối.

Phương án 10 là liên hợp bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó được ghép với peptit PYY vòng, trong đó liên hợp bao gồm cấu trúc được chọn từ nhóm bao gồm các SỐ ID TRÌNH TỰ: 102-127, hoặc muối dược dụng của nó. trong đó mAb là kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, và $]_2$ là 1 hoặc 2 peptit PYY vòng được liên kết cộng hóa trị với mAb.

Phương án 11 là liên hợp theo phương án bất kỳ trong các phương án 1-10, trong đó kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng xác định bổ sung chuỗi nặng 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3 và vùng xác định bổ sung chuỗi nhẹ 1 (LCDR1), LCDR2 và LCDR3, có các trình tự polypeptit có SỐ ID TRÌNH TỰ lần lượt là 141, 142, 143, 144, 145 và 146

Phương án 12 là liên hợp theo phương án 11, trong đó kháng thể đơn dòng được phân lập bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng (VH) có trình tự polypeptit có SỐ ID TRÌNH TỰ: 137 và miền biến đổi chuỗi nhẹ (VL) có trình tự polypeptit có SỐ ID TRÌNH TỰ: 139.

Phương án 13 là liên hợp theo phương án 12, còn bao gồm phần Fc.

Phương án 14 là liên hợp theo phương án 13, bao gồm chuỗi nặng (HC) có trình tự polypeptit có SỐ ID TRÌNH TỰ: 138 và chuỗi nhẹ (LC) có trình tự polypeptit có SỐ ID TRÌNH TỰ: 140.

Phương án 15 là phương pháp tạo liên hợp theo phương án bất kỳ trong các phương án 1-14, bao gồm bước cho phân tử ưa điện tử, tốt hơn là bromoaxetamit hoặc maleimit, được đưa vào mạch bên của PYY vòng, tốt hơn là mạch bên amino của đơn phân lysin của peptit PYY vòng, phản ứng với nhóm sulfhyđryl có đơn phân xystein có SỐ ID TRÌNH TỰ:143 của kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, từ đó tạo liên kết hóa trị giữa peptit PYY vòng và kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó.

Phương án 16 là chế phẩm dược bao gồm liên hợp theo phương án bất kỳ trong các phương án 1-14 và chất mang dược dụng.

Phương án 17 là phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh béo phì ở đối tượng cần điều trị, bao gồm bước cho đối tượng sử dụng một lượng điều trị hữu hiệu chế phẩm dược theo phương án 16.

Phương án 18 là phương pháp theo phương án 17, trong đó việc cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu chế phẩm khiến cho cân nặng cơ thể của đối tượng giảm khoảng 5% đến khoảng 10%, khoảng 10% đến khoảng 15%, khoảng 15% đến khoảng 20%, hoặc khoảng 20% đến khoảng 25% so với cân nặng cơ thể của đối tượng trước khi sử dụng chế phẩm dược.

Phương án 19 là phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng cần điều trị, trong đó bệnh hoặc rối loạn này được chọn từ nhóm bao gồm béo phì, tiểu đường týp I hoặc týp II, hội chứng chuyển hóa, kháng insulin, suy giảm dung nạp glucoza, tăng đường huyết, tăng insulin máu, tăng triglyxerit máu, giảm glucoza huyết do tăng insulin máu bẩm sinh (CHI), rối loạn mỡ máu, xơ vữa động mạch, bệnh thận do tiểu đường, các yếu tố nguy cơ tim mạch khác như tăng huyết áp và các yếu tố nguy cơ tim mạch liên quan đến nồng độ cholesterol và/hoặc lipit không được kiểm soát, loãng xương, viêm, bệnh gan nhiễm mỡ không do uống rượu (NAFLD), viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), bệnh thận và bệnh chàm, phương pháp bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu chế phẩm dược theo phương án 16.

Phương án 20 là phương pháp theo phương án 19, trong đó bệnh hoặc rối loạn đã nêu là bệnh béo phì.

Phương án 21 là phương pháp theo phương án 19, trong đó bệnh hoặc rối loạn đã nêu là bệnh tiểu đường týp I.

Phương án 22 là phương pháp theo phương án 19, trong đó bệnh hoặc rối loạn đã nêu là bệnh tiểu đường týp II

Phương án 23 là phương pháp theo phương án 19, trong đó bệnh hoặc rối loạn đã nêu là hội chứng chuyển hóa.

Phương án 24 là phương pháp theo phương án 19, trong đó bệnh hoặc rối loạn đã nêu là bệnh thận.

Phương án 25 là phương pháp theo phương án 19, trong đó bệnh hoặc rối loạn đã nêu là viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH).

Phương án 26 là phương pháp theo phương án 19, trong đó bệnh hoặc rối loạn đã nêu là bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD).

Phương án 27 là phương pháp làm giảm lượng thu nạp thức ăn ở đối tượng cần điều trị, phương pháp bao gồm bước cho đối tượng sử dụng một lượng điều trị hữu hiệu chế phẩm dược theo phương án 16.

Phương án 28 là phương pháp theo phương án 27, trong đó việc cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu chế phẩm dẫn đến giảm lượng thu nạp thức ăn khoảng 5% đến khoảng 10%, khoảng 10% đến khoảng 15%, khoảng 15% đến khoảng 20%, hoặc khoảng 20% đến khoảng 25%, khoảng 25% đến khoảng 30%, khoảng 30% đến khoảng 35%, khoảng 35% đến khoảng 40%, khoảng 40% đến khoảng 45%, hoặc khoảng 45% đến khoảng 50% so với cân nặng cơ thể của đối tượng trước khi sử dụng chế phẩm dược.

Phương án 29 là phương pháp điều hòa hoạt tính thụ thể Y2 ở đối tượng cần điều trị, phương pháp bao gồm bước cho đối tượng sử dụng một lượng điều trị hữu hiệu chế phẩm dược theo phương án 16.

Phương án 30 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong các phương án từ 17-29, trong đó chế phẩm dược được sử dụng qua đường tiêm.

Phương án 31 là phương pháp theo phương án 30, trong đó tiêm được thực hiện dưới da, trong cơ, trong màng bụng hoặc trong tĩnh mạch.

Phương án 32 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong các phương án từ 17-31, trong đó chế phẩm dược được sử dụng kết hợp với thuốc điều trị thứ hai.

Phương án 33 là phương pháp theo phương án 32, trong đó bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh béo phì, tiểu đường týp 2, hội chứng chuyển hóa, kháng insulin và rối loạn mỡ máu, thuốc điều trị thứ hai ít nhất là một loại thuốc chống tiểu đường.

Phương án 34 là phương pháp theo phương án 33, trong đó thuốc chống tiểu đường nói trên là chất điều hòa thụ thể peptit giống glucagon 1 (GLP-1).

Phương án 35 là phương pháp theo phương án 32, trong đó thuốc điều trị thứ hai là liraglutide.

Phương án 36 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong các phương án từ 17-35, trong đó chế phẩm dược được cho đối tượng sử dụng mỗi ngày một lần, mỗi tuần một lần hoặc mỗi tháng một lần.

Phương án 37 là phương pháp theo phương án 36, trong đó chế phẩm dược được cho dùng một lần, hai lần, ba lần, bốn lần, năm hoặc sáu lần một ngày.

Phương án 38 là phương pháp theo phương án 36, trong đó chế phẩm dược được cho dùng một lần, hai lần, ba lần, bốn lần, năm hoặc sáu lần một tuần.

Phương án 39 là phương pháp theo phương án 36, trong đó chế phẩm dược được cho dùng một lần, hai lần, ba lần, bốn lần, năm hoặc sáu lần một tháng.

Phương án 40 là kit bao gồm liên hợp theo phương án bất kỳ trong các phương án 1-14 hoặc chế phẩm dược theo phương án 16, tốt hơn là kit còn bao gồm lượng hữu hiệu thuốc điều trị thứ hai, tốt hơn là, kit còn bao gồm lượng hữu hiệu liraglutide.

Phương án 40 là kit theo phương án 40, trong đó kit còn bao gồm dụng cụ tiêm.

Phương án 42 là phương pháp sản xuất chế phẩm dược bao gồm liên hợp theo phương án bất kỳ trong các phương án 1-14, bao gồm bước kết hợp liên hợp với chất mang dược dụng để thu về chế phẩm dược.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Tổng hợp

Các hợp chất hoặc liên hợp của sáng chế này có thể được tổng hợp theo các phương pháp tổng hợp thông thường được các chuyên gia trong ngành biết đến. Mô tả về sự tổng hợp sau đây với mục đích làm ví dụ và không có ý giới hạn sáng chế.

Các chất tương tự hoặc chất dẫn xuất PYY vòng NTSC (NTSC-PYY) của sáng chế có thể được tổng hợp bằng các quy trình thông thường, đã biết về việc tạo thành các liên kết peptit liên tiếp giữa các axit amin, và tốt hơn là được thực hiện bằng các tổng hợp peptit pha rắn (SPPS), như được mô tả khái quát bởi Merrifield (J. Am. Chem. Soc. (Tạp chí Hiệp hội hóa học Hoa Kỳ), 1963, 85, 2149-2154), sử dụng thiết bị tổng hợp peptit tự động, tổng hợp trong phòng thí nghiệm truyền thống, hoặc kết hợp cả hai phương pháp này. Các quy trình tổng hợp peptit thông thường liên quan đến sự ngưng tụ giữa nhóm amino tự do gồm một đơn phân axit amin, nhóm này có các nhóm chức phản ứng khác đã được bảo vệ phù hợp, và nhóm carboxyl tự do gồm axit amin khác, mà nhóm này có các nhóm chức phản ứng

cũng đã được bảo vệ phù hợp. Ví dụ về các chất ngưng tụ thường được sử dụng để tạo sự hình thành liên kết peptit bao gồm điisopropylcarbođiimit (DIC) có hoặc không có 1-hyđroxybenztriazol (HOBT) hoặc etyl xyano(hyđroxyimino)axetat (Oxyma Pure), 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametylaminium hexaflophosphat (HBTU), 2-(1H-7-azabenztriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametylaminium hexaflophosphat (HATU), 2-(6-cloro-1H-benztriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametylaminium hexaflophosphat (HCTU), 1-xyano-2-etoxy-2-oxoetyliđeneaminooxy-tris-pyroliđino-phosphonium hexaflophosphat (PyOxim), 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametylaminium tetrafloborat (TBTU) bromo-tris-pyroliđino-phosphonium hexaflophosphat (PyBroP), và v.v.

Có thể thực hiện phương pháp tổng hợp peptit tự động ở nhiệt độ phòng (rt), hoặc ở nhiệt độ cao, tốt hơn là bằng cách gia nhiệt vi sóng, như được mô tả bởi Yu (J. Org. Chem. (Tạp chí hóa học hữu cơ), 1992, 57, 4781-4784) và mới đây hơn, được tinh chế bởi Palasek (J. Pept. Sci. (Tạp chí Khoa học peptit), 2007, 13, 143-148).

Các hợp chất của sáng chế (các amit đầu C) có thể được bào chế tiện lợi bằng phương pháp dùng axit amin được bảo vệ bằng N-α-FMOC (9-floenylmetyloxycarbonyl), trong đó đầu carboxy của axit amin được bảo vệ bằng N-α-FMOC được bảo vệ phù hợp được ghép với nhựa pha rắn thông thường bằng cách sử dụng chất ghép cặp phù hợp. Nhựa pha rắn thông thường, phù hợp có bán trên thị trường bao gồm nhựa amit Rink MBHA, nhựa amit Rink AM, nhựa Tentagel S RAM, nhựa FMOC-PAL-PEG PS, nhựa amit Rink SpheriTide, nhựa Rink ChemMatrix, nhựa amit Sieber, nhựa Sieber TG v.v. Axit FMOC-amin liên kết với nhựa sau đó có thể được khử bảo vệ bằng cách cho tiếp xúc với piperiđin 20% trong cả N,N-đimetylformamit (DMF) hoặc 1-metyl-2-pyroliđon (NMP), việc xử lý này giúp loại bỏ có chọn lọc nhóm bảo vệ FMOC. Axit amin được FMOC bảo vệ bổ sung sau đó được ghép và bị khử bảo vệ một cách tuần tự, bằng cách này tạo peptit được bảo vệ liên kết với nhựa như mong muốn. Trong một số trường hợp, có thể cần sử dụng nhóm bảo vệ phản ứng trực giao cho amin khác trong trình tự peptit mà có thể sẽ chịu được các điều kiện khử bảo vệ FMOC. Các nhóm bảo vệ như 4-metyltrityl (Mtt) hoặc 4-metoxytrityl (Mmt), đều có thể bị loại bỏ bằng cách xử lý bằng 1% axit trifloaxetic (TFA)/điclometan (DCM), hoặc tốt hơn là alyloxycarbonyl (alloc; có thể bị loại bỏ bằng xử lý với $Pd(PPh_3)_4$ (tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0))/$PhSiH_3$) (phenylsilan), 1-(4,4-đimetyl-2,6-đioxoxyclohex-1-yliđen)etyl (Dde; có thể bị loại bỏ bằng xử lý với 2-3% hyđrazin/DMF) và

1-(4,4-đimetyl-2,6-đioxoxyclohex-1-yliđen)-3-metylbutyl (ivDde; có thể bị loại bỏ bằng xử lý với 2-3% hyđrazin/DMF) có thể được sử dụng hiệu quả trong các trường hợp này.

Trong các phương pháp tổng hợp peptit thông thường, các mạch bên phản ứng của các axit alpha amin được bảo vệ tổng thể trong toàn bộ quá trình tổng hợp bằng nhóm bảo vệ phù hợp để khiến chúng trơ đối với các quy trình ghép cặp và hủy bảo vệ. Mặc dù có nhiều nhóm bảo vệ đối với các mạch bên axit amin đã được biết trong ngành, sau đây là các nhóm bảo vệ được ưu tiên nhất: tert-butyl (t-Bu) cho serin, threonin, axit glutamic, axit aspartic và tyrosin; trityl (Trt) cho asparagin, glutamin, xystein, homoxystein và histiđin; tert-butyloxycarbonyl (Boc) cho tryptophan và nhóm ε-amino của lysin; và 2,2,4,6,7-pentametyldihyđrobenzofuran-5-sulfonyl (Pbf) cho arginin. Các nhóm bảo vệ này được loại bỏ sau khi được xử lý bằng axit mạnh, như với axit trifloaxetic (TFA) nồng độ cao.

Sau khi hoàn thành SPPS, peptit được bảo vệ bằng mạch bên, liên kết với nhựa được khử bảo vệ và đồng thời bị tách khỏi nhựa bằng hỗn hợp phân tách bao gồm chủ yếu (TFA) cùng với các tổ hợp khác nhau của các chất chống muội carbocation, như triisopropylsilan (TIPS), nước, phenol và anisol. Peptit rắn thô sau đó được phân lập bằng cách kết tủa dung dịch lọc peptit/hỗn hợp với ete lạnh. Trong trường hợp đặc biệt về các peptit được bảo vệ liên kết nhựa Sieber, việc phân tách peptit được bảo vệ ra khỏi nhựa có thể được ảnh hưởng một cách có lợi sau khi được xử lý bằng 1-2% TFA trong DCM mà không khử mạch bên. Khi đã được phân lập, có thể thực hiện xử lý thêm đối với peptit được bảo vệ trong các phản ứng pha dung dịch. Cuối cùng, peptit được bảo vệ có thể được khử bảo vệ toàn cục bằng cách xử lý tách riêng với hỗn hợp phân tách và được kết tủa như được mô tả ở phần trên. Bằng cách này thu được peptit thô, sau đó peptit thô được hòa tan ở nồng độ thấp (khoảng < 4 mg/mL) trong hệ dung môi về cơ bản có chứa nước (aq) bao gồm chất đồng dung môi như axetonitril hoặc etanol. Sau khi tăng độ pH của dung dịch lên > 5, peptit sau đó sẽ phải trải qua phản ứng tạo vòng trong phân tử để tạo chất tương tự NTSC PYY thô tương ứng của sáng chế. Chất tương tự NTSC PYY được tạo thành bằng cách đó có thể được tinh chế bằng các kỹ thuật tinh chế thường dùng trong ngành. Phương pháp tinh chế peptit ưu tiên được sử dụng tại đây là sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) pha ngược. Các peptit được tinh chế sau đó được đặc trưng hóa bằng sắc ký lỏng/khối phổ (LC/MS).

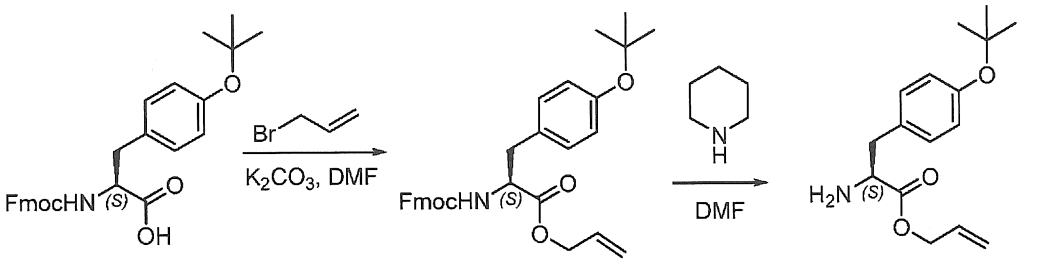
Cần hiểu rằng các ví dụ và phương án sau đây được mô tả trong tài liệu này chỉ nhằm mục đích minh họa, và các phương án cải biến hoặc thay đổi dựa vào các phương án này có tính gợi ý cho những người có trình độ trong ngành. Và các phương án cải biến hoặc thay đổi

này được bao gồm trong ý tưởng, quan điểm của sáng chế và phạm vi của các điểm yêu cầu bảo hộ đi kèm. Tất cả các ấn phẩm, bằng sáng chế, đơn xin cấp bằng sáng chế được nêu trong bản mô tả này đều được kết hợp đầy đủ vào bản mô tả này bằng viện dẫn cho mọi mục đích.

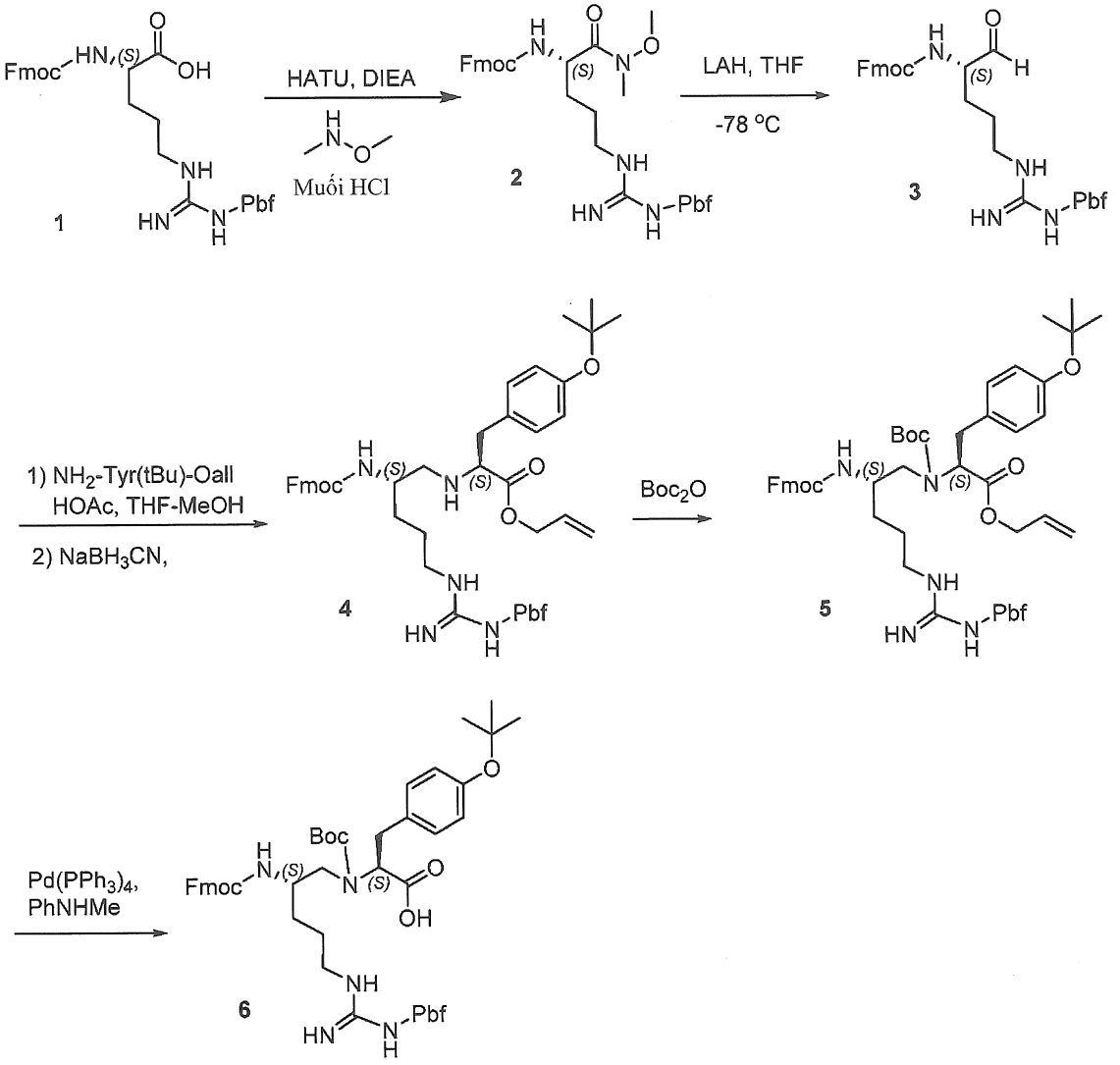
Các sơ đồ thông thường

Quy trình tổng hợp chung được dùng để tổng hợp amit đầu C là các peptit NTSC-PYY được mô tả trong Đơn xin cấp bằng sáng chế tạm thời Hoa Kỳ số 62/413,613, nộp ngày 27 tháng 10 năm 2016, và Đơn xin cấp bằng sáng chế Hoa Kỳ số _____ có tiêu đề "Cyclic peptit tyrosin tyrosin compounds as modulators of neuropeptit receptors," (Hợp chất peptit tyrosin tyrosin vòng làm chất điều hòa của thụ thể neuropeptit"), được nộp cùng ngày với đơn này với số hồ sơ tham chiếu PRD3411. Nội dung của cả hai đơn này sau đây được kết hợp đầy đủ vào tài liệu này bằng viện dẫn.

Ví dụ 1: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ:1



Fmoc-Tyr(tBu)-OH **Fmoc-Tyr(tBu)-OAll** **NH_2-Tyr(tBu)-OAll**



Sơ đồ 14. Tổng hợp Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-(N-Boc)Tyr(tBu)]-OH

1. Tổng hợp Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-(N-Boc)Tyr(tBu)]-OH

A. Tổng hợp H_2N-Tyr(tBu)-OAll

Dung dịch được làm mát bằng nước đá của Fmoc-Tyr(tBu)-O (69 g, 150,15 mmol) và K_2CO_3 (62 g, 445,36 mmol) trong DMF (500 mL) được bổ sung allylbromua (72 g, 595,16 mmol), và hỗn hợp thu được được khuấy trong 3 giờ. Nước đá/nước (1 L) sau đó được bổ sung vào, rồi hỗn hợp được tách chiết bằng EtOAc. Hỗn hợp các phần chiết hữu cơ được làm khô (Na_2SO_4) và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm để tạo Fmoc-Tyr(tBu)-OAll dưới dạng dầu màu vàng. Dung dịch được làm mát bằng nước đá của Fmoc- Tyr(tBu)-OAll (70 g, 140,1 mmol) trong DMF (600 mL) được bổ sung piperiđin (150 mL) theo dạng giọt trong thời gian 20 phút. Sau 3 giờ, dung dịch phản ứng được đổ vào nước/nước đá (1 L) rồi được tách chiết bằng EtOAc (2 x 2L). Hỗn hợp hữu cơ tách chiết được làm khô (Na_2SO_4) và cô đặc

trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được từ đó được tinh chế bằng sắc ký silica gel, rửa giải với EtOAc/ete dầu mỏ (10:1) để tạo 34g H_2N-Tyr(tBu)-OAll dưới dạng dầu màu vàng.

B. Tổng hợp Fmoc-Arg(Pbf)-N(Me)OMe (**2**)

Hỗn hợp được làm mát bằng nước đá của Fmoc-Arg(Pbf)-OH (**1**) (64,8 g, 99,88 mmol), *N,O*-đimetylhyđroxylamin hyđroclorua (20 g, 206,2 mmol) và HATU (57 g, 149,91 mmol) trong DCM (500 mL) được bổ sung DIEA (52 g, 402,2 mmol) theo dạng giọt trong thời gian 10 phút, sau đó hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. Phản ứng sau đó được đổ vào nước/nước đá (1L) và được tách chiết bằng DCM (1L). Các phần chiết hữu cơ được làm khô (Na_2SO_4) và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm để tạo 70g Fmoc-Arg(Pbf)-N(Me)OMe (**2**) thô dưới dạng chất rắn màu vàng, chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

C. Tổng hợp Fmoc-Arg(Pbf)-CHO (**3**)

Dung dịch được làm mát (- 78 °C) của LAH trong THF (1M, 107 mL, 0,107 mmol) trong môi trường khí nitơ trơ được bổ sung, qua ống thông, dung dịch được làm mát (- 50 °C) của Fmoc-Arg(Pbf)-N(Me)OMe (**2**) (50 g, 72,3 mmol) trong THF (100 mL) theo dạng giọt trong thời gian 1 giờ. Sau khi khuấy ở – 78°C trong 5 giờ, hỗn hợp được đổ vào dung dịch 1N HCl (300 mL), rồi 1N HCl bổ sung được thêm vào khi cần để điều chỉnh độ pH lên 4, sau đó được tách chiết bằng EtOAc (2 x 2L). Hỗn hợp các phần chiết hữu cơ được làm khô (Na_2SO_4) và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm để tạo 45 g Fmoc-Arg(Pbf)-CHO (**3**) thô dưới dạng chất rắn màu vàng, chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

D. Tổng hợp Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-Tyr(tBu)]-OAll (**4**)

Dung dịch được làm mát bằng nước đá của Fmoc-Arg(Pbf)-CHO (**3**) từ bước C (45 g, 71,12 mmol), H_2N-Tyr(tBu)-OAll từ bước A (32 g, 115,37 mmol) trong THF (200 mL), MeOH (200 mL) và HOAc (15 mL) được bổ sung natri xyanobohiđrua (18,0 g, 286,4 mmol) theo từng phần trong thời gian 30 phút, và dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. Phản ứng được dập tắt bằng việc thêm dung dịch $NaHCO_3$ chứa nước bão hòa (500 mL) và hỗn hợp được tách chiết bằng EtOAc (2 x 2L). Hỗn hợp hữu cơ tách chiết được làm khô (Na_2SO_4) và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm. Cặn được tinh chế bằng sắc ký silica gel, rửa giải với EtOAc/ete dầu mỏ (10:1) để tạo 40 g Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-Tyr(tBu)]-OAll (**4**) dưới dạng chất rắn màu vàng.

E. Tổng hợp Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OAll (**5**)

Dung dịch Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-Tyr(tBu)-OAll] (**4**) (53 g, 59,28 mmol) trong MeCN (240 mL) được bổ sung đi-*tert*-butyl đicacbonat (20 g, 91,3 mmol), sau đó, dung dịch thu

được được khuấy ở 50°C qua đêm. Tiếp theo, hỗn hợp được cô đặc trong điều kiện áp suất giảm và cặn được tinh chế bằng sắc ký silica gel, rửa giải với EtOAc/ete dầu mỏ (1:1) để tạo 32 g Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OAll (**5**) dưới dạng chất rắn màu vàng.

F. Tổng hợp Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OH (**6**)

Dung dịch được làm mát (- 30 °C) của Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OAll (**5**) (32 g, 32 mmol) trong DCM (600 mL) trong môi trường khí nitơ trơ được bổ sung $Pd(PPh_3)_4$ (3,0 g, 4,33 mmol), sau đó, được bổ sung N-metylanilin (10 g, 93 mmol) theo dạng giọt trong thời gian 30 phút. Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ rồi được cô đặc trong điều kiện áp suất giảm. Cặn được tinh chế bằng sắc ký silica gel, rửa giải với EtOAc/ete dầu mỏ (1:1) để tạo 26,8 g Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OH (**6**) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt. ^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,75-7,77 (2H, m), 7,59-7,60 (2H, m), 7,32-7,33 (4H, m), 7,09-7,11 (2H, m), 6,87-7,00 (2H, m), 4,27-4,50 (3H, m),3,30-3,50 (4H, m), 3,02-3,23 (3H, m), 2,75- 2,98 (3H, m), 2,57 (3H, s), 2,48 (3H, s), 2,00 (3H,s), 1,31-1,41 (28H, m). LC/MS (ES, *m/z*): khối lượng được tính cho $C_{52}H_{67}N_5O_{10}S$: 953,46, tìm được: 954,55 $[M+H]^+$.

2. Cho đipeptit Fmoc-*psi*-(R35-N(Boc)-Y36) vào nhựa Sieber

Trong bình phản ứng thủy tinh xốp dùng cho vi sóng (do CEM Corporation cung cấp), nhựa Sieber NovaSyn TG (do Novabiochem cung cấp) (0,2 mmol) được xử lý bằng 20% piperiđin trong DMF (10 mL) và được gia nhiệt ở 50°C trong 2,5 phút trong lò phản ứng vi sóng CEM. Phản ứng được hút cạn nước và nhựa được rửa bằng DMF và được xử lý lại bằng 20% piperiđin trong DMF ở 50°C trong 5 phút trong lò phản ứng vi sóng CEM. Sau khi hút cạn nước và rửa nhựa bằng DMF, việc xử lý bằng dung dịch khử bảo vệ được lặp lại một lần nữa. Sau đó, nhựa được xử lý bằng dung dịch Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-(N-Boc)Tyr(tBu)]-OH thu được ở trên (3-5 đương lượng), HATU (2,75 – 4,8 đương lượng) và DIEA (6 – 10 đương lượng) trong DMF (4 mL) và được trộn ở nhiệt độ phòng trong 6-24 giờ. Hỗn hợp được hút cạn nước và nhựa được rửa toàn bộ bằng DMF rồi được hoàn thiện bằng cách xử lý với 20% Ac_2O trong DMF (5 mL) trong điều kiện vi sóng ở 50°C trong 5 phút. Phản ứng được hút cạn nước và nhựa được rửa toàn bộ bằng DMF và DCM.

3. Tổng hợp nhựa Fmoc-βA-IKPEAPGEK(Alloc)ASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Việc kéo dài axit amin trên nhựa (*psi*-R35, Y36)-Sieber được cho vào trước (0,2 mmol) được thực hiện trên thiết bị tổng hợp peptit CEM Liberty Blue Microwave.

Axit amin được bảo vệ bởi α-Fmoc tiêu chuẩn được ghép cặp đôi nhiều hơn 3,8 lần so với nhựa ban đầu được cho vào ở 50°C trong 15 phút, sử dụng HBTU/DIEA làm các chất ghép cặp. Fmoc-Arg(Pbf)-OH được ghép cặp đôi theo quy trình gồm hai giai đoạn: 25 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó là 15 phút ở 50 °C, và Fmoc-His(Trt)-OH được ghép cặp đôi theo quy trình gồm hai giai đoạn: 4 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó 8 phút ở 50 °C.

4. Tổng hợp nhựa Fmoc-βA-IKPEAPGEK(NH_2)ASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber: Khử bảo vệ alloc

Nhựa thu được ở trên được xử lý bằng dung dịch phenylsilan (25 đương lượng) trong DCM được khử oxy (10 mL). Sau khi khuấy trong khoảng 2 phút, dung dịch $Pd(PPh_3)_4$ (0,5 đương lượng) trong DCM (10 mL) được thêm vào và hỗn hợp nhựa được khuấy trong 30 phút trong môi trường khí argon. Phản ứng được hút cạn nước và nhựa được rửa bằng DCM được khử oxy. Công đoạn khử bảo vệ được lặp lại bằng các thuốc thử mới, sau đó, phản ứng được hút cạn nước và nhựa được rửa toàn bộ bằng DCM và DMF.

5. Tổng hợp nhựa Fmoc-βA-IKPEAPGEK(NH-dPEG$_{12}$-NHFmoc)ASPEELNRYY ASLRHYLNL(hC)TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber: ghép cặp axit N-Fmoc dPEG$_{12}$ cacboxylic trên 11K

Nhựa peptit-Sieber đã được khử bảo vệ alloc ở trên được xử lý bằng dung dịch của axit N-Fmoc-dPEG12 cacboxylic (5 đương lượng), HBTU (4,8 đương lượng) và DIEA (10 đương lượng) trong DMF (7 mL) trong lò phản ứng vi sóng CEM ở 50°C trong 15 phút, vào thời điểm này, phản ứng cho thấy kết quả âm tính trong xét nghiệm Kaiser. Phản ứng được hút cạn nước và nhựa được rửa toàn bộ bằng DMF và DCM.

6. Tổng hợp nhựa $BrCH_2COHN$-βA-IKPEAPGEK(NH-dPEG$_{12}$-$NHCOCH_2Br$)ASPEEL NRYYASLRHYLNL(hC)TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber: axetyl hóa bis brom ở βA và dPEG$_{12}$

Nhựa trên được khử bảo vệ Fmoc bằng 20% piperiđin mới trong DMF ở 50°C trong 5 phút trong lò phản ứng vi sóng CEM. Công đoạn khử bảo vệ này được lặp lại hai lần. Nhựa peptit đã khử bảo vệ Fmoc thu được từ đó được xử lý bằng dung dịch anhyđrit bromoaxetic (20 đương lượng) trong DMF (5 mL) trong lò phản ứng vi sóng CEM ở 50°C trong 10 phút, vào thời điểm này, phản ứng cho thấy kết quả âm tính trong xét nghiệm Kaiser. Phản ứng được hút cạn nước và nhựa được rửa toàn bộ bằng DMF và DCM rồi sau đó được làm khô.

7. Tổng hợp $BrCH_2COHN$-βA-IKPEAPGEK(NH-dPEG$_{12}$-$NHCOCH_2Br$)ASPEEL NRYYASLRHYLNL(hC)TRQ(*psi*-R35Y36)-$CONH_2$: phân tách từ nhựa và khử bảo vệ toàn bộ

Nhựa đã làm khô được xử lý bằng dung dịch TFA 1,5% trong DCM (10 mL) và được trộn trong 5-10 phút, sau đó được lọc. Lặp lại công đoạn xử lý này thêm 9 lần nữa, và cứ mỗi lần xử lý lại dùng một hỗn hợp mới. Hỗn hợp dung dịch lọc sau đó được kết hợp và cô đặc để tạo peptit thô được bảo vệ dưới dạng bọt màu vàng. Bọt này được xử lý bằng 20 mL hỗn hợp phân tách (TFA/phenol/H_2O/TIPS = 88/5/5/2) ở nhiệt độ phòng trong 2,5 giờ, sau đó, được cô đặc trong dòng nitơ đến khi có thể tích khoảng 2,5 mL, rồi thêm ete lạnh (40 mL) vào để kết tủa peptit. Hỗn hợp được ly tâm (5 phút; 5000 vòng/phút) và được lắng gạn. Quy trình này được lặp lại thêm 2 lần nữa để tạo peptit thô dưới dạng bột màu trắng nhạt.

Hoặc là, nhựa được xử lý bằng hỗn hợp phân tách mà không xử lý trước bằng TFA 1-2% trong DCM để tạo peptit được khử bảo vệ hoàn toàn.

8. Chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 1: quy trình tạo vòng A và sự tinh chế

Peptit thô ở trên được hòa tan trong 50% MeCN/nước đã khử oxy (5-10 mg/mL), sau đó tùy chọn thêm vào EDTA (1 mM). Tiếp theo, độ pH của dung dịch phản ứng được tăng lên khoảng 8 bằng cách thêm dung dịch $NaHCO_3$ 7,5% khối lượng/thể tích. Dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 0,5-2,5 giờ rồi được axit hóa đến khi đạt pH < 1 bằng cách thêm TFA. Sau đó, dung dịch được cô đặc trong môi trường áp suất giảm ở nhiệt độ phòng đến khi đạt khoảng một nửa thể tích ban đầu (khoảng 24 mL). Dung dịch thu được được tinh chế bằng HPLC điều chế pha đảo. Thực hiện tinh chế trên Hệ thống tinh chế Gilson HPLC 2020 Personal Purification System dùng cột Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm). Pha động gồm việc rửa giải gradien Chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và Chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) từ nồng độ ban đầu B 20% đến nồng độ cuối B 50% trong 36 phút. Theo dõi phát hiện tia UV ở 220 và 254 nm. Các phần cất chứa sản phẩm được phân tích bằng HPLC phân tích trên hệ thống Agilent 1100 HPLC sử dụng cùng kiểu cột như trên (4,6 x 250 mm, 5 µm). Các phần cất tinh khiết được kết hợp, rồi sau đó được đông khô để tạo sản phẩm dưới dạng chất rắn giống như hạt bông. LCMS: 1225,5 (M+4H)/4, 1633,4 (M+3H)/3 và 2450,0 (M+2H)/2 để đạt được peak sản phẩm ở 12,27 phút (LC: cột Atlantis T3 C18, 5 um, 4,6 x 250 mm, 1,0 mL/phút, gradien 15-60%)

Ví dụ 2: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ:2

1. Tổng hợp nhựa H_2N-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-PEG

Nhựa peptiđyl đã được bảo vệ được tổng hợp bằng phương pháp Fmoc như mô tả ở trên trên thiết bị tổng hợp peptit CEM Liberty Blue Microwave dùng nhựa Rink amit được

nạp ở mức thấp, tốt hơn là, dùng nhựa Fmoc-PAL-PEG PS (khoảng 0,16 – 0,2 meq/g, do Applied Biosystems cung cấp) với tỷ lệ 0,1 mmol như được biểu thị trong Sơ đồ 1. Axit amin được bảo vệ bởi Fmoc tiêu chuẩn được ghép cặp nhiều hơn 5 lần so với nhựa được nạp bằng cách sử dụng DIC/Oxyma làm các chất ghép cặp và nhiệt độ phản ứng khoảng 90°C trong 4 phút. Fmoc-Arg(Pbf)-OH được ghép cặp đôi ở 90°C trong 4 phút mỗi lần còn Fmoc-His(Trt)-OH được ghép cặp theo quy trình gồm hai giai đoạn: 4 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó 8 phút ở 50 °C. Tiến hành khử bảo vệ Fmoc đơn nhất sử dụng 20% piperiđin trong DMF (dung dịch khử bảo vệ) ở 90°C trong 1,5 phút.

2. Tổng hợp nhựa *m*-$BrCH_2PhCOHN$-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-PEG

Nhựa peptit đã khử bảo vệ Fmoc (0,1 mmol) ở trên được xử lý bằng dung dịch axit *m*-bromometylbenzoic (20 đương lượng) và DIC (10 đương lượng) trong DMF (4 mL) trong lò phản ứng vi sóng ở 75°C trong 15 phút, vào thời điểm này, phản ứng thường được xác định là đã hoàn thành theo xét nghiệm ninhyđrin Kaiser (Kaiser, và cộng sự Anal. Biochem. (Sinh hóa phân tích), 1970, 34, 595-598). Trong những trường hợp việc ghép cặp được xác định là chưa hoàn thành, việc ghép cặp được lặp lại với các thuốc thử mới. Phản ứng được hút cạn nước và nhựa được rửa toàn bộ bằng DMF và DCM.

3. Tổng hợp *m*-$BrCH_2PhCOHN$-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-$CONH_2$: khử bảo vệ và phân tách từ nhựa

Nhựa ở trên sau đó được xử lý bằng hỗn hợp phân tách (tỷ lệ: 10 mL/0,1 mmol) bao gồm TFA/nước/phenol/TIPS (88:5:5:2) và được gia nhiệt trong lò phản ứng vi sóng ở 38°C trong 40 phút, rồi được lọc. Nhựa được rửa bằng TFA và hỗn hợp dung dịch lọc được cô đặc trong dòng nitơ đến khi có thể tích khoảng 2,5 mL và peptit được kết tủa bằng cách thêm ete đietyl lạnh (40 mL). Huyền phù peptit/ete được ly tâm rồi lớp ete được lắng gạn. Viên peptit được tái huyền phù trong ete, được ly tâm và lắng gạn, quy trình này được lặp lại lần thứ ba. Peptit thô thu được từ đó được làm khô trong dòng nitơ vừa phải.

4. Chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 2: quy trình tạo vòng A và sự tinh chế

Peptit thô ở trên được hòa tan trong MeCN/nước đã khử oxy (60% MeCN) ở nồng độ $\leq$ 4 mg/mL. Độ pH của dung dịch peptit sau đó được tăng lên khoảng 7 – 9 bằng cách thêm NH_4OAc chứa nước (200 mM, pH 8,4), dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt độ phòng cho đến khi hoàn thành quy trình tạo vòng theo LCMS (thường là 3-4 giờ). Hỗn hợp phản ứng tạo vòng được axit hóa đến khi đạt độ pH 1,5 – 3 bằng cách thêm TFA, sau đó dung

dịch được cô đặc để loại bỏ hầu hết đồng dung môi hữu cơ cho đến khi xuất hiện vẩn đục nhẹ. Lượng MeCN tối thiểu được thêm vào một lần nữa khi cần để làm cho hỗn hợp đồng nhất, sau đó, dung dịch thu được được tinh chế trực tiếp bằng HPLC điều chế bằng cách bơm nhiều lần sử dụng cột C18 Varian Pursuit XRs C18 (21x250 mm, 100 Å, 5 µm). Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) từ nồng độ ban đầu B 20% đến nồng độ cuối B 40% trong 45 phút. Theo dõi phát hiện tia UV ở 220 và 254 nm. Các phần cất chứa sản phẩm được phân tích bằng HPLC phân tích trên hệ thống Agilent 1100 HPLC sử dụng cột phù hợp. Các phần cất tinh khiết được kết hợp, cô đặc để loại bỏ hầu hết pha hữu cơ, rồi được đông khô.

Ví dụ 3: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 3

1. Tổng hợp nhựa (H_2N)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNL-(azido-norLeu)-TRQRYPAL-PEG

Peptit liên kết với nhựa được điều chế ở quy mô 0,1 mmol theo phương pháp được mô tả trong Ví dụ 2, bước 1, sử dụng Fmoc-azidonorLeu-OH thay cho Fmoc-hCys(trt)-OH tại vị trí 31.

2. Tổng hợp nhựa (HCCH(CH_2)$_2$CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNL-(azido-norLeu)-TRQRYPAL-PEG

Axit 4-pentynoic được ghép cặp vào nhựa nói trên trong điều kiện vi sóng theo quy trình DIC/HOBT (75 °C, 10 phút). Phản ứng được hút cạn nước và nhựa được rửa toàn bộ bằng DMF và DCM.

3. Tổng hợp (HCCH(CH_2)$_2$CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNL-(azido-norLeu)-TRQRYPAL-$CONH_2$

Nhựa trên được xử lý bằng hỗn hợp phân tách 10 mL chứa TFA/DODT/H_2O/TIS (92,5:2,5:2,5:2,5) trong điều kiện vi sóng (38 °C, 40 phút). Phản ứng được hút cạn nước và nhựa được rửa bằng TFA (10 mL). Hỗn hợp dung dịch lọc sau đó được cô đặc trong dòng nitơ đến khi đạt được thể tích khoảng 2,5 mL. Tiếp theo, thêm ete lạnh (40 mL) vào để kết tủa peptit rồi hỗn hợp được ly tâm (5 phút; 5000 vòng/phút) và được lắng gạn. Quy trình này được lặp lại thêm 2 lần nữa để tạo peptit thô dưới dạng bột màu trắng nhạt.

4. Chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 3

Pha chế 7 mg $CuSO_4$ trong 2 mL H_2O đã khử oxy. Pha chế 30 mg TBTA trong 5,4 mL EtOH và 0,6 mL MeCN. Trộn trước 0,94 mL dung dịch $CuSO_4$ và 4,8 mL dung dịch TBTA. Pha chế 30 mg Na Ascorbat trong 3 mL H_2O đã khử oxy.

Dung dịch peptit thô chứa azido từ bước 3 (100 mg) trong 20 mL nước đã khử oxy được bổ sung dung dịch $CuSO_4$/TBTA đã trộn trước, sau đó được bổ sung thêm 2,4 mL dung dịch Natri Ascorbat (dung dịch ngay lập tức chuyển sang màu trắng sữa). Hỗn hợp được làm ấm đến 40°C và khuấy trong 1,5 giờ, lúc này, phân tích LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành. Hỗn hợp được pha loãng bằng nước đến thể tích khoảng 40 mL (TFA 0,1%); hỗn hợp được ly tâm, và lớp bề mặt được tinh chế bằng HPLC điều chế pha đảo. Thực hiện tinh chế dùng cột Varian Pursuit XRs C18 (21 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở 35 °C. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) từ nồng độ ban đầu B 10% đến nồng độ trung gian B 18% (21 mpm) sau đó đến nồng độ cuối B 33% (10,5 mpm) trong 35 phút. Theo dõi phát hiện tia UV ở 220 và 254 nm. Các phần cất chứa sản phẩm được phân tích bằng HPLC phân tích trên hệ thống Agilent 1100 HPLC sử dụng cùng kiểu cột như trên (4,6 x 250 mm, 5 µm). Các phần cất tinh khiết được kết hợp, rồi sau đó được đông khô để tạo sản phẩm dưới dạng chất rắn giống như hạt bông.

Ví dụ 4: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 4

1. Tổng hợp nhựa (Dde)K(NH_2)ASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-PEG

Peptit liên kết với nhựa được điều chế theo phương pháp được mô tả trong Ví dụ 2, bước 1.

2. Tổng hợp nhựa (Dde)K(NH-Glu-(OtBu)NH_2)ASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-PEG

Fmoc-Glu-OtBu (5 đương lượng) được ghép cặp vào nhựa trên trong điều kiện vi sóng bằng phương pháp ghép cặp DIC/Oxyma (90 °C, 6 phút; dòng điện một chiều). Nhựa được hút cạn nước và rửa bằng DMF. Sau đó, tiến hành khử bảo vệ Fmoc bằng 20% piperiđin trong DMF theo quy trình gồm 3 giai đoạn (75°C trong 0,5 phút; 75°C trong 3 phút; 75°C trong 3 phút), trong mỗi giai đoạn đều rửa nhựa bằng DMF.

3. Tổng hợp nhựa (Dde)K(NH-Glu-(OtBu)NH-Pal)ASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-PEG

Axit palmitic (5 đương lượng) được ghép cặp vào nhựa trên trong điều kiện vi sóng bằng phương pháp ghép cặp DIC/Oxyma (90 °C, 5 phút). Nhựa được hút cạn nước và rửa toàn bộ bằng DMF và DCM.

4. Tổng hợp nhựa (H_2N)K(NH-Glu-(OtBu)NH-Pal)ASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-PEG

Sau khi rửa nhựa trên bằng DMF, nó được xử lý bằng dung dịch 2% hyđrazin trong DMF (6 mL/0,1 mmol nhựa) ở nhiệt độ phòng trong 5 phút, sau đó, được hút cạn nước và rửa bằng DMF. Bước này được lặp lại thêm 5 lần.

5. Tổng hợp nhựa (H_2N)IKPEAPGEK(NH-Glu-(OtBu)NH-Pal)ASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-PEG

Tiến hành ghép cặp các axit amin còn lại bằng phương pháp được mô tả trong Ví dụ 2, bước 1.

6. Chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 4

Tiến hành phần còn lại của quy trình tổng hợp bằng các phương pháp được mô tả trong Ví dụ 2, các bước 2-4. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Varian Pursuit XRS C18 (21 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) từ nồng độ ban đầu B 23% đến nồng độ trung gian B 33% (21 mpm) trong 5 phút sau đó đến nồng độ cuối B 48% (10,5 mpm) trong 55 phút.

Ví dụ 5: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 5

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 4, sử dụng axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) thay cho axit palmitic trong bước 3. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Agilent 300SB C8 (21 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) từ nồng độ ban đầu B 35% đến nồng độ trung gian B 45% (21 mpm) trong 5 phút sau đó đến nồng độ cuối B 60% (10,5 mpm) trong 60 phút.

Ví dụ 6: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 6

1. Tổng hợp nhựa (HCCH(CH_2)$_2$CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK(Dde)-(azido-norLeu)-TRQRY-PAL-PEG

Peptit liên kết với nhựa được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 3, bước 1, sử dụng Fmoc-Lys(Dde)-OH thay cho Fmoc-Leu-OH tại vị trí 30 và đưa axit 4-pentynoic (đã ghép cặp đôi) vào bước này tại vị trí 2, sau khi đưa Fmoc-Ile-OH vào bước này tại vị trí 3.

2. Tổng hợp nhựa (HCCH(CH_2)$_2$CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK(NH_2)-(azido-norLeu)- TRQRY-PAL-PEG

Nhựa trên được xử lý bằng 3% hyđrazin trong DMF (tỷ lệ: 8 mL/0,1 mmol) trong 5 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó, hỗn hợp được hút cạn nước và rửa bằng DMF. Quy trình này được lặp lại khoảng 5 lần, sau đó, nhựa được rửa toàn bộ bằng DMF rồi đến DCM.

3. Tổng hợp nhựa (HCCH(CH_2)$_2$CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK(NH-γ-Glu-AcVitE)-(azido-norLeu)- TRQRY-PAL-PEG

Fmoc-Glu-OtBu được ghép cặp vào nhựa trên theo quy trình ghép cặp được mô tả trong Ví dụ 2, bước 1 với thời gian ghép cặp là 5 phút. Nhựa được khử bảo vệ bằng việc xử lý với 20% piperiđin trong DMF theo quy trình vi sóng gồm 3 giai đoạn (75 °C, 0,5 phút; 75 °C, 3 phút; 75 °C, 3 phút), sau đó, nhựa được rửa toàn bộ bằng DMF và DCM. Tiếp theo, axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) được ghép cặp vào nhựa theo quy trình giống như quy trình sử dụng cho ghép cặp Fmoc-Glu-OtBu.

4. Tổng hợp (HCCH(CH_2)$_2$CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK(NH-γ-Glu-AcVitE)-(azido-norLeu)- TRQRY-$CONH_2$

Tiến hành phân tách và kết tủa peptit từ nhựa trên theo quy trình mô tả trong Ví dụ 3, bước 3.

5. Chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 6

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 3, bước 4. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Varian Pursuit XRS C8 (21 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở 35 °C. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) từ nồng độ ban đầu B 35% đến nồng độ trung gian B 48% (21 mpm) trong 5 phút sau đó đến nồng độ cuối B 63% (10,5 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 7: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 7

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 4 với cặn K(NH-γ-Glu-Pal) được đặt vào vị trí 9 thay vì vị trí 11. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Agilent 300SB C8 (21 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) từ nồng độ ban đầu B 23% đến nồng độ trung gian B 43% (21 mpm) sau đó đến nồng độ cuối B 43% (10,5 mpm) trong 40 phút. Các phần cất chứa sản phẩm có tạp chất được tinh chế lại trên cột Waters T3 C18 (250 x 19 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng sử dụng građien từ nồng độ ban đầu B 25% đến nồng độ trung gian B 35% (21 mpm) sau đó đến nồng độ cuối B 45% (10,5 mpm) trong 80 phút.

Ví dụ 8: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 8

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 4 với cặn K(NH-γ-Glu-Pal) được đặt vào vị trí 30 thay vì vị trí 11. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Agilent 300SB C8 (21 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở 35 °C. Pha động gồm việc rửa

giải gradien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) từ nồng độ ban đầu B 21% đến nồng độ trung gian B 31% (21 mpm) sau đó đến nồng độ cuối B 41% (10,5 mpm) trong 40 phút. Các phần cất chứa sản phẩm có tạp chất được tinh chế lại trên cột Waters T3 C18 (250 x 19 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng sử dụng gradien từ nồng độ ban đầu B 21% đến nồng độ trung gian B 31% (21 mpm) sau đó đến nồng độ cuối B 40% (10,5 mpm) trong 80 phút.

Ví dụ 9: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ:9

1. Tổng hợp nhựa H_2N-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Việc kéo dài axit amin trên nhựa -Sieber (*psi*-R35, Y36) được cho vào trước từ Ví dụ 1, bước 2 (0,1 mmol) được thực hiện như mô tả trong Ví dụ 1, bước 3 nhưng có biến đổi ở việc sử dụng số axit amin được bảo vệ tăng gấp 5 lần.

2. Tổng hợp nhựa *m*-$BrCH_2PhCOHN$-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Axit *m*-bromometylbenzoic được ghép cặp vào nhựa trên theo quy trình mô tả trong Ví dụ 1, bước, nhưng có biến đổi ở việc tiến hành ghép cặp ở 50°C thay vì 75 °C.

3. Chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 9

Hợp chất tiêu đề được điều chế từ nhựa trên theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 1, các bước 7 và 8. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Varian Pursuit XRs C18 (21 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở 35 °C. Pha động gồm việc rửa giải gradien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) từ nồng độ ban đầu B 10% đến nồng độ trung gian B 18% (21 mpm) trong 10 phút sau đó đến nồng độ cuối B 33% (10,5 mpm) trong 35 phút.

Ví dụ 10: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ:10

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 4, sử dụng Dde-Lys(Fmoc)-OH thay cho Fmoc-Leu-OH tại vị trí 30 và axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) thay cho axit palmitic trong bước 3. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Agilent 300SB C8 (21 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải gradien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) từ nồng độ ban đầu B 30% đến nồng độ trung gian B 40% (21 mpm) trong 10 phút, sau đó đến nồng độ cuối B 55% (21 mpm) trong 35 phút. Các phần cất chứa sản phẩm có tạp chất được

tinh chế lại sử dụng gradien được biến đổi từ nồng độ ban đầu B 35% đến nồng độ trung gian B 43% (21 mpm) trong 5 phút, sau đó đến nồng độ cuối B 58% (10,5 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 11: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 11

1. Tổng hợp nhựa (Alloc)K(NH_2)-(hC)-TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Nhựa trên được điều chế theo quy trình như được mô tả trong Ví dụ 9, bước 1, sử dụng Alloc-Lys(Fmoc)-OH thay cho Fmoc-Leu-OH tại vị trí 30.

2. Tổng hợp nhựa (Alloc)K(NH-γ-Glu-AcVitE)-(hC)-TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Fmoc-Glu-OtBu và axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) (mỗi chất 5 đương lượng) được ghép cặp một cách tuần tự vào nhựa trên sử dụng phương pháp ghép cặp qua trung gian HBTU/DIEA trong điều kiện vi sóng ở 50°C trong 15 - 20 phút.

3. Tổng hợp nhựa H_2N-K(NH-γ-Glu-AcVitE)-(hC)-TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Nhóm bảo vệ alloc được loại bỏ theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 1, bước 4.

4. Chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 11

Hợp chất tiêu đề được điều chế từ nhựa trên theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 9, các bước 1-3, nhưng có biến đổi ở việc sử dụng chất đệm TRIS 1M/HCl, độ pH 7,5 thay cho chất đệm NH_4OAc để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Varian Pursuit XRs C18 (21 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở 35 °C. Pha động gồm việc rửa giải gradien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) từ nồng độ ban đầu B 10% đến nồng độ trung gian B 18% (21 mpm) trong 10 phút sau đó đến nồng độ cuối B 33% (10,5 mpm) trong 35 phút.

Ví dụ 12: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 12

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 2, sử dụng Fmoc-N-Me-Arg(pbf)-OH thay cho Fmoc-Arg(pbf)-OH ở vị trí 35 trong bước 1, nhưng có biến đổi ở việc sử dụng chất đệm $NaHCO_3$1M thay cho chất đệm NH_4OAc để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải gradien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) với B nằm trong khoảng từ 10 - 60% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 13: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 13

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit palmitic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) trong bước 2, nhưng có biến đổi ở việc sử dụng 60% EtOH/H_2O làm dung môi thay cho MeCN/H_2O chứa nước bão hòa. $NaHCO_3$ được sử dụng thay cho chất đệm NH_4OAc để tạo vòng. Tiến hành tinh

chế sản phẩm dùng cột Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (10 mM NH_4OH trong nước, pH khoảng 9) và chất đệm B (MeCN) từ nồng độ ban đầu B 15% đến nồng độ trung gian B 20% (100 mpm) trong 5 phút, sau đó đến nồng độ cuối B 35% (100 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 14: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 14

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 4, với cặn Lys(NH-γ-Glu-Pal) được đặt vào vị trí 30 thay vì vị trí 11 và sử dụng Fmoc-N-Me-Arg(pbf)-OH thay cho Fmoc-Arg(pbf)-OH ở vị trí 35 trong bước 1, nhưng có biến đổi ở việc sử dụng chất đệm $NaHCO_3$ 1M thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 6 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) với B nằm trong khoảng từ 20 - 70% (30 mpm) trong 36 phút. Các phần cất có tạp chất được tinh chế lại trên cột điphenyl Varian Pursuit XRs (30 x 100 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng sử dụng građien B 30 - 50% (30 mpm) trong 25 phút.

Ví dụ 15: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 15

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 4 với cặn Lys(NH-γ-Glu-Pal) được đặt vào vị trí 30 thay vì vị trí 11 và sử dụng Fmoc-βAla-OH thay cho việc ghép cặp Fmoc-Ile-OH ở vị trí 3, nhưng có biến đổi ở việc sử dụng chất đệm $NaHCO_3$ 1M thay cho chất đệm NH_4OAc để tạo vòng và sử dụng ghép cặp với anhyđrit bromoaxetic thay cho axit *m*-bromomethylbenzoic trong bước 6 (bước 2 từ Ví dụ 2) theo quy trình sau đây: Nhựa peptit đã khử bảo vệ Fmoc (0,1 mmol) được xử lý bằng dung dịch anhyđrit bromoaxetic (10 đương lượng) trong DMF (5 mL) trong lò phản ứng vi sóng ở 50°C trong 5-10 phút, vào thời điểm này, phản ứng thường được xác định là đã hoàn thành theo xét nghiệm ninhyđrin Kaiser. Trong những trường hợp việc ghép cặp được xác định là chưa hoàn thành, việc ghép cặp được lặp lại với các thuốc thử mới. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) với B nằm trong khoảng từ 20 - 60% (30 mpm) trong 36 phút. Các phần cất có tạp chất được tinh chế lại trên cột điphenyl Varian Pursuit XRs (30 x 100 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng sử dụng građien B 30 - 50% (30 mpm) trong 25 phút.

Ví dụ 16: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 16

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 4 với cặn Lys(NH-γ-Glu-Pal) được đặt vào vị trí 30 thay vì vị trí 11, bỏ ghép cặp Fmoc-Ile-OH ở vị trí 3, và sử dụng axit *p*-bromomethylbenzoic thay cho axit *m*-bromomethylbenzoic acid trong bước 6 (bước 2 từ Ví dụ 2). Ngoài ra, sử dụng chất đệm $NaHCO_3$1M thay cho chất đệm NH_4OAc để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) với B nằm trong khoảng từ 20 - 70% (30 mpm) trong 36 phút. Các phần cất có tạp chất được tinh chế lại trên cột điphenyl Varian Pursuit XRs (30 x 100 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng sử dụng građien B 30 - 50% (30 mpm) trong 25 phút.

Ví dụ 17: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 17

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 4 với cặn Lys(NH-γ-Glu-Pal) được đặt vào vị trí 30 thay vì vị trí 11 và sử dụng Fmoc-Ala-OH thay cho Fmoc-Lys(Boc)-OH ở vị trí 4 trong bước 1. Sử dụng chất đệm TRIS/HCl (1M, pH 7,5) thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 6 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Agilent Polaris C18-A (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) từ nồng độ ban đầu B 20% đến nồng độ trung gian B 35% (40 mpm) trong 5 phút sau đó đến nồng độ cuối B 45% (40 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 18: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 18

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 4 với cặn Lys(NH-γ-Glu-Pal) được đặt vào vị trí 30 thay vì vị trí 11 và sử dụng Fmoc-Glu(OtBu)-OH thay cho Fmoc-Lys(Boc)-OH ở vị trí 4 trong bước 1. Sử dụng chất đệm TRIS/HCl (1M, pH 7,5) thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 6 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Agilent Polaris C18-A (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) từ nồng độ ban đầu B 20% đến nồng độ trung gian B 35% (40 mpm) trong 5 phút sau đó đến nồng độ cuối B 45% (40 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 19: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 19

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 4 the Lys(NH-γ-Glu-Pal) được đặt vào vị trí 30 thay vì vị trí 11, sử dụng Fmoc-N-Me-Arg(pbf)-OH thay cho Fmoc-Arg(pbf)-OH ở vị trí 35 trong bước 1, Fmoc-Cys(trt)-OH thay cho

Fmoc-hCys(trt)-OH, và axít *p*-bromomethylbenzoic thay cho axít *m*-bromomethylbenzoic trong bước 6 (bước 2 trong Ví dụ 2).

Tiến hành biến đổi sau cho bước 6 (bước 3 và 4 trong Ví dụ 2): Tiến hành tinh chế peptit thô thu được trước khi tạo vòng, dùng cột Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải gradien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) với B nằm trong khoảng từ 20 - 70% (30 mpm) trong 36 phút. Các phần cất chứa sản phẩm được kết hợp và xử lý bằng $NaHCO_3$ rắn để tăng độ pH lên khoảng 7-8; dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 4 giờ rồi được axit hóa bằng TFA đến khi đạt pH là 4. Dung dịch được cô đặc đến khi đạt thể tích 5-10 mL rồi thêm MeCN vào để hòa tan bất kỳ kết tủa nào. Việc tinh chế sản phẩm được tiến hành như trên, với gradien B 20 - 60% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 20: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 20

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 4, với cặn Lys(NH-γ-Glu-Pal) được đặt vào vị trí 30 thay vì vị trí 11, sử dụng Fmoc-N-Me-Arg(pbf)-OH thay cho Fmoc-Arg(pbf)-OH ở vị trí 35 trong bước 1 và Fmoc-Cys(trt)-OH thay cho Fmoc-hCys(trt)-OH. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi được mô tả trong Ví dụ 19. Tiến hành tinh chế sản phẩm hoàn thiện sử dụng gradien B 20 - 60% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 21: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 21

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 4 với cặn Lys(NH-γ-Glu-Pal) được đặt vào vị trí 30 thay vì vị trí 11, sử dụng Fmoc-Ala-OH thay cho Fmoc-His(trt)-OH ở vị trí 26 và Fmoc-Ala-OH thay cho Fmoc-Lys(Boc)-OH ở vị trí 4 trong bước 1. Sử dụng chất đệm TRIS/HCl (1M, pH 7,5) thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 6 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Agilent Polaris C18-A (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải gradien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) từ nồng độ ban đầu B 20% đến nồng độ trung gian B 35% (40 mpm) trong 5 phút sau đó đến nồng độ cuối B 45% (40 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 22: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 22

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 4 với cặn Lys(NH-γ-Glu-Pal) được đặt vào vị trí 30 thay vì vị trí 11, sử dụng Fmoc-Ala-OH thay cho Fmoc-His(trt)-OH ở vị trí 26 và sử dụng Fmoc-Glu(OtBu)-OH thay cho Fmoc-

Lys(Boc)-OH ở vị trí 4 trong bước 1. Sử dụng chất đệm TRIS/HCl (1M, pH 7,5) thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 6 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Agilent Polaris C18-A (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) từ nồng độ ban đầu B 20% đến nồng độ trung gian B 33% (40 mpm) trong 5 phút sau đó đến nồng độ cuối B 43% (40 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 23: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 23

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit octađecanđioic, este mono-tert-butyl (hiện có tại AstaTech, Inc.) thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8), quy trình ghép cặp sử dụng HATU/DIEA ở 50°C trong 30 phút và NMP làm dung môi thay cho DMF trong bước 2 và ghép cặp hai đơn vị Fmoc-OEG-OH theo kiểu tandem (nối đuôi nhau) trước khi ghép cặp Fmoc-Glu-OtBu trong bước 2. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi được mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 80%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng građien B 20 - 80% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 24: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 24

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 23, sử dụng axit 20-(tert-butoxy)-20-oxoicosanoic (hiện có tại Key Organics, Inc.) thay cho axit octađecanđioic, este mono-tert-butyl. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi được mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 60%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng građien B 20 - 60% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 25: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 25

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit stearic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8), quy trình ghép cặp sử dụng HATU/DIEA ở 50°C trong 30 phút và NMP làm dung môi thay cho DMF trong bước 2. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi được mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 80%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng građien B 20 - 80% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 26: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 26

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit arachiđic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8), quy trình ghép cặp sử dụng HATU/DIEA ở 50°C trong 30 phút và NMP làm dung môi thay cho DMF trong

bước 2. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi được mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 90%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng građien B 20 - 90% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 27: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 27

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 23 nhưng bỏ bước ghép cặp Fmoc-Glu-OtBu sau khi ghép cặp Fmoc-OEG-OH theo kiểu nối đuôi nhau. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi được mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 60%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng građien B 20 - 60% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 28: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 28

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit palmitic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8), bỏ ghép cặp Fmoc-Ile-OH tại vị trí 3, và sử dụng axit *p*-bromometylbenzoic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 2). Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi được mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 60%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng građien B 20 - 60% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 29: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 29

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit palmitic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8), Fmoc-βAla-OH thay cho Fmoc-Ile-OH tại vị trí 3 và ghép cặp anhyđrit bromoaxetic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 2) sử dụng biến đổi được mô tả trong Ví dụ 15. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi được mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 60%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng građien B 20 - 60% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 30: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 30

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit palmitic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8), Fmoc-Aβu-OH thay cho Fmoc-Ile-OH tại vị trí 3 và ghép cặp anhyđrit bromoaxetic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 2) sử dụng biến đổi được mô tả trong Ví dụ 15. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi được mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 60%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng građien B 20 - 60% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 31: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 31

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 23, sử dụng axit stearic thay cho axit octađecanеđioic, este mono-tert-butyl. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi được mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng gradien B 20 - 60%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng gradien B 20 - 60% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 32: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 32

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit palmitic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) trong bước 2, Fmoc-Ala-OH thay cho Fmoc-His(trt)-OH ở vị trí 26 và Fmoc-Ala-OH thay cho Fmoc-Lys(Boc)-OH ở vị trí 4 trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 1). Sử dụng chất đệm TRIS/HCl (1M, pH 7,5) thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 6 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Agilent Polaris C18-A (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải gradien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) từ nồng độ ban đầu B 20% đến nồng độ trung gian B 35% (40 mpm) trong 5 phút sau đó đến nồng độ cuối B 45% (40 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 33: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 33

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit palmitic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) trong bước 2 và Fmoc-N(Me)-Gln(trt)-OH thay cho Fmoc-Gln(trt)-OH ở vị trí 34 trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 1). Trong trường hợp này, ghép cặp được tiến hành ở nhiệt độ phòng, sử dụng NMP làm dung môi và quy trình HATU/DIEA (1 giờ, ghép cặp đơn); Fmoc-N(Me)-Gln(trt)-OH và Fmoc-Arg(pbf)-OH được ghép cặp đôi. Quy trình khử bảo vệ Fmoc gồm hai giai đoạn được sử dụng trong toàn bộ quy trình (20% piperiđin trong DMF; nhiệt độ phòng; 10 phút, 15 phút). Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng gradien B 20 - 70%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng gradien B 20 - 70% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 34: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 34

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit palmitic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8), Fmoc-Cys(trt)-OH thay cho Fmoc-hCys(trt)-OH tại vị trí 31, axit 6-Fmoc-aminohexanoic thay cho Fmoc-Ile-OH tại vị trí 3, và ghép cặp anhyđrit bromoaxetic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 2), sử dụng điều chỉnh như mô tả trong Ví dụ 15. $NaHCO_3$ (2N) chứa nước được sử dụng thay cho chất đệm NH_4OAc để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động

gồm việc rửa giải građien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) với B nằm trong khoảng từ 20 - 70% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 35: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 35

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 9, nhưng có các biến đổi sau đây: Sử dụng Fmoc-*psi*-[N-Me-Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OH, được điều chế từ Fmoc-N-Me-Arg(pbf)-OH thay cho Fmoc-Arg(Pbf)-OH, theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 1, bước 1, thay cho Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OH (6) để điều chế nhựa Sieber được nạp vào được sử dụng trong bản mô tả này; Sử dụng Fmoc-Lys(Pal-Glu-OtBu)-OH (từ peptit hoạt hóa) thay cho Leu tại vị trí 30; axit *m*-clometylbenzoic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 2; ghép cặp được tiến hành ở nhiệt độ phòng, sử dụng NMP làm dung môi và quy trình HATU/DIEA (1 giờ, ghép cặp đơn); Fmoc-Arg(pbf)-OH được ghép cặp đôi. Quy trình khử bảo vệ Fmoc gồm hai giai đoạn được sử dụng trong toàn bộ quy trình (20% piperiđin trong DMF; nhiệt độ phòng; 10 phút, 15 phút). Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 70%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng građien B 20 - 70% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 36: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 36

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 35, sử dụng Fmoc-βAla-OH thay cho Fmoc-Ile-OH tại vị trí 3 và ghép cặp anhyđrit bromoaxetic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 2), sử dụng biến đổi như mô tả trong Ví dụ 15. Bỏ quy trình biến đổi trong Ví dụ 19. Fmoc-βAla-OH được ghép cặp trong điều kiện vi sóng ở 50°C trong 20 phút. $NaHCO_3$ được sử dụng thay cho chất đệm NH_4OAc để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) với B nằm trong khoảng từ 20 - 70% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 37: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 37

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 9, sử dụng Fmoc-Cys(trt)-OH thay cho Fmoc-hCys(trt)-OH tại vị trí 31 và Fmoc-Lys(Pal-Glu-OtBu)-OH (từ peptit hoạt hóa) thay cho Fmoc-Leu-OH tại vị trí 30. Ngoài ra, Fmoc-Abu-OH được gắn vào trình tự ở vị trí 2, trong bước 1, và sử dụng ghép cặp với anhyđrit bromoaxetic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 2, sử dụng biến đổi như mô tả trong Ví dụ 15. NaHCO3 chứa nước bão hòa được sử dụng thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 3 để tạo vòng. Tiến hành

tinh chế sản phẩm dùng cột Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải gradien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) với B nằm trong khoảng từ 20 - 70% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 38: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 38

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 35, nhưng có các biến đổi sau đây: Fmoc-βAla-OH được gắn vào trình tự ở vị trí 2, sau bước 1 sử dụng điều kiện vi sóng ở 50°C trong 20 phút, và sử dụng ghép cặp với anhyđrit bromoaxetic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 2, sử dụng biến đổi như mô tả trong Ví dụ 15. NaHCO3 chứa nước bão hòa $NaHCO_3$ được sử dụng thay cho chất đệm NH_4OAc để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải gradien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) với B nằm trong khoảng từ 20 - 80% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 39: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 39

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit arachiđic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) trong bước 2. Sử dụng Fmoc-Ser(tBu)-OH thay cho Fmoc-Lys(Boc)-OH ở vị trí 4 trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 1) và axit *m*-clometylbenzoic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 2). 60% EtOH/H_2O được sử dụng làm dung môi thay cho MeCN/H_2O và $NaHCO_3$ chứa nước bão hòa được sử dụng thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 4 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải gradien chất đệm A (10 mM NH_4OH trong nước, pH khoảng 9) và chất đệm B (MeCN) từ nồng độ ban đầu B 20% đến nồng độ trung gian B 25% (100 mpm) trong 5 phút, sau đó đến nồng độ cuối B 40% (100 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 40: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 40

1. Tổng hợp nhựa (HCCH$(CH_2)_2$CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK(Dde)-(azido-norLeu)-TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Việc kéo dài axit amin trên nhựa (*psi*-R35, Y36)-Sieber được cho vào trước trong Ví dụ 1, bước 2 (0,1 mmol) được thực hiện ở nhiệt độ phòng sử dụng NMP làm dung môi, số lượng axit amin được bảo vệ gấp 5 lần và quy trình HATU/DIEA (1 giờ, ghép cặp đơn); Fmoc-Arg(pbf)-OH và Fmoc-His(trt)-OH được ghép cặp đôi. Quy trình khử bảo vệ

Fmoc gồm hai giai đoạn được sử dụng trong toàn bộ quy trình (20% piperiđin trong DMF; nhiệt độ phòng; 10 phút, 15 phút).

2. Tổng hợp nhựa (HCCH$(CH_2)_2$CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK(NH_2)-(azido-norLeu)-TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Nhựa trên được xử lý bằng 2% hyđrazin trong DMF (tỷ lệ: 12 mL/0,2 mmol) trong 2 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó, hỗn hợp được hút cạn nước. Quy trình này được lặp lại khoảng 4 lần, sau đó, nhựa được rửa toàn bộ bằng DMF rồi đến DCM.

3. Tổng hợp nhựa (HCCH$(CH_2)_2$CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK((OEG)$_2$-γ-Glu-Pal)-(azido-norLeu)-TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Nhựa trên được ghép cặp với axit (*S*)-10,19-đioxo-22-palmitamiđo-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-điazatricosanеđioic (5 đương lượng) [được điều chế theo quy trình được mô tả để tổng hợp chất trung gian 3 bằng cách sử dụng axit palmitic thay cho axit 18-tert-butoxy-18-oxooctađecanoic trong bước G] theo quy trình HBTU/DIEA ở nhiệt độ phòng trong 1,5 giờ. Nhựa được hút cạn nước và rửa toàn bộ bằng DMF và DCM.

4. Tổng hợp (HCCH$(CH_2)_2$CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK((OEG)$_2$-γ-Glu-Pal)-(azido-norLeu)-TRQ(*psi*-R35Y36)-$CONH_2$

Nhựa đã làm khô được xử lý bằng dung dịch 2% TFA trong DCM (20 mL) và được trộn trong 20 phút, sau đó được lọc. Lặp lại công đoạn xử lý này thêm 2 lần nữa, và cứ mỗi lần xử lý lại dùng một hỗn hợp mới. Hỗn hợp dung dịch lọc sau đó được kết hợp và cô đặc để tạo peptit thô được bảo vệ dưới dạng bọt màu vàng. Bọt này được xử lý bằng 20 mL hỗn hợp phân tách (TFA/H_2O/TIPS = 95/2,5/2,5) ở nhiệt độ phòng trong 2,5 giờ, sau đó, được cô đặc trong dòng nitơ đến khi có thể tích khoảng 2,5 mL. Tiếp theo, thêm ete lạnh (40 mL) vào để kết tủa peptit rồi hỗn hợp được ly tâm (5 phút; 5000 vòng/phút) và được lắng gạn. Quy trình này được lặp lại thêm 2 lần nữa để tạo peptit thô dưới dạng bột màu trắng nhạt.

Hoặc là, nhựa được xử lý bằng hỗn hợp phân tách mà không xử lý trước bằng 1-2% TFA trong DCM để trực tiếp tạo peptit được khử bảo vệ hoàn toàn. Tiến hành tinh chế peptit thô bằng HPLC điều chế pha đảo dùng cột Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm). Pha động gồm việc rửa giải građien Chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và Chất đệm B (TFA 0,1 % trong MeCN) với B nằm trong khoảng từ 20 - 70% trong 22 phút. Theo dõi phát hiện tia UV ở 220 và 254 nm. Các phần cất chứa sản phẩm được phân tích

bằng HPLC phân tích trên hệ thống Agilent 1100 HPLC sử dụng cùng kiểu cột như trên (4,6 x 250 mm, 5 µm). Các phần cất tinh khiết được kết hợp, rồi sau đó được đông khô để tạo sản phẩm dưới dạng chất rắn giống như hạt bông. LCMS: 1211,8 (M+4H)/4, 1615,4 (M+3H)/3 và 2422,9 (M+2H)/2 để đạt được peak sản phẩm ở 16,87 phút (LC: cột Atlantis T3 C18, 5 µm, 4,6 x 250 mm, 1,0 mL/phút, građien 30-60%).

5. Chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 40

Pha chế 5,1 mg $CuSO_4$ trong 1 mL H_2O. Pha chế 10,4 mg TBTA trong 3 mL EtOH. Trộn trước 400 µL dung dịch CuSO4 và 3 mL dung dịch TBTA. Pha chế 13 mg Natri Ascorbat trong 2 mL H_2O.

Dung dịch peptit đã tinh chế chứa azido từ bước 4 (37 mg) trong 4 mL HEPES (0,1M, pH 7,4) được bổ sung 1,7 mL dung dịch $CuSO_4$/TBTA đã trộn trước, sau đó được bổ sung thêm 1 mL dung dịch Natri Ascorbat. Điều chỉnh tỷ lệ EtOH/H_2O cho đến khi dung dịch phản ứng chuyển sang dung dịch trong suốt. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng và được theo dõi bởi HPLC. Sau 30 phút, phản ứng được hoàn thành. Hỗn hợp được điều chỉnh đến pH 4 và được tinh chế bằng HPLC điều chế pha đảo. Thực hiện tinh chế dùng cột Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm). Pha động gồm việc rửa giải građien Chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và Chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) với B nằm trong khoảng từ 20 - 60% trong 22 phút. Theo dõi phát hiện tia UV ở 220 và 254 nm. Các phần cất chứa sản phẩm được phân tích bằng HPLC phân tích trên hệ thống Agilent 1100 HPLC sử dụng cùng kiểu cột như trên (4,6 x 250 mm, 5 µm). Các phần cất tinh khiết được kết hợp, rồi sau đó được đông khô để tạo sản phẩm dưới dạng chất rắn giống như hạt bông.

Ví dụ 41: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 41

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 40, sử dụng axit L-Glutamic, este N-(1-oxohexađexyl)-, 1-(1,1-đimetyletyl) thay cho axit (*S*)-10,19-đioxo-22-palmitamiđo-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-điazatricosanđioic trong bước 3.

Ví dụ 42: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 42

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 40, sử dụng axit (*S*)-22-(tert-butoxycacbonyl)-43,43-đimetyl-10,19,24,41-tetraoxo-3,6,12,15,42-pentaoxa-9,18,23-triazatetratetracontan-1-oic (16) (chất trung gian 2) thay cho axit (*S*)-10,19-đioxo-22-palmitamiđo-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-điazatricosanđioic trong bước 3.

Ví dụ 43 Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 43

1. Tổng hợp nhựa (Alloc)Lys((OEG)$_2$-γ-Glu-NH_2)-(hC)-TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Việc kéo dài axit amin trên nhựa (*psi*-R35, Y36)-Sieber được cho vào trước trong Ví dụ 1, bước 2 (0,1 mmol) được thực hiện ở nhiệt độ phòng sử dụng NMP làm dung môi, số lượng axit amin được bảo vệ gấp 5 lần và quy trình HATU/DIEA (1 giờ, ghép cặp đơn); Fmoc-Arg(pbf)-OH được ghép cặp đôi. Quy trình khử bảo vệ Fmoc gồm hai giai đoạn được sử dụng trong toàn bộ quy trình (20% piperiđin trong DMF; nhiệt độ phòng; 10 phút, 15 phút).

2. Tổng hợp nhựa (Alloc)Lys((OEG)$_2$-γ-Glu-Pal)-(hC)-TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Axit palmitic được ghép cặp vào nhựa trong bước 1, sử dụng điều kiện vi sóng, HATU/DIEA ở 50°C trong 20-30 phút và NMP làm dung môi.

3. Tổng hợp nhựa (H_2N)Lys((OEG)$_2$--γ-Glu-Pal)-(hC)-TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Nhóm bảo vệ alloc của nhựa trên được loại bỏ theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 1, bước 4.

4. Chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 43

Hợp chất tiêu đề được điều chế từ nhựa trên theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 9, các bước 1-3, sử dụng axit *m*-clometylbenzoic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 2. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi được mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 60%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng građien B 20 - 60% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 44 Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 44

Hợp chất tiêu đề được điều chế từ nhựa trên theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 43, được biến đổi sao cho các đơn vị Fmoc-OEG-OH nối đuôi nhau và đơn vị Fmoc-Glu-OtBu được đưa vào trong bước 2 thay vì bước 1. Axit octađecanđioic, este mono-tert-butyl (AstaTech, Inc.) được sử dụng thay cho axit palmitic trong bước 2 và trình tự cầu nối - lipit được đặt ở vị trí 11 thay vì vị trí 30. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 70%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng građien B 20 - 70% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 45 Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 45

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 43, được biến đổi sao cho axit Fmoc-dPEG24-cacboxylic được sử dụng thay cho các đơn vị Fmoc-OEG-OH nối đuôi nhau và, cùng với axit palmitic, được đưa vào trong bước 2. Trình tự cầu nối - lipit được đặt ở vị trí 11 thay vì vị trí 30. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự điều chỉnh được mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 90%. Tiến hành tinh chế sản phẩm hoàn thiện sử dụng građien B 20 - 90% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 46 Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 46

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 9, sử dụng Fmoc-Lys(Pal-Glu-OtBu)-OH (từ peptit hoạt hóa) thay cho Leu tại vị trí 30. Ngoài ra, Fmoc-βAla-OH được gắn vào trình tự ở vị trí 2, sau bước 1 sử dụng điều kiện vi sóng ở 50°C trong 20 phút, và sử dụng ghép cặp với anhyđrit bromoaxetic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 2, sử dụng biến đổi như mô tả trong Ví dụ 15. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi được mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 70%. Tiến hành tinh chế sản phẩm hoàn thiện sử dụng građien B 20 - 70% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 47 Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 47

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 44, đặt trình tự cầu nối - lipit tại vị trí 7 thay vì vị trí 11. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi được mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 60%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng građien B 20 - 60% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 48 Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 48

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 43, sử dụng axit octađecanđioic, este mono-tert-butyl (AstaTech, Inc.) thay cho axit palmitic trong bước 2 với thời gian ghép cặp là 30 phút và đặt trình tự cầu nối - lipit tại vị trí 22 thay vì vị trí 30. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 70%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng građien B 20 - 70% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 49 Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 49

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit 16-tetrahyđropyran-2-yloxypalmitic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) trong bước 2, và sử dụng axit *m*-clometylbenzoic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 2). 60% EtOH/H_2O được sử dụng làm dung môi thay cho MeCN/H_2O và NaHCO3 chứa nước bão hòa được sử dụng thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 4 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (10 mM NH_4OH trong nước, pH khoảng 9) và chất đệm B (MeCN) từ nồng độ ban đầu B 20% đến nồng độ trung gian B 10% (100 mpm) trong 5 phút, sau đó đến nồng độ cuối B 30% (100 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 50 Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 50

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 48 và đặt trình tự cầu nối - lipit tại vị trí 23 thay vì vị trí 30.

Ví dụ 51 Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 51

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 9, sử dụng Fmoc-Lys(Pal-Glu-OtBu)-OH (từ peptit hoạt hóa) thay cho Fmoc-Leu-OH tại vị trí 30 và Fmoc-Ser(tBu)-OH thay cho Fmoc-Lys(Boc)-OH tại vị trí 4 trong bước 1. 60% EtOH/H_2O được sử dụng làm dung môi thay cho MeCN/H_2O và NaHCO3 chứa nước bão hòa được sử dụng thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 4 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (10 mM NH_4OH trong nước, pH khoảng 9) và chất đệm B (MeCN) từ nồng độ ban đầu B 10% đến nồng độ trung gian B 20% (100 mpm) trong 5 phút, sau đó đến nồng độ cuối B 30% (100 mpm) trong 40 phút. Các phần cất có tạp chất được sắc ký lại sử dụng građien bao gồm nồng độ ban đầu B 10% đến nồng độ trung gian B 20% (100 mpm) trong 5 phút, sau đó đến nồng độ cuối B 30% (100 mpm) trong 60 phút.

Ví dụ 52 Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 52

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 43, sử dụng axit Fmoc-dPEG12-cacboxylic thay cho các đơn vị Fmoc-OEG-OH nối đuôi nhau và đưa axit này cùng với Fmoc-Glu-OtBu và axit palmitic vào bước 2. Trình tự cầu nối - lipit được đặt ở vị trí 11 thay vì vị trí 30. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 70%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng građien B 20 - 70% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 53 Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 53

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 52, sử dụng bốn đơn vị Fmoc-OEG-OH nối đuôi nhau thay cho axit fmoc-dPEG12-cacboxylic.

Ví dụ 54 Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 54

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 53, đặt hai đơn vị Fmoc-OEG-OH nối đuôi nhau thay vì hai.

Ví dụ 55 Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 55

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 43, đặt trình tự cầu nối - lipit tại vị trí 23 thay vì vị trí 30. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 70%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng građien B 20 - 70% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 56: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 56

Hợp chất tiêu đề được điều chế bằng các phương pháp được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit (4'-clobiphenyl-4-yl)-axetic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) trong bước 2, và sử dụng axit *m*-clometylbenzoic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 2). 60% EtOH/H_2O được sử dụng làm dung môi thay cho MeCN/H_2O và NaHCO3 chứa nước bão hòa được sử dụng thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 4 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (10 mM NH_4OH trong nước, pH khoảng 9) và chất đệm B (MeCN) với B nằm trong khoảng từ 10 - 28% (100 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 57: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 57

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit 3-[(2,4-diclophenoxy)phen-4-yl]propionic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) trong bước 2, và sử dụng axit *m*-clometylbenzoic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 2). 60% EtOH/H_2O được sử dụng làm dung môi thay cho MeCN/H_2O và NaHCO3 chứa nước bão hòa được sử dụng thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 4 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (10 mM NH_4OH trong nước, pH khoảng 9) và chất đệm B (MeCN) với B nằm trong khoảng từ 10 - 30% (80 mpm) trong 40 phút. Các phần cất chứa sản phẩm được kết hợp, axit hóa bằng TFA, cô đặc và sắc ký lại trên cột Agilent Polaris C18-A (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) từ nồng độ ban đầu B 20% đến nồng độ trung gian B 15% (40 mpm) sau đó đến nồng độ cuối B 45% (40 mpm) trong 45 phút.

Ví dụ 58: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 58

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit 11-(4-flophenyl}undecanoic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) trong bước 2, và sử dụng axit *m*-clometylbenzoic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 2). 60% EtOH/H_2O được sử dụng làm dung môi thay cho MeCN/H_2O và NaHCO3 chứa nước bão hòa được sử dụng thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 4 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất

đệm A (10 mM NH_4OH trong nước, pH khoảng 9) và chất đệm B (MeCN) với B nằm trong khoảng từ 15 - 35% (100 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 59: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 59

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 43, bỏ bước 2 và đưa việc ghép cặp axit palmitic vào bước 1. Trình tự cầu nối - lipit được đặt ở vị trí 22 thay vì vị trí 11. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 70%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng građien B 20 - 70% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 60: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 60

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 53, hợp nhất hai đơn vị FMOC-OEG-OH nối đuôi nhau thay vì bốn và đặt trình tự cầu nối - lipit tại vị trí 7 thay vì vị trí 11. Peptit thẳng thô được tinh chế và tạo vòng theo sự biến đổi được mô tả trong Ví dụ 19, sử dụng građien B 20 - 80%. Sản phẩm hoàn thiện được tinh chế sử dụng građien B 20 - 80% (30 mpm) trong 36 phút.

Ví dụ 61: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 61

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit 11-[(4-triflometyl)phenyl]unđecanoic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) trong bước 2, và sử dụng axit *m*-clometylbenzoic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 2). 60% $EtOH/H_2O$ được sử dụng làm dung môi thay cho $MeCN/H_2O$ và NaHCO3 chứa nước bão hòa được sử dụng thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 4 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (10 mM NH_4OH trong nước, pH khoảng 9) và chất đệm B (MeCN) với B nằm trong khoảng từ 15 - 35% (100 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 62: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 62

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit 11,11,11-triflounđecanoic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) trong bước 2, và sử dụng axit *m*-clometylbenzoic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 2). 60% $EtOH/H_2O$ được sử dụng làm dung môi thay cho $MeCN/H_2O$ và $NaHCO_3$ chứa nước bão hòa được sử dụng thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 4 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) ở nhiệt độ phòng.

Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (10 mM NH_4OH trong nước, pH khoảng 9) và chất đệm B (MeCN) với B nằm trong khoảng từ 10 - 28% (100 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 63: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 63

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit 15,15,15-triflounđecanoic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) trong bước 2, và sử dụng axit *m*-clometylbenzoic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 2). 60% EtOH/H_2O được sử dụng làm dung môi thay cho MeCN/H_2O và $NaHCO_3$ chứa nước bão hòa được sử dụng thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 4 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (10 mM NH_4OH trong nước, pH khoảng 9) và chất đệm B (MeCN) với B nằm trong khoảng từ 15 - 30% (100 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 64: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 64

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit 16-ethoxypalmitic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) trong bước 2, và sử dụng axit *m*-clometylbenzoic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 2). 60% EtOH/H_2O được sử dụng làm dung môi thay cho MeCN/H_2O và $NaHCO_3$ chứa nước bão hòa được sử dụng thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 4 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (10 mM NH_4OH trong nước, pH khoảng 9) và chất đệm B (MeCN) với B nằm trong khoảng từ 15 - 30% (100 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 65: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 65

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit 13,13,14,14,15,15,16,16,16-D9-palmitic (cCambridge Isotopes) thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) trong bước 2, và sử dụng axit *m*-clometylbenzoic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 2). 60% EtOH/H_2O được sử dụng làm dung môi thay cho MeCN/H_2O và $NaHCO_3$ chứa nước bão hòa được sử dụng thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 4 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải građien chất đệm A (10 mM NH_4OH trong nước, pH khoảng 9) và chất đệm B (MeCN) với B nằm trong khoảng từ 15 - 20% (100 mpm) trong 5 phút sau đó đến B 35% (100 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 66: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 66

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit 11-[(2,4-bis(triflometyl)phenyl]undecanoic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) trong bước 2, và sử dụng axit *m*-clometylbenzoic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 2). 60% EtOH/H_2O được sử dụng làm dung môi thay cho MeCN/H_2O và $NaHCO_3$ chứa nước bão hòa được sử dụng thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 4 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải gradien chất đệm A (10 mM NH_4OH trong nước, pH khoảng 9) và chất đệm B (MeCN) với B nằm trong khoảng từ 15 - 35% (100 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 67: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 67

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 11, sử dụng axit 11-[(3,5-bis(triflometyl)phenyl]undecanoic thay cho axit α-tocopheryloxyaxetic (AcVitE) (8) trong bước 2, và sử dụng axit *m*-clometylbenzoic thay cho axit *m*-bromometylbenzoic trong bước 4 (Ví dụ 9, bước 2). 60% EtOH/H_2O được sử dụng làm dung môi thay cho MeCN/H_2O và $NaHCO_3$ chứa nước bão hòa được sử dụng thay cho chất đệm NH_4OAc trong bước 4 để tạo vòng. Tiến hành tinh chế sản phẩm dùng cột Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) ở nhiệt độ phòng. Pha động gồm việc rửa giải gradien chất đệm A (10 mM NH_4OH trong nước, pH khoảng 9) và chất đệm B (MeCN) với B nằm trong khoảng từ 15 - 35% (100 mpm) trong 40 phút.

Ví dụ 68: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 68

1. Tổng hợp nhựa (Fmoc)-βA-IKPEAPGEK(Alloc)ASPEELNRYYASLRHYLNCVTRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Việc kéo dài axit amin trên nhựa (*psi*-R35, Y36)-Sieber được cho vào trước trong Ví dụ 1, bước 2 (0,1 mmol) được thực hiện ở nhiệt độ phòng sử dụng DMF làm dung môi, số lượng axit amin được bảo vệ gấp 6 lần và quy trình HATU/DIEA (10 phút, ghép cặp đôi); Quy trình khử bảo vệ Fmoc gồm hai giai đoạn được sử dụng trong toàn bộ quy trình (20% piperiđin trong DMF; nhiệt độ phòng; 10 phút, 15 phút).

2. Tổng hợp nhựa (Fmoc)-βA-IKPEAPGEK((OEG)$_2$-γ-Glu-NHCO(CH_2)$_{16}$$CO_2$tBu)-ASPEELNRYYASLRHYLNCVTRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Tiến hành khử bảo vệ nhựa trên theo phương pháp được mô tả trong Ví dụ 1, bước 4, thời gian phản ứng được biến đổi là 10 phút cho mỗi lần xử lý. Nhựa sau đó được ghép

cặp với chất trung gian 2 (15) (5 đương lượng) theo quy trình HATU/DIEA trong DMF (1 giờ, nhiệt độ phòng).

3. Tổng hợp nhựa (BrAc)-βA-IKPEAPGEK((OEG)$_2$-γ-Glu-NHCO(CH$_2$)$_{16}$CO$_2$tBu)-ASPEELNRYYASLRHYLNCVTRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Sau khi khử bảo vệ Fmoc (20% piperiđin/DMF), nhựa trên được xử lý bằng anhyđrit bromoaxetic (10 đương lượng; nhiệt độ phòng, 30 phút) để tạo nhựa được bromoaxetyl hóa.

4. Tổng hợp (BrAc)-βA-IKPEAPGEK((OEG)$_2$-γ-Glu-NHCO(CH$_2$)$_{16}$CO$_2$tBu)-ASPEELNRYYASLRHYLNCVTRQ(*psi*-R35Y36)-CONH$_2$

Nhựa trên được xử lý bằng hỗn hợp phân tách chứa TFA/H$_2$O/TIPS (95:2.5:2.5) trong 1,5 giờ ở nhiệt độ phòng. Peptit thô được kết tủa với ete theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 1, bước 7.

5. Chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 68

Peptit thô thu được ở trên được hòa tan với nồng độ 10 mg/mL trong 10% MeCN/H$_2$O, và thêm TEA để tăng độ pH của dung dịch lên 8-9. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 20 phút, thêm TFA vào để giảm độ pH xuống 2 và dung dịch được tinh chế trực tiếp bằng HPLC điều chế trên cột Kinetics C18 Evo (30 x 100 mm, 100 Å, 5 µm). Pha động gồm việc rửa giải građien Chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và Chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) với B nằm trong khoảng từ 20 - 60% trong 22 phút. Theo dõi phát hiện tia UV ở 220 và 254 nm. Các phần cất tinh khiết được kết hợp, rồi sau đó được đông khô để tạo sản phẩm dưới dạng chất rắn giống như hạt bông.

Ví dụ 69: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 69

1. Tổng hợp nhựa (Boc)-G-ISPEAPGEK(dde)ASPEELNRYYASLRHYLNLE(OAllyl)TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Việc kéo dài axit amin trên nhựa -Sieber (*psi*-R35, Y36) được cho vào trước trong Ví dụ 1, bước 2 (0,1 mmol) được thực hiện ở nhiệt độ phòng sử dụng DMF làm dung môi, số lượng axit amin được bảo vệ gấp 6 lần và quy trình HATU/NMM (10 phút, ghép cặp đôi). Quy trình khử bảo vệ Fmoc gồm hai giai đoạn được sử dụng trong toàn bộ quy trình (20% piperiđin trong DMF; nhiệt độ phòng; 10 phút, 15 phút).

2. Tổng hợp nhựa (Boc)-G-ISPEAPGEK(dde)ASPEELNRYYASLRHYLNLE(NHS)TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Tiến hành khử bảo vệ Alloc cho nhựa trên theo phương pháp được mô tả trong Ví dụ 1, bước 4, thời gian phản ứng được biến đổi là 10 phút cho mỗi lần xử lý. Nhựa sau đó

được ghép cặp với NHS (10 đương lượng) theo quy trình HATU/DIEA trong DMF (1 giờ, nhiệt độ phòng, ghép cặp đôi).

3. Tổng hợp (NH_2)-G-ISPEAPGEK(dde)ASPEELNRYYASLRHYLNLE(NHS)TRQ(*psi*-R35Y36)

Nhựa trên được xử lý bằng hỗn hợp phân tách chứa TFA/H_2O/TIPS (95:2.5:2.5) trong 1,5 giờ ở nhiệt độ phòng. Peptit thô được kết tủa với ete theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 1, bước 7.

4. Chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 69

Peptit thô thu được ở trên được hòa tan với nồng độ 80 mg/mL trong DMSO, và thêm TEA (25 đương lượng) vào để tạo vòng lactam. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 30 phút, phản ứng được pha loãng 10 lần bằng 10% MeCN/nước, độ pH được điều chỉnh đến 2 và peptit thô được tinh chế trực tiếp bằng HPLC điều chế trên cột Kinetics C18 Evo (30 x 100 mm, 100 Å, 5 µm). Pha động gồm việc rửa giải gradien Chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và Chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) với B nằm trong khoảng từ 10 - 60% trong 22 phút. Theo dõi phát hiện tia UV ở 220 và 254 nm. Các phần cất tinh khiết được kết hợp, rồi sau đó được đông khô để tạo peptit được bảo vệ bởi K(Dde). Nhóm bảo vệ Dde được loại bỏ bằng 2% hyđrazin/DMF (10 mg peptit/ml) trong 30 phút ở nhiệt độ phòng. Phản ứng được pha loãng 10 lần bằng 10% MeCN/nước, độ pH được điều chỉnh đến 2 bằng TFA và dung dịch peptit thô được tinh chế như trên để tạo sản phẩm dưới dạng chất rắn giống như hạt bông.

Ví dụ 70: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 70

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 69, sử dụng Fmoc-E(OAll)-OH thay cho Fmoc-Leu-OH tại vị trí 30 và Fmoc-Val-OH thay cho Fmoc-E(OAll)-OH tại vị trí 31.

Ví dụ 71: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 71

1. Tổng hợp nhựa (Boc)-G-ISPEAPGEK(dde)ASPEELNRYYASLRHYLN E(OAllyl)VTRQ(N-Me-R)Y-NovaSyn TGR

Việc kéo dài axit amin trên nhựa NovaSyn TGR (0,1 mmol) được thực hiện theo quy trình như mô tả trong Ví dụ 69, bước 1.

2. Chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 71

Hợp chất tiêu đề được điều chế từ nhựa trên theo các quy trình được mô tả trong Ví dụ 69, các bước 2-4.

Ví dụ 72: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 72

1. Tổng hợp este (S)-22-(tert-butoxycacbonyl)-43,43-đimetyl-10,19,24,41-tetraoxo-3,6,12,15,42-pentaoxa-9,18,23-triazatetratetracontan-1-oic N-hyđroxysucxinimit

Dung dịch của axit (S)-22-(tert-butoxycacbonyl)-43,43-đimetyl-10,19,24,41-tetraoxo-3,6,12,15,42-pentaoxa-9,18,23-triazatetratetracontan-1-oic (Chất trung gian 2 (16)) (54,0 mg, 0,063 mmol), N-hyđroxysucxinimit (14,6 mg, 0,127 mmol), và HATU (24,1 mg, 0,063 mmol) trong 1,0 ml DMF được bổ sung DIEA (0,022 ml, 0,127 mmol), rồi hỗn hợp được khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ phòng và được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

2. Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 72

Dung dịch [xyclo-(G2-E30), S4, K11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (được pha chế trong Ví dụ 70) (4 mg, 0,96 µmol) trong DMF (0,2 mL) được bổ sung 24 µL dung dịch este N-hyđroxy (được pha chế trong Bước 1) và TEA (0,66 µL; 5 đương lượng) và hỗn hợp được khuấy qua đêm ở nhiệt độ phòng. Phản ứng được pha loãng 10 lần bằng 10% MeCN/nước, độ pH được điều chỉnh đến 2 bằng TFA và peptit thô được tinh chế trực tiếp bằng HPLC điều chế trên cột Kinetics C18 Evo (30 x 100 mm, 100 Å, 5 µm). Pha động gồm việc rửa giải gradien Chất đệm A (TFA 0,1% trong nước) và Chất đệm B (TFA 0,1% trong MeCN) với B nằm trong khoảng từ 10 - 60% trong 22 phút. Theo dõi phát hiện tia UV ở 220 và 254 nm. Các phần cất tinh khiết được kết hợp, rồi sau đó được đông khô để tạo peptit được bảo vệ bởi este t-butyl. Các nhóm bảo vệ este t-butyl được loại bỏ bằng hỗn hợp chứa TFA/H_2O/TIPS (95:2,5:2,5) trong 1,5 giờ ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp được cô đặc và peptit được tinh chế như trên để tạo sản phẩm dưới dạng chất rắn giống như hạt bông.

Ví dụ 73: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 73

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 1, sử dụng axit N-Fmoc-dPEG6-cacboxylic thay cho axit N-Fmoc-dPEG12-cacboxylic trong bước 5.

Ví dụ 74: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 74

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 1, nhưng bỏ đi bước 5: ghép cặp cầu nối PEG.

Ví dụ 75: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 75

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 1, sử dụng Fmoc-Cys(trt)-OH thay cho Fmoc-hCys(trt)-OH tại vị trí 31 và bỏ đi bước ghép cặp Fmoc-βA-OH trong bước 3.

Ví dụ 76: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 76

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 1, nhưng biến đổi bước 3 và bước 4. Trong bước A, Fmoc-K(Alloc)-OH và Fmoc-K(dde)-OH được sử dụng lần lượt tại vị trí 30 và vị trí 11. Sau khi Alloc tại vị trí 30 được khử bảo vệ bằng $Pd(PPh_3)_4$-phenylsilan, axit mPEG16-cacboxylic được ghép cặp với HATU-DIPEA. Trong bước 4, dde tại vị trí 11 được loại bỏ bằng 2% hyđrazin trong DMF.

Ví dụ 77: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 77

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 76, sử dụng axit mPEG12-cacboxylic thay cho axit mPEG16-cacboxylic trong bước A và bỏ đi bước ghép cặp axit Fmoc-dPEG12-cacboxylic trong bước 5.

Ví dụ 78: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 78

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 1, sử dụng Fmoc-N-Me-Q(trt)-OH thay cho Fmoc-Q(trt)-OH trong bước 3.

Ví dụ 79: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 79

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 1, sử dụng Fmoc-N-Me-R(pbf)-OH thay cho Fmoc-R(pbf)-OH trong bước 1B.

Ví dụ 80: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 80

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 79, sử dụng Fmoc-R(pbf)-OH thay cho Fmoc-K(Boc)-OH tại vị trí 4 và Fmoc-W(Boc)-OH thay cho Fmoc-L-OH tại vị trí 30 trong bước 3.

Ví dụ 81: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 81

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 80, sử dụng Fmoc-C(trt)-OH thay cho Fmoc-hC(trt)-OH tại vị trí 31 và axit Fmoc-γ-aminobutanoic thay cho Fmoc-βA-OH trong bước 3.

Ví dụ 82: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 82

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 1, sử dụng axit Fmoc-PEG2-cacboxylic thay cho Fmoc-βA-OH và Fmoc-C(trt)-OH thay cho Fmoc-hC(trt)-OH tại vị trí 31 và bỏ đi bước ghép cặp Fmoc-Ile-OH trong bước 3.

Ví dụ 83: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 83

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 1, sử dụng Fmoc-K(N3)-OH thay cho Fmoc-hC(trt)-OH tại vị trí 31 và axit pent-4-ynoic thay cho Fmoc-βA-OH trong bước 3 và theo quy trình tạo vòng B như bên dưới.

Quy trình tạo vòng B: Dung dịch peptit được khử bảo vệ hoàn toàn với PEG12-AcBr được đặt tại vị trí 11 (38 mg, 0,0067 mmol) trong 2 mL HEPES (pH 7,4) được bổ sung 1,7 mL dung dịch $CuSO_4$/TBTA đã trộn trước (dung dịch được pha chế bằng cách trộn dung dịch của 2,2 mg $CuSO_4$ trong nước (0,4 mL) với dung dịch của 11 mg TBTA trong EtOH), sau đó, bổ sung thêm 7 mg natri ascorbat trong nước (1 mL). Dung dịch phản ứng trong suốt được trộn ở nhiệt độ phòng và được theo dõi bởi HPLC. Sau 30 phút, phản ứng được hoàn thành, và hỗn hợp phản ứng được điều chỉnh đến khi đạt độ pH 4 bằng TFA và được tinh chế HPLC (cột Pursuit XRS 5 250 x 30 mm C18, chảy ở lưu lượng 30 mpm, theo dõi ở bước sóng 214 nM, với građien từ 20-60% ACN-nước/nước, cả hai đều bằng TFA 0,1% trong 36 phút). Phần cất như mong muốn được thu thập và đông khô.

Ví dụ 84: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 84

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 1, bỏ đi bước ghép cặp Fmoc-βA-OH, sử dụng axit N3-PEG8-cacboxylic thay cho axit Fmoc-dPEG12-cacboxylic trong bước 5 và sử dụng ghép cặp axit 3-(bromometyl)benzoic với DIC thay cho axyl hóa anhyđrit bromoaxetic trong bước 3 và tuân theo quy trình tạo vòng C bên dưới.

Quy trình tạo vòng C: Dung dịch peptit được khử bảo vệ hoàn toàn (20 mg, 0,0035 mmol) trong 5 mL nước được khử khí được bổ sung dung dịch $NaHCO_3$ chứa nước để điều chỉnh độ pH của hỗn hợp phản ứng lên 6,4 hoặc cao hơn. Sau 20 phút, LCMS cho thấy phản ứng được hoàn thành, và độ pH của hỗn hợp phản ứng được điều chỉnh đến khi đạt 4 bằng TFA và được tinh chế HPLC (cột Pursuit XRS 5 250 x 30 mm C18, chảy ở lưu lượng 30 mpm, theo dõi ở bước sóng 214 nM, với građien từ 10-60% ACN-nước/nước, cả hai đều bằng TFA 0,1% trong 36 phút). Phần cất như mong muốn được thu thập và đông khô.

Sau khi tạo vòng, chất trung gian được tạo vòng sẽ được kéo dài cầu nối bằng hóa học click theo quy trình tạo vòng B với N-(1-bromo-2-oxo-7,10,13-trioxa-3-azahexađecan-16-yl)pent-4-ynamit, được điều chế bằng việc ghép cặp N-Boc-PEG4-NH2 với axit pent-4-ynoic sử dụng HATU-DIPEA, sau đó, tiến hành khử bảo vệ Boc bằng TFA và axyl hóa với anhyđrit bromoaxetic với sự có mặt của TEA.

Ví dụ 85: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 85

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 1 với cầu nối PEG12-AcBr được đặt vào vị trí 23 thay vì vị trí 11.

Ví dụ 86: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 86

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 1 với cầu nối PEG12-AcBr được đặt vào vị trí 22 thay vì vị trí 11.

Ví dụ 87: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 87

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 1 với cầu nối PEG12-AcBr được đặt vào vị trí 7 thay vì vị trí 11.

Ví dụ 88: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 88

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 1, sử dụng Fmoc-V-OH thay cho Fmoc-hC(trt)-OH tại vị trí 31 và Fmoc-C(trt)-OH thay cho Fmoc-L-OH tại vị trí 30 và Fmoc-G-OH thay cho Fmoc-βA-OH trong bước 3.

Ví dụ 89: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 89

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 88, bỏ đi bước 1 để tạo đipeptit khử, và nạp Fmoc-Y(tBu)-OH sau khi ghép cặp với Fmoc-(N-Me)R-OH thay cho nạp Fmoc-psi-(R35-N(Boc)-Y36)-OH trong bước 2.

Ví dụ 90: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 90

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 89, sử dụng Fmoc-βA-OH thay cho Fmoc-G-OH trong bước 3.

Ví dụ 91: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 91

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 89, sử dụng Fmoc-hC(trt)-OH thay cho Fmoc-C(trt)-OH tại vị trí 30 trong bước 3.

Ví dụ 92: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 92

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 90, sử dụng Fmoc-hC(trt)-OH thay cho Fmoc-V-OH tại vị trí 31 và Fmoc-L-OH thay cho Fmoc-C(trt)-OH tại vị trí 30 trong bước 3.

Ví dụ 93: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 93

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 1, sử dụng Fmoc-V-OH thay cho Fmoc-hC(trt)-OH tại vị trí 31, Fmoc-C(trt)-OH thay cho Fmoc-L-OH tại vị trí 30 và Fmoc-G-OH thay cho Fmoc-βA-OH tại đầu N trong bước 3.

Ví dụ 94: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 94

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 1, sử dụng Fmoc-V-OH thay cho Fmoc-hC(trt)-OH tại vị trí 31 và Fmoc-C(trt)-OH thay cho Fmoc-L-OH tại vị trí 30 trong bước 3.

Ví dụ 95: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 95

Hợp chất tiêu đề được điều chế (quy mô 0,05 mmol) theo các quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 1, sử dụng Fmoc-V-OH thay cho Fmoc-hC(trt)-OH tại vị trí 31, Fmoc-G(OAlloc)-OH thay cho Fmoc-L-OH tại vị trí 30, Fmoc-Lys(dde)-OH thay cho Fmoc-Lys(Alloc)-OH tại vị trí 11, Fmoc-Ser(tBu)-OH thay cho Fmoc-K(Boc)-OH tại vị trí 4 và Boc-G-OH thay cho Fmoc-βA-OH tại đầu N trong bước 3.

Nhựa thu được từ bước trên được bổ sung DCM đã khử oxy (10 mL), phenylsilan (10 đương lượng) và dung dịch Pd(PPh3)4 (0,2 đương lượng) trong DCM (1 mL), sau đó, hỗn hợp được khuấy trong 10 phút. Phản ứng được hút cạn nước và nhựa được rửa bằng DCM đã khử oxy và công đoạn khử bảo vệ này được lặp lại thêm một lần.

Thêm DMF (10 ml), HATU (5 đương lượng) và DIEA (10 đương lượng) vào nhựa thu được ở trên rồi hỗn hợp được khuấy trong 5 phút, sau đó, dung dịch N-hyđroxysucxinimit (10 đương lượng) trong DMF được thêm vào và được khuấy thêm 20 phút nữa. Nhựa được lọc và quy trình lặp lại thêm một lần nữa.

Nhựa thu được ở trên được khử bảo vệ trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng trong TFA/TIPS/nước (95/2,5/2,5) (10 ml). Hỗn hợp phân tách được cô đặc đến khoảng 1 ml, sau đó được thêm vào 40 ml ete. Kết tủa thu được được thu thập bằng cách ly tâm và được làm khô trong N2.

Chất thu được ở trên được hòa tan trong 9 mL DMSO đã được thêm 10 đương lượng TEA vào, sau đó phản ứng được thực hiện trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng. Dung dịch thu được được pha loãng bằng nước cho đến khi đạt thể tích 30 ml, độ pH được điều chỉnh đến 2 và được tinh chế bởi RP-HPLC trên cột C18 30 mm x 250 mm, rửa giải với gradien tuyến tính 20-40% ACN trong nước (TFA 0,1%) trong 30 phút. Các phần cất chứa sản phẩm được đông khô.

Sau đó, chất thu được ở trên được xử lý bằng 1-2% hyđrazin/DMF (1 mL) để loại Dde khỏi lysin. Hỗn hợp thu được được pha loãng bằng nước cho đến khi đạt thể tích 10 ml, độ pH được điều chỉnh đến 2 rồi được tinh chế bởi RP-HPLC như trên.

Tiếp theo, sản phẩm thu được được hòa tan trong 10% ACN/nước, độ pH được điều chỉnh lên 10 và dung dịch este bromoaxetic N-hyđroxysucxinimit (3 đương lượng của dung dịch DMF 0,1M) được thêm vào, sau đó, phản ứng được thực hiện trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp thu được được pha loãng bằng nước cho đến khi đạt thể tích 10 ml, độ pH được điều chỉnh đến 2 rồi được tinh chế bởi RP-HPLC như trên để tạo sản phẩm tiêu đề.

Ví dụ 96: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 96

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 1, sử dụng axit N-Fmoc-dPEG24-cacboxylic thay cho axit N-Fmoc-dPEG12-cacboxylic trong bước 5.

Ví dụ 97: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 97

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 1, sử dụng Fmoc-G-OH thay cho Fmoc-βA-OH trong bước 3.

Ví dụ 98: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 98

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 89, nhưng bỏ đi bước ghép cặp axit Fmoc-dPEG12-cacboxylic trong bước 5.

Ví dụ 99: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 99

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 90, nhưng bỏ đi bước ghép cặp axit Fmoc-dPEG12-cacboxylic trong bước 5.

Ví dụ 100: Tổng hợp chất tương tự PYY vòng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 100

Hợp chất tiêu đề được điều chế theo quy trình như đã mô tả trong Ví dụ 94, nhưng bỏ đi bước ghép cặp axit Fmoc-dPEG12-cacboxylic trong bước 5.

Ví dụ 101: Nhận dạng và sản xuất mAb MSCB97

Chọn VL PH9L3 và VH PH9H5 làm các vùng V bắt đầu để kiến tạo

Vùng biến đổi chuỗi nhẹ (VL) kháng thể được ký hiệu là PH9L3 (SỐ ID TRÌNH TỰ:128) (Teplyakov và cộng sự, "Structural diversity in a human antibody germline library," ("Sự đa dạng cấu trúc trong thư viện dòng mầm kháng thể người") mAb tháng 8-tháng 9 8(6):1045-63 (2016)) và vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) kháng thể được ký hiệu là PH9H5 (SỐ ID TRÌNH TỰ:129) (Teplyakov và cộng sự, "Structural diversity in a human antibody germline library," ("Sự đa dạng cấu trúc trong thư viện dòng mầm kháng thể người") mAb tháng 8-tháng 9 8(6):1045-63 (2016)) được chọn làm vùng biến đổi bắt đầu mà từ đó kiến tạo mAb cho phép tiếp hợp peptit. PH9L3 được tạo thành hoàn toàn từ các trình tự gen V dòng mầm Ig người và do đó không chứa đột biến trình tự bất kỳ từ quá trình trưởng thành ái lực *trong cơ thể sống*, mà có thể dẫn đến liên kết đặc hiệu kháng nguyên ái lực cao. CDR3 của PH9H5 là đoạn duy nhất không bao gồm các trình tự gen V dòng mầm người trong VH đó. CDR3 của PH9H5 là từ kháng thể kháng CCL2 người, CNTO 888 và được cung cấp theo SỐ ID TRÌNH TỰ:130. Fab chứa cặp VH/VL PH9H5/PH9L3 được tạo.

Trình tự PH9L3, PH9H5 và vùng V và vùng J dòng mầm Ig người mà các trình tự này giống nhất được bắt cặp để xác định độ đồng nhất hoặc đồng dạng trình tự với trình tự dòng mầm. PH9H5 được bắt cặp với chuỗi nối (SỐ ID TRÌNH TỰ:131) của các gen dòng

mầm Ig người IGHV3-23*01 (PubMed ID: M99660) (SỐ ID TRÌNH TỰ:132) và IGHJ1*01 người (PubMed ID: J00256) (SỐ ID TRÌNH TỰ:133), với sự khác biệt duy nhất giữa trìnnh tự axit amin PH9H5 và trình tự IGHV3-23*01-IGHJ1*01 người được nối chuỗi là ở CDR3 của VH, mà có SỐ ID TRÌNH TỰ:130 cho PH9H5.

PH9L3 được bắt cặp với chuỗi nối (SỐ ID TRÌNH TỰ:134) của các gen dòng mầm Ig người IGKV3-11*01 (PubMed ID: X01668) (SỐ ID TRÌNH TỰ:135) và IGKJ1*01 (PubMed ID: J00242) (SỐ ID TRÌNH TỰ:136), với sự khác biệt duy nhất là một chỗ lệch ở điểm tiếp giáp gen V/gen J.

Thiết kế và tạo biến thể thay thế Cys của PH9H5 và PH9L3

Các biến thể của VH PH9H5 có chứa thay thế Cys duy nhất tại các đơn phân CDR được chọn trên cả ba CDR của vùng V được thiết kế, tạo và tạo dòng thành chuỗi nặng hoàn chỉnh với vùng hằng định IgG1 người hợp nhất vào vectơ biểu hiện của ký chủ là động vật có vú. Cấu trúc Fab PH9H5/PH9L3 được sử dụng để hỗ trợ lựa chọn đơn phân CDR để thay thế có vẻ dễ tiếp cận hơn để tiếp hợp và trong một số biến thể, các đơn phân glyxin (Gly) bổ sung được chèn vào hai bên của đơn phân Cys được đưa vào nhằm tăng khả năng tiếp cận của Cys cho việc tiếp hợp. Các biến thể tương tự của VL PH9L3 được thiết kế và được tạo trừ khi chúng được tạo dòng là các chuỗi nhẹ hoàn chỉnh với vùng hằng định kappa hợp nhất vào vectơ biểu hiện. Tổng cộng có 24 cấu trúc biểu hiện của các biến thể Cys đơn PH9H5 và 22 cấu trúc biểu hiện của các biến thể Cys đơn PH9L3 đã được tạo. Các đơn phân được chọn để thay thế bên trong PH9H5_VH (SỐ ID TRÌNH TỰ: 129) và bên trong PH9L3_VL (SỐ ID TRÌNH TỰ: 128) được tổng hợp trong Hình 2.

Các cấu trúc biểu hiện tạo thành đã được sử dụng để biểu hiện các biến thể Cys bằng đồng chuyển nhiễm tạm thời từng cấu trúc biến thể Cys HC dựa trên PH9H5 với cấu trúc LC PH9L3 kiểu dại hoặc đồng chuyển nhiễm từng cấu trúc biến thể Cys LC dựa trên PH9L3 với cấu trúc HC PH9H5 kiểu dại. Các chuyển nhiễm thử nghiệm ban đầu đã sử dụng Expi293 có nguồn gốc HEK làm ký chủ biểu hiện và ở quy mô 20 ml. Phần lớn các biến thể Cys HC và LC được biểu hiện tốt dựa trên định lượng protein biến thể từ lớp bề mặt dung dịch nuôi cấy.

Năm biến thể Cys HC ban đầu, MSCB33-MSCB37, được biểu hiện trong Expi293 ở quy mô 750 ml và protein biến thể được tinh chế. Năng suất tinh chế và các đặc tính chất lượng của các biến thể tinh chế tương đối giống nhau và đủ để sử dụng các protein tinh chế trong các phản ứng tiếp hợp peptit ban đầu.

Đánh giá liên hợp peptit với các biến thể Cys HC nền PH9H5

Xác định phân tích khối lượng protein MSCB33 và các protein biến thể khác cho thấy sự hiện diện của các phức xystein tại Cys được kiến tạo để tiếp hợp, với hai trên mỗi mAb, cũng như loại bỏ đơn phân Lys đầu C của HC, đây là điều thường gặp trong các mAb được tái tổ hợp. Để chuẩn bị các mAb biến thể cho liên hợp, các phức đã được loại bỏ bằng quy trình khử được phát triển để duy trì các liên kết đisulfua tự nhiên trong mAb (xem Ví dụ 103). Các liên hợp thử nghiệm ban đầu với chất tương tự peptit oxyntomođulin (OXM) người (GCG Aib2, Glu16,24, Arg20, Leu27, Lys30-ε-(PEG_{12})-NH_2) đã được thực hiện bằng cách sử dụng hóa học maleimide trên tất cả năm kháng thể biến thể Cys HC. Hiệu suất liên hợp khác nhau giữa các biến thể mAb. Hiệu suất này được ước tính định tính bằng các sản phẩm phản ứng liên hợp và tỷ lệ phần trăm tương đối của mỗi sản phẩm. Hiệu suất lớn nhất, được đo bằng tỷ lệ phần trăm lớn nhất của sản phẩm đồng đime, đã được quan sát ở MSCB33, so với các biến thể I102C khác có đơn phân Gly ở hai bên. Quan sát thấy ít hoặc không có liên hợp với các biến thể Y103C là MSCB35 hoặc MSCB37.

Một số biến thể Cys HC và LC khác, với sự thay thế xystein được kiến tạo trong các CDR khác nhau (thay thế T28C, S30C và S54C trong PH9H5_VH (SỐ ID TRÌNH TỰ: 129) và thay thế S30C và S92C trong PHpL3_VL (SỐ ID TRÌNH TỰ:128)) thể hiện ở quy mô lớn trong Expi293. Việc loại bỏ các phức Cys khỏi các protein tinh chế này bằng cách khử là rất khó khăn và do đó người ta không theo đuổi các biến thể này thêm nữa. Do những thách thức được quan sát với hầu hết các biến thể Cys và hiệu suất liên hợp ban đầu tốt được quan sát với mAb biến thể PH9H5 I102C, MSCB33, các nỗ lực phát triển quy trình và kiến tạo tiếp theo đã tập trung vào biến thể đặc biệt này.

Kiến tạo Fc của MSCB33

MSCB33 đã được tái kiến tạo để chứa Fc IgG4_PAA người bất hoạt để làm giảm chức năng Fc *trong cơ thể sống*. IgG4_PAA người có các đột biến S228P/F234A/L235A trên allotyp IgG4 người nG4m(a) (dựa trên alen IGHG4*01 như được định nghĩa trong IMGT). Cấu trúc biểu hiện với VH của MSCB33 dung hợp với Fc của IgG4_PAA được tạo và sử dụng cùng với cùng cấu trúc biểu hiện LC được sử dụng để biểu hiện MSCB33 để tạo ra biến thể IgG4_PAA của MSCB33, được ký hiệu là MSCB97. Các trình tự axit amin của VH, HC, VL và LC của MSCB97 lần lượt được cung cấp theo SỐ ID TRÌNH TỰ: 137, 138, 139 và 140.

Biểu hiện thử nghiệm của MSCB97 được thực hiện tạm thời ở quy mô 20 ml trong các tế bào Expi293 và biến thể mAb này đã biểu hiện tốt. MSCB97 đã được tinh chế từ việc thực hiện biểu hiện Expi293 quy mô lớn. Năng suất tinh chế của MSCB97 là

264,53 mg/L và chất lượng được xác định ở mức 85% thành phần monome. Những lần thực hiện biểu hiện và tinh chế quy mô lớn sau đó có năng suất và chất lượng tương tự hoặc tốt hơn và cho thấy sự nhất quán của mAb có thể được tạo này.

Đánh giá liên hợp peptit với MSCB97 và khả năng mở rộng phản ứng liên hợp

Sự kết nối đisulfua LC-HC khác nhau giữa các lớp kháng thể IgG1 và IgG4, do đó sự khử và liên hợp maleimide đã được thử nghiệm và được xác nhận là có thể chuyển đổi được từ mAb IgG1 MSCB33 sang mAb IgG4_PAA MSCB97, bằng cách sử dụng sự khử TCEP và liên hợp OXM-peptit thử nghiệm maleimide như được mô tả ở phần trên. Liên kết tạo thành từ liên hợp maleimide được biết là có khả năng đảo ngược, do đó hóa học liên hợp bromoaxetamit, mà từ đó tạo ra liên kết ổn định hơn, đã được áp dụng và thực hiện thành công trên quy mô 10 mg dựa trên MSCB97 là vật liệu ban đầu.

Liên hợp MSCB97 của chất tương tự OXM GCG Aib2, Glu16,24, Arg20, Leu27, Lys30-ε-(PEG_{12})-NH_2 (MSCB97-OXM1) được tạo qua hóa học bromoaxetamit được xét nghiệm để xác định hiệu lực GLP-1R và GCGR trong ống nghiệm. Hiệu lực liên quan đến các peptit tham chiếu và các liên hợp polypeptit không cấu trúc tham chiếu là hợp lý và tương tự như hiệu lực của liên hợp được tạo ra với cùng peptit đối với MSCB33 (IgG1). Điều này cho thấy rằng sự khác biệt duy nhất giữa MSCB97 (IgG4_PAA) và MSCB33 (IgG1), là lớp kháng thể, không tác động đến hiệu lực của các liên hợp chứa cùng peptit. Ngoài ra, những dữ liệu này cho thấy các hiệu lực *trong ống nghiệm* mong muốn có thể được giữ lại trong liên hợp peptit-mAb, mà được tạo với hóa học bromoaxetamit đem lại liên kết ổn định *trong cơ thể sống*. Các chất tương tự OXM khác cũng được tiếp hợp với MSCB97 và các hiệu lực *trong ống nghiệm* của các liên hợp này đã được xét nghiệm. Các liên hợp này có hiệu lực GLP-1R và GCGR tương tự như MSCB97-OXM1, cho thấy khả năng tiếp hợp nhiều loại peptit với MSCB97, trong khi vẫn giữ được hiệu lực của peptit.

Đánh giá liên hợp peptit-MSCB97 liên kết với CCL2 người

Mặc dù MSCB97 đã được chọn và được kiến tạo do không có liên kết kháng nguyên đặc hiệu, nhưng kháng nguyên có khả năng cao nhất mà mAb này sẽ liên kết, nếu có, là CCL2 người dựa trên nguồn gốc của CDR3 của VH. Đánh giá việc MSCB97 có cho thấy được bất kỳ liên kết CCL2 đặc hiệu nào hay không bằng cách sử dụng hai liên hợp peptit-MSCB97, với chất tương tự peptit OXM hoặc chất tương tự peptit PYY.

Liên kết CCL2 tiềm năng được đo trực tiếp bằng cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) trong đó các liên hợp được cố định bề mặt bằng phương pháp bắt kháng thể kháng

Fc. mAb chuột kháng CCL2 có bán trên thị trường được dùng làm đối chứng dương và hai kháng thể không đặc hiệu ở người, CNTO 9412 và HH3B33, đóng vai trò đối chứng âm. Tất cả các đối chứng được cố định bề mặt tương tự như vậy, và CCL2 người tái tổ hợp được truyền đến các liên hợp và đối chứng được cố định ở các nồng độ lên tới 400nM. Dựa trên các tiêu chí xét nghiệm được thiết lập trước, quan sát thấy việc tích tụ CCL2 chỉ báo liên kết kháng nguyên đặc hiệu ở đối chứng dương chứ không phải với các đối chứng âm cũng như với liên hợp peptit-MSCB97. Điều này khẳng định rằng MSCB97, ở dạng điều trị phù hợp của liên hợp peptit-mAb, không có liên kết với CCL2 người.

Ví dụ 102: Biểu hiện và tinh chế mAb

Kháng thể đơn dòng (mAb) người hoàn toàn có thể được biểu hiện tái tổ hợp trong vật chủ biểu hiện là động vật có vú và được tinh chế từ lớp bề mặt dung dịch nuôi cấy tế bào bằng các phương pháp tiêu chuẩn được biết đến trong lĩnh vực. Ví dụ, trình tự ADN bổ sung mã hóa chuỗi nhẹ (LC) và chuỗi nặng (HC) của mAb, mỗi chuỗi bao gồm một peptit tín hiệu thích hợp để hoạt hóa sự tiết, có thể được tạo dòng thành các vectơ biểu hiện riêng biệt của động vật có vú hoặc thành một vectơ biểu hiện duy nhất bằng phương pháp sinh học phân tử tiêu chuẩn. Các vectơ biểu hiện được sử dụng có thể là vectơ bất kỳ trong các vectơ có bán trên thị trường như pEE12.4, pcDNA™3.1(+) hoặc pIRESpuro3 hoặc vectơ biểu hiện tùy chỉnh bất kỳ có chức năng tương tự. Trong các vectơ này, sự phiên mã từng chuỗi nặng và nhẹ của mAb được điều khiển bởi vùng khởi động hiệu quả đã biết bất kỳ như vùng khởi động hCMV-MIE. ADN plasmit cấp độ chuyển nhiễm được chuẩn bị cho các cấu trúc biểu hiện LC và HC riêng biệt hoặc một cấu trúc đơn biểu hiện cả LC và HC bằng các phương pháp tiêu chuẩn như bộ dụng cụ QIAGEN Plasmid Midi Kit.

ADN plasmit tinh chế được điều chế để chuyển nhiễm với thuốc thử chuyển nhiễm nền lipit như thuốc thử chuyển nhiễm Freestyle™ Max, theo hướng dẫn của nhà sản xuất, và sau đó được chuyển nhiễm vào dòng tế bào chủ biểu hiện thuộc động vật có vú tiêu chuẩn, như CHO-S hoặc HEK 293-F. Nếu LC và HC của mAb được mã hóa bởi các cấu trúc biểu hiện riêng biệt, thì hai cấu trúc đó được chuyển nhiễm đồng thời. Trước và sau khi chuyển nhiễm, các tế bào động vật có vú được nuôi cấy để duy trì hoặc để biểu hiện mAb theo phương pháp nuôi cấy tế bào tiêu chuẩn, theo đó khoảng mật độ tế bào để duy trì, môi trường nuôi cấy để sử dụng và các điều kiện nuôi cấy tế bào khác được xác định theo dòng tế bào chủ động vật có vú cụ thể được sử dụng. Các thông số này thường được nhà cung cấp dòng tế bào ghi lại hoặc trong có tài liệu khoa học. Ví dụ, các tế bào CHO-S được duy trì trong môi trường CHO Freestyle™ ở trạng

thái huyền phù, lắc ở tốc độ 125 vòng/phút trong tủ ủ được tạo ẩm ở 37°C và CO2 8%, và phân tách khi nồng độ tế bào nằm trong khoảng 1,5 đến 2,0 x 10^6 tế bào/ml.

Vài ngày sau khi chuyển nhiễm, thu hoạch lớp bề mặt dung dịch nuôi cấy tế bào từ các tế bào động vật có vú được chuyển nhiễm tạm thời biểu hiện mAb. Lớp này được làm sạch bằng cách ly tâm và lọc. Thời gian biểu hiện cho các tế bào CHO-S thường là bốn ngày nhưng có thể được điều chỉnh và có thể khác nhau đối với các dòng tế bào chủ động vật có vú khác nhau. Các lượng chuyển nhiễm quy mô lớn (>10 lít) được cô đặc gấp 10 lần bằng cách sử dụng thiết bị cô quay như Centramate. mAb được tinh chế từ lớp bề mặt được làm sạch bằng cách sử dụng cột ái lực protein A như HiTrap MabSelect Sure trong các phương pháp tiêu chuẩn để liên kết mAb với nhựa protein A, rửa nhựa và rửa giải protein bằng cách sử dụng dung dịch đệm có độ pH thấp. Các phần cất protein được trung hòa ngay lập tức bằng cách rửa giải vào các ống chứa dung dịch đệm có độ pH bằng 7 và các phần cất đỉnh được tập hợp, lọc và thẩm tách trong dung dịch muối đệm phosphat (PBS), pH 7,2 qua đêm ở 4 °C. Sau khi thẩm tách, mAb được lọc lại (bộ lọc 0,2 µ) và nồng độ protein được xác định theo độ hấp thụ ở 280 nm. Chất lượng của protein mAb tinh chế được đánh giá bằng SDS-điện di trên gel polyacrylamit (PAGE) và HPLC loại kích cỡ phân tích và nồng độ nội độc tố được đo bằng xét nghiệm dung dịch thủy phân tế bào amip của loài sam Mỹ (LAL, limulus amebocyte lysate). mAb tinh chế được bảo quản ở 4 °C.

Biểu hiện và tinh chế MSCB97 từ các tế bào CHO được chuyển nhiễm tạm thời

MSCB97 được biểu hiện trong tế bào ExpiCHO-S™ (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA; Cat # A29127) bằng cách chuyển nhiễm tạm thời các tế bào với ADN plasmit tinh chế của cấu trúc biểu hiện MSCB97 theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Tóm lại, các tế bào ExpiCHO-S™ được duy trì ở trạng thái huyền phù trong môi trường biểu hiện ExpiCHO™ (ThermoFisher Scientific, Cat # A29100) trong tủ ủ lắc ở 37 °C, CO2 8% và 125 vòng/phút. Các tế bào được tách chuyển sao cho vào ngày chuyển nhiễm, có thể đạt được độ pha loãng xuống mức 6,0 x 10^6 tế bào/ml, duy trì khả năng tồn tại của tế bào ở mức 98% hoặc cao hơn. Việc chuyển nhiễm tạm thời được thực hiện bằng cách sử dụng kit chuyển nhiễm ExpiFectamine™ CHO (ThermoFisher Scientific Cat # A29131). Đối với mỗi ml tế bào pha loãng được chuyển nhiễm, sẽ sử dụng và pha loãng một microgam ADN plasmit vào môi trường tạo phức OptiPRO™ SFM. Thuốc thử ExpiFectamine™ CHO được sử dụng theo tỷ lệ 1: 3 (thể tích/thể tích, ADN: thuốc thử) và cũng được pha loãng trong OptiPRO™. ADN pha loãng và thuốc thử chuyển nhiễm được kết hợp trong một phút, cho phép hình thành phức hợp

ADN/lipit và sau đó được thêm vào các tế bào. Sau khi ủ qua đêm, vật liệu ExpiCHO™ và chất tăng cường ExpiFectamine™ CHO đã được thêm vào các tế bào. Các tế bào được nuôi cấy trong tình trạng lắc ở 32°C trong năm ngày trước khi thu hoạch lớp bề mặt dung dịch nuôi cấy.

Lớp bề mặt dung dịch nuôi cấy từ các tế bào ExpiCHO-S™ được chuyển nhiễm tạm thời đã được thu hoạch bằng cách làm sạch thông qua quá trình ly tâm (30 phút, 6000 vòng/phút) sau đó là lọc (màng PES 0,2 µ, Corning). Các lượng chuyển nhiễm quy mô lớn (5 đến 20 lít) trước hết được cô đặc 10 lần bằng hệ thống Lọc dòng tiếp tuyến Pall Centramate. 10x DPBS (dung dịch muối đệm phosphat Dulbecco), pH 7,2 được bổ sung vào lớp bề mặt đến khi đạt nồng độ cuối x1 trước khi nạp vào cột protein A HiTrap MabSelect Sure (DPBS, pH 7,2) cân bằng (GE Healthcare; Little Chalfont, Vương quốc Anh) với nồng độ tương đối ~ 20 mg protein trên mỗi ml nhựa, sử dụng hệ thống sắc ký AKTA FPLC. Sau khi tải, cột được rửa với thể tích 10 cột DPBS, pH 7,2. Protein được rửa giải với thể tích 10 cột Na-axetat 0,1 M, pH 3,5. Các phần cất protein được trung hòa ngay lập tức bằng cách rửa giải vào các ống chứa Tris 2,0 M, pH 7 ở mức 20% thể tích phần cất rửa giải. Phần cất đỉnh được tập hợp và độ pH được điều chỉnh thành ~ 5,5 với Tris bổ sung, nếu cần. Protein tinh chế được lọc (0,2 µ) và nồng độ được xác định theo độ hấp thụ ở 280 nm trên quang phổ kế BioTek *SynergyHT™*. Chất lượng của protein tinh chế được đánh giá bởi SDS-PAGE và HPLC loại kích cỡ phân tích (hệ thống Dionex HPLC). Các mức nội độc tố được đo bằng xét nghiệm LAL đo độ đục (Pyrotell®-T, Associates of Cape Cod).

Ví dụ 103: Liên hợp giữa mAb và chất tương tự PYY vòng

Phương pháp A: Khử một phần mAb bằng TCEP

Dung dịch mAb 10 mg/mL trong dung dịch đệm tris-axetat (20 mL, 1 mM trong EDTA) được xử lý bằng 3 đương lượng TCEP. Dung dịch được điều chỉnh đến khi đạt độ pH 6 và sau 1 giờ ở nhiệt độ phòng, sắc ký chất lỏng cao áp với khối quang phổ kế (LCMS) cho thấy rằng các phức đisulfua ở vị trí C102 đã được khử hoàn toàn. mAb khử được tinh chế bằng hấp phụ và rửa giải protein A (4 CV axit axetic 100 mM) để cung cấp 180 mg mAb khử.

Liên hợp giữa mAb khử và chất tương tự PYY vòng

Peptit đông khô (5 đương lượng so với mAb) đã được thêm vào mAb khử được mô tả ở trên. EDTA được thêm vào nồng độ cuối là 1 mM và độ pH được điều chỉnh thành 7. Nồng độ được điều chỉnh thành 8 mg/mL và phản ứng được tiến hành với việc khuấy trộn nhẹ trong 16 giờ ở nhiệt độ phòng. TCEP (0,5 đương lượng so với mAb) đã được thêm

vào và phản ứng được tiếp tục trong 4 giờ ở nhiệt độ phòng, khuấy trộn nhẹ, sau thời gian đó, các thành phần có khối lượng phân tử cao (MW) đã giảm xuống dưới 3%.

Hỗn hợp phản ứng được điều chỉnh đến khi đạt pH 5,5 và được tinh chế bằng phép sắc ký trao đổi ion trên nhựa CaptoSP bằng cách sử dụng građien 100% A (TRIS-axetat 100 mM, pH 5,5) đến 100% B (TRIS-axetat 100 mM, pH 5,5; NaCl 0,5 M) trên 20 CV. Các phần cất có chứa liên hợp mong muốn được tập hợp lại và 140 mg liên hợp đã được thu thập, đồng rửa giải với một lượng nhỏ peptit không phản ứng. Tinh chế cuối cùng là bằng cách hấp phụ và rửa giải protein A (4 CV axit axetic 100 mM). Độ pH của sản phẩm được điều chỉnh đến khi bằng 6 để cung cấp 120 mg liên hợp (năng suất 60%) với độ tinh khiết > 90% với các thành phần MW cao <3%.

Phương pháp B

Tinh chế mAb bằng sắc ký tương tác kỵ nước (HIC)

Dung dịch mAb 20 mg/mL trong dung dịch đệm tris-axetat được nạp vào cột tương tác kỵ nước (TOSOH TSKgel phenyl 7,5x21 cm) và rửa giải với građien tuyến tính (0-70% B/A, dung môi A: iPrOH 5%, $(NH_4)_2SO_4$ 1M, dung dịch đệm phosphat 100 mM, pH 6,0; dung môi B: iPrOH 20%, dung dịch đệm phosphate 100 mM). Các đỉnh monome mAb được tập hợp, cô đặc (5-10 mg/mL) và được thẩm tách trong dung dịch đệm axit 3-(N-morpholino) propansulfonic (MOPS) (100 mM, pH 5,5).

Khử một phần bằng TCEP và liên hợp giữa mAb khử và chất tương tự PYY vòng

mAb tinh chế (27 mL, 9,28 mg/mL) được thêm 4 đương lượng TCEP, sau đó là EDTA (1 mM). Sau 2 giờ ở nhiệt độ phòng, LCMS cho thấy các phức đisulfua ở vị trí C102 đã được khử hoàn toàn. mAb khử được xử lý bằng cột quay khử muối Zebra (7x10 mL, 7K MWCO, cân bằng trước với MOPS 100 mM pH 5,5) để loại bỏ các xystein/GSH được giải phóng. Hỗn hợp phần cất của mAb bị khử (28 mL) được thêm vào dung dịch peptit PYY trong nước loại Milli Q (6,5 đương lượng so với mAb, 15-20 mg/mL), sau đó là EDTA (1 mM). Độ pH của phản ứng được điều chỉnh đến khi đạt 7,2 đến 7,4 bằng cách thêm từng giọt NaOH 1N. Phản ứng được tiến hành trong 18 giờ ở nhiệt độ phòng và được khuấy trộn nhẹ nhàng. Phản ứng được tiếp tục trong 12 giờ nữa sau khi thêm 0,5 đương lượng TCEP để khử đime mAb-mAb được hình thành trong quá trình phản ứng và để chuyển đổi sang đồng đime mAb mong muốn. Độ pH của phản ứng được hạ xuống bằng pH 5,5 bằng cách thêm axit axetic 2 M và liên hợp thô này được tinh chế bằng phép sắc ký tương tác kỵ nước và rửa giải bằng građien tuyến tính (0-100% B/A, dung môi A: iPrOH 5%, (NH4)2SO4 1M, dung dịch đệm phosphat 100 mM, pH

6,0; dung môi B: iPrOH 20%, dung dịch đệm phosphate 100 mM). Tinh chế cuối cùng là bằng cách hấp phụ protein A (PBS) và rửa giải (NaOAc, pH 3,5). Độ pH của sản phẩm được điều chỉnh đến khi bằng 6 và được thẩm tách trong PBS để cho ra mẫu cuối (56%).

Hoặc, mAb được khử bằng GSH và/hoặc Cys. Sau khi loại bỏ chất khử bằng Lọc dòng tiếp tuyến (TFF), một lượng dư peptit được thêm vào mAb được khử tùy chọn với sự có mặt của 0,2-0,5 đương lượng TCEP.

Ví dụ 104: đặc trưng hóa liên hợp mAb

Thực hiện đặc trưng hóa phân tích các liên hợp PYY-mAb bằng cách sử dụng (i) sắc ký tương tác kỵ nước (HIC), (ii) phép đo khối lượng nguyên vẹn LC-ESIMS, (iii) sắc ký loại kích cỡ (SEC). Kết quả của đặc trưng hóa phân tích các liên hợp PYY-mAb và phương pháp liên hợp được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1: Dữ liệu phân tích các liên hợp PYY-mAb

Hợp chất Số	Liên hợp	Da MS (tính được)	Da MS (tìm thấy)	% Độ tinh khiết SEC	% Độ tinh khiết HIC
1	Phương pháp B	156144	156142	97,89	100
2	Phương pháp B	155616	155617	NA	100
3	Phương pháp B	154945	154947	NA	100
4	Phương pháp B	155972	155966	NA	100
5	Phương pháp B	157668	157670	NA	100
6	Phương pháp B	156116	156118	NA	100
7	Phương pháp B	156172	156155	NA	100
8	Phương pháp B	156173	156154	NA	100
9	Phương pháp B	156347	156350	NA	98
10	Phương pháp B	156347	156349	NA	100
11	Phương pháp B	156039	156040	NA	100
12	Phương pháp B	156450	156448	NA	100
13	Phương pháp B	156138	156162	NA	100
14	Phương pháp B	156201	156202	NA	100
15	Phương pháp B	156233	156145	93,79	97
16	Phương pháp B	156233	156236	NA	100
17	Phương pháp B	156060	156062	98,64	100
18	Phương pháp A:	156116	156104	98,64	Không thực hiện
19	Phương pháp A:	156144	156129	98,15	Không thực hiện

20	Phương pháp A:	156144	156130	98,21	Không thực hiện
21	Phương pháp A:	156200	156187	98,22	Không thực hiện
22	Phương pháp B	156082	156082	100	96
23	Phương pháp B	156082	156083	93	100
24	Phương pháp B	154714	154722	86	81
25	Phương pháp B	157202	157196	97,55	100
26	Phương pháp B	156117	156111	99,00	100

Ví dụ 105: Các xét nghiệm trong ống nghiệm

Hợp chất 1 được đánh giá về khả năng hoạt hóa thụ thể NPY trong ống nghiệm trong tế bào tạo dòng (HEK hoặc CHO) biểu hiện thụ thể Y2 người, chuột, chuột nhắt, khỉ vàng, và thụ thể Y1, Y4 và Y5 người. PYY3-36, NPY và PP được đưa vào các xét nghiệm này dưới dạng đối chứng nghiên cứu.

Dòng tế bào

Các dòng tế bào tạo dòng ổn định biểu hiện thụ thể NPY được phát triển để sử dụng trong xét nghiệm cAMP. Tóm lại, các dòng tế bào HEK293 đã được chuyển nhiễm bằng kit Lipofectamine 2000 (Invitrogen) theo quy trình của nó với các plasmit biểu hiện mang trình tự mã hóa cho thụ thể Y2 người (Mã truy cập: NM_000910.2), thụ thể Y5 người (Mã truy cập: NM_006174.2), thụ thể Y2 chuột (Mã truy cập: NM_008731) và thụ thể Y2 khỉ vàng (Mã truy cập: NM_001032832). Bốn mươi tám giờ sau khi chuyển nhiễm, các tế bào được cho lại vào đĩa với môi trường chọn lọc (glucoza cao DMEM với huyết thanh thai bò (FBS) 10%, 50 I.U. penixilin, streptomyxin 50 µg/ml, L-glutamin 2 mM, natri pyruvat 1 mM và G418 600 µg/ml). Các tế bào được giữ trong môi trường chọn lọc trong 2 tuần trước khi các dòng đơn được chọn bằng phương pháp pha loãng giới hạn. Các tế bào được chuyển nhiễm sau đó được duy trì bằng cách nuôi cấy trong môi trường glucoza cao-DMEM (Cellgro) được bổ sung huyết thanh thai bò 10%, L-glutamin 1%, natri pyruvat 1%, penixilin/streptomyxin 1% và G418 600 µg/ml.

Ngoài ra, các dòng tế bào CHO-K1 được lấy từ DiscoverX Corporation, biểu hiện thụ thể Y1 người (Mã danh mục: 93-0397C2), thụ thể Y4 người (Mã danh mục: 95-0087C2). Các tế bào DiscoverX được nuôi cấy trong môi trường F12 (Gibco) được bổ sung FBS 10% và theo lựa chọn G418 (800 µg/mL). Thụ thể Y2 chuột được biểu hiện trong dòng CHO-K1 Glo-Sensor lấy từ Promega Corporation. Các tế bào này được chuyển nhiễm bằng plasmit cAMP pGloSensor ™ -23F cho xét nghiệm cAMP dựa trên phát quang nhưng đã được thử nghiệm

và xác nhận để sử dụng với xét nghiệm cAMP Perkin-Elmer LANCE. Các tế bào Y2 chuột được nuôi cấy trong môi trường F12 (Gibco) được bổ sung FBS 10% và G418 800 µg/ml.

Tất cả các dòng tế bào được để trong lọ (4 X 10^6 tế bào/lọ) và được bảo quản trong nitơ lỏng cho đến khi sử dụng. Một ngày trước khi thử nghiệm, các lọ được rã đông và thêm vào 15 ml môi trường thích hợp. Các tế bào được ly tâm ở 450 x g trong 5 phút, các lớp bề mặt được hút ra và các tế bào được tái huyền phù trong môi trường không có G418 với mật độ 0,2 x 10^6 tế bào/ml. Các tế bào được phân tán (25 µl/giếng) vào các đĩa 384 giếng màu trắng được phủ collagen Biocoat đến khi đạt mật độ cuối là 5000 tế bào/giếng. Các đĩa tế bào được ủ qua đêm trong tủ ủ nuôi cấy mô ẩm ở 37°C trong môi trường khí quyển 5% CO2/90% O2.

Quy trình thí nghiệm

Xét nghiệm cAMP tương tự như các xét nghiệm thụ thể khác. Kit LANCE cAMP (Perkin Elmer Corporation; Waltham, MA) đã được sử dụng trong tất cả các thí nghiệm để định lượng nồng độ cAMP nội bào. Vào ngày xét nghiệm, môi trường tế bào được lắng gạn từ các tế bào và 6 µl peptit (nồng độ 2X) được thêm vào giếng. Các peptit được tạo thành dưới dạng đáp ứng liều 11 điểm (bắt đầu từ nồng độ 100 nM hoặc 10 µM với tỷ lệ pha loãng 1: 3 tuần tự) trong dung dịch đệm kích thích. Dung dịch đệm kích thích bao gồm HEPES (axit 4-(2-hyđroxyetyl)-1-piperazinetansulfonic) 5 mM, IBMX 500 µM và albumin huyết thanh bò (BSA) 0,1% trong HBSS (dung dịch muối cân bằng Hank). 6 µl dung dịch đệm kích thích tiếp theo chứa forskolin (2X, nồng độ cuối 5 µM) và kháng thể LANCE cAMP (1: 100) được thêm vào các tế bào. Sau khi ủ 25 phút ở nhiệt độ phòng, 12 µl hỗn hợp phát hiện của xét nghiệm đã được thêm vào từng giếng. Hỗn hợp phát hiện được điều chế bằng cách pha loãng biotin-cAMP (1: 750) và Europium-W8044 (1: 2250) trong dung dịch đệm phát hiện được cung cấp với kit LANCE cAMP. Đĩa được ủ trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng và sau đó được đọc dưới dạng xét nghiệm TR-FRET trên thiết bị đọc đĩa Envision (kích thích 320 nm, phát xạ 615 nm và 665 nm). Huỳnh quang kênh 1 (đơn vị huỳnh quang tương đối ở 615 nm) và huỳnh quang kênh 2 (đơn vị huỳnh quang tương đối ở 665 nm) cùng với tỷ lệ của chúng được xuất dưới dạng tập tin Excel.

Phân tích dữ liệu

Dữ liệu từ thiết bị đọc đĩa Envision được thể hiện dưới dạng đơn vị huỳnh quang tương đối (RFU) được tính bằng (615 nm/665 nm) x 10.000. Tất cả mẫu được đo theo bộ ba. Dữ liệu được phân tích bằng phần mềm phân tích dữ liệu tại chỗ Crucible do Eudean Shaw thiết kế. Nồng độ cAMP chưa xác định trong mỗi lỗ được nội suy từ mẫu tham chiếu về nồng độ cAMP

đã xác định được bao gồm trong mỗi đĩa. Thu được các thông số như EC_{50}, Log(EC_{50}), HillSlope (nH), cao nhất và thấp nhất bằng cách lập biểu đồ giá trị nồng độ cAMP so với nồng độ hợp chất log, được khớp bằng mô hình 4-P, sử dụng phương pháp bình phương tối thiểu trọng số phi tuyến tính trong môi trường R (Nguồn mở http://cran.us.r-project.org/). Phương pháp này được thực hiện bởi phòng Thống kê & Tính toán phi lâm sàng, Janssen R&D.

Bảng 2: Dữ liệu *trong ống nghiệm*

	Hiệu lực thể đồng dạng người (EC_{50} nM)				Hiệu lực trong các thành phần (EC_{50} nM)		
Hợp chất	hY2	hY1	hY4	hY5	Y2 chuột nhắt	Y2 chuột	Y2 khỉ vàng
Hợp chất 1	0,006	>2910	>2910	345,7	0,004	0,04	0,004
PYY3-36	0,08	66,4	136,7	12,3	0,03	0,50	0,06

Bảng 3: EC_{50} thể đồng dạng người và trong các loài lai *trong ống nghiệm*

Hợp chất số	EC50 người (nM)				EC50 loài lai (nM)		
	hY2	hY1	hY4	hY5	mY2	rY2	rhY2
1	0,0065	>2910	>2910	345,7	0,004	0,04	0,004
2	0,012						
3	0,012						
4	7,75						
5	0,42						
6	0,065						
7	0,02	678,7	>1186	10,8			
8	0,295						
9	0,01						
10	0,06						
11	0,015						
12	0,015	1990	520,8	154,5			
13	0,008	>3000	>3000	294,2			
14	0,04						
15	0,25						
16	0,04						
17	0,007						
18	0,0085						

19	0,015						
20	0,0075						
21	0,08						
22	0,0085						
23	0,0075						
24							
25	0,0055						
26	0,0085						

Ví dụ 106: Xét nghiệm độ ổn định *trong cơ thể sống* ở chuột nhắt

Chuột C57BL/6N đực (9-12 tuần tuổi) được Taconic Laboratory cung cấp. Chuột được nhốt một con một chuồng trên lớp lót AlphaDri trong phòng được điều khiển nhiệt độ với chu kỳ 12 giờ sáng/tối. Chuột được cho tiếp xúc với nước tùy thích và được duy trì chế độ ăn thông thường (5001, Lab Diet).

Chuột được cho liều với 1 mg/kg hợp chất dưới da. Khoảng 100 µL máu từ 3 con đã được thu thập vào thời điểm t = 4, 24 và 48 giờ thông qua vết rạch ở đuôi. Máu (khoảng 600 µL) từ 2-3 con vào mỗi thời điểm cũng được thu thập tại t = 4, 24 và 48 giờ thông qua bằng cách chọc thủng tim. Các mẫu máu được thu thập trong các ống được phủ K3E (EDTA) chứa 4% dung dịch ức chế proteaza hoàn chỉnh và 1% chất ức chế DPPIV. Các mẫu máu được đặt trên nước đá ướt trước khi được ly tâm ở 10.000 vòng/phút trong 10 phút trong điều kiện lạnh (~ 5 °C) để loại bỏ tế bào trong vòng 30 phút sau khi thu thập tại mỗi thời điểm và tất cả huyết tương được chuyển đến đĩa 96 giếng. Các đĩa này được bảo quản ở tủ đông -80 °C. Nồng độ hợp chất được đo bằng phương pháp LCMS được mô tả dưới đây. Dữ liệu được trình bày trong Bảng 4.

Xét nghiệm khối phổ để xác định % liên hợp nguyên vẹn còn lại

Các mẫu huyết tương được xử lý bằng kỹ thuật bắt giữ ái lực miễn dịch bằng kháng thể kháng Fc người, sau đó là phân tích MS quét toàn bộ độ phân giải cao LC pha đảo trên khối quang phổ kế ba TOF (time-of-flight, thời gian bay). Phổ MS thô được giải chập để giải thích khối lượng phân tử của các thành phần trong các mẫu được tiêm. Đỉnh của ion phân tử của liên hợp nguyên vẹn được sử dụng để định lượng liên hợp nguyên vẹn không thay đổi. Trong xét nghiệm khác, các mẫu huyết tương được xử lý bằng kỹ thuật bắt giữ ái lực miễn dịch bằng kháng thể kháng Fc người, sau đó là thủy phân trypsin và phân tích LC-MSMS pha đảo trên khối phổ ba tứ cực (time-of-flight, thời gian bay). Theo dõi peptit nằm trên Fc của

mAb để định lượng mAb toàn phần. Để thực hiện cả hai xét nghiệm, đường cong tiêu chuẩn và các mẫu kiểm soát chất lượng đã được chuẩn bị bằng cách thêm nồng độ mẫu chuẩn trong huyết tương và được xử lý bằng cách sử dụng cùng một quy trình cùng lúc với các mẫu phát sinh. Tỷ lệ nồng độ liên hợp nguyên vẹn với nồng độ mAb toàn phần được tính là % còn lại.

Bảng 4: Dữ liệu về độ ổn định *trong cơ thể sống* ở chuột nhắt

Hợp chất Số	% còn lại sau 48 giờ ở chuột nhắt
1	90,8
2	65,6
3	51,8
4	NA
5	80,4
6	49,7
7	75,4
8	51,6
9	51,5
10	42,4
11	60
12	63,5
13	74,4
14	102
15	NA
16	96
17	
18	77
19	87,4
20	74,4
21	85,8
22	
23	
24	
25	81,5
26	71,9

Ví dụ 107: Dược động học (PK)

PK chuột DIO

Chuột DIO C57BL/6N đực (20 tuần tuổi, được cho ăn chế độ ăn có lượng chất béo cao trong 14 tuần) được Taconic Laboratory cung cấp. Chuột được nhốt một con một chuồng trên lớp lót AlphaDri trong phòng được điều khiển nhiệt độ với chu kỳ 12 giờ sáng/tối. Chuột được cho tiếp xúc với nước tùy thích và được duy trì chế độ ăn có hàm lượng chất béo cao (D12492, Research Diet).

Chuột được cho liều dưới da (s.c.) với 1 mg/kg hợp chất 1, 3 con được cho tử vong tại mỗi thời điểm và máu được thu thập tại t = 4, 8, 24, 48, 72, 120 và 168 giờ. Máu từ 3 con chưa được điều trị cũng được thu thập. Khoảng 300 µL máu của mỗi động vật được thu thập qua tĩnh mạch cổ sau khi cắt đầu trong khi gây mê bằng khí được cảm ứng với hỗn hợp 70% CO_2 và 30% O_2. Các mẫu máu (khoảng 300 µL) đã được thu thập trong các ống Sarstedt Microvette® được phủ K3E (EDTA) chứa 12 µL (tỷ lệ 4%) dung dịch ức chế proteaza hoàn chỉnh và 3 µL (tỷ lệ 1%) chất ức chế DPP-IV. Các mẫu máu được đặt trên nước đá ướt trước khi được ly tâm ở 10.000 vòng/phút trong ~ 4 phút trong điều kiện lạnh (~ 5 °C) để loại bỏ tế bào trong vòng 30 phút sau khi thu thập tại mỗi thời điểm và tất cả huyết tương được chuyển đến đĩa 96 giếng. Đĩa chứa giếng được bảo quản trên đá khô cho đến khi được đặt trong tủ đông -80 °C. Dữ liệu được trình bày trong Bảng 5 và Hình 3.

PK ở chuột

Hợp chất 1 được cho sử dụng dưới da và tĩnh mạch cho chuột đực Sprague-Dawley (Charles River Laboratories, Wilmington, MA) với nồng độ liều 1,0 mg/kg trong PBS, (pH 7,0-7,6). Khoảng 500 µL máu được thu thập từ ba con tại mỗi thời điểm thông qua tĩnh mạch hiển (t = 1, 4, 24, 48, 72, 96, 168 và 240 giờ sau khi cho liều). Mẫu máu sau khi cho liều 336 giờ được thu thập qua tĩnh mạch cổ sau khi cắt đầu trong khi gây mê bằng khí được cảm ứng với hỗn hợp 70% CO_2 và 30% O_2. Các mẫu máu đã được thu thập trong các ống Sarstedt Microvette® được phủ K3E (EDTA) chứa 20 µL (tỷ lệ 4%) dung dịch ức chế proteaza hoàn chỉnh và 5 µL (tỷ lệ 1%) chất ức chế DPPIV. Các mẫu máu được đặt trên nước đá ướt trước khi được ly tâm ở 10.000 vòng/phút trong ~ 4 phút trong điều kiện lạnh (~ 5 °C) để loại bỏ tế bào trong vòng 60 phút sau khi thu thập tại mỗi thời điểm và tất cả huyết tương được chuyển đến đĩa 96 giếng. Nồng độ Hợp chất 1 được đo bằng phương pháp LCMS được mô tả dưới đây. Dữ liệu được trình bày trong Bảng 6.

PK khỉ đuôi dài (khỉ)

Tất cả các con khỉ được cho nhịn ăn ít nhất tám giờ trước khi cho liều và thu thập mẫu máu qua bốn giờ đầu tiên. Ba con được nhận liều đơn IV 1 mg/kg Hợp chất 1 và ba con khác được nhận liều đơn SC là 1 mg/kg Hợp chất 1. Máu được thu thập trước khi cho liều và ở 1, 6, 10, 24, 36, 48, 72, 120, 168, 240, 336, 432, và 504 giờ sau khi cho liều. Mẫu bổ sung được thu thập ở 0,5 giờ sau khi cho liều cho nhóm IV. Khoảng 1 ml máu từ mỗi con được thu thập trong các ống Sarstedt Microvette® được phủ K3E (EDTA) chứa tỷ lệ 4% dung dịch ức chế proteaza hoàn chỉnh và tỷ lệ 1% chất ức chế DPPIV. Các mẫu máu được đặt trên nước đá ướt trước khi được ly tâm trong 30 phút sau khi thu thập tại mỗi thời điểm và tất cả huyết tương tạo thành được chia làm ba phần và được chuyển đến đĩa 96 giếng bộ ba. Đĩa chứa giếng được bảo quản trên đá khô cho đến khi được đặt trong tủ đông -80 °C. Dữ liệu được trình bày trong Bảng 7 và Hình 4.

Xét nghiệm khối phổ nguyên vẹn để xác định nồng độ trong huyết tương

Các mẫu huyết tương được xử lý bằng kỹ thuật bắt giữ ái lực miễn dịch bằng kháng thể kháng Fc người, sau đó là phân tích MS quét toàn bộ độ phân giải cao LC pha đảo trên khối quang phổ kế ba TOF (time-of-flight, thời gian bay). Phổ MS thô được giải chập để giải thích khối lượng phân tử của các thành phần trong các mẫu được tiêm. Đỉnh của ion phân tử của liên hợp nguyên vẹn được sử dụng để định lượng. Đường cong tiêu chuẩn và các mẫu kiểm soát chất lượng đã được chuẩn bị bằng cách thêm nồng độ mẫu chuẩn trong huyết tương và được xử lý bằng cách sử dụng cùng một quy trình cùng lúc với các mẫu phát sinh. Dữ liệu PK của chuột DIO, chuột và khỉ lần lượt được trình bày trong Bảng 5, Bảng 6 và Bảng 7. Dữ liệu PK của chuột DIO và khỉ cũng lần lượt được trình bày trong Hình 3 và 4.

Bảng 5: PK ở chuột DIO

Thí nghiệm	Liều lượng (mg/kg)	$T_{1/2}$ giờ	T_{max} giờ	C_{max} ng/mL	AUC_{last} giờ*ng/mL
Nguyên vẹn	1,0	81,05	48	8750	995460

Bảng 6: PK ở chuột

Đường dùng	Liều lượng (mg/kg)	$T_{1/2}$ giờ	T_{max} giờ	C_{max} ng/mL	AUC_{last} giờ*ng/mL
IV	1,0	93,0	1	19,5	809,2
SC	1,0	88,7	48	4,2	602,0

Bảng 7: PK ở khỉ

Đường dùng	Liều lượng (mg/kg)	$T_{1/2}$ giờ	T_{max} giờ	C_{max} ng/mL	AUC_{last} giờ*ng/mL

IV	1,0	178,39	0,67	30290	1207,39
SC	1,0	104,32	10	5590	712,19

Ví dụ 108: Các nghiên cứu về tính hiệu lực *trong cơ thể sống*

Giảm cân ở chuột béo phì do chế độ ăn (DIO): Cho liều cấp tính

Hợp chất 1 được đánh giá về khả năng giảm lượng thu nạp thức ăn và cân nặng cơ thể ở chuột DIO C57B1/6 đực sau khi sử dụng đơn liều. Chuột DIO C57BL/6N đực (20 tuần tuổi, được cho ăn chế độ ăn có lượng chất béo cao trong 14 tuần) được Taconic Laboratory cung cấp. Chuột được nhốt một con một chuồng trên lớp lót AlphaDri trong phòng được điều khiển nhiệt độ với chu kỳ 12 giờ sáng/tối. Chuột được cho tiếp xúc với nước tùy thích và được duy trì chế độ ăn có hàm lượng chất béo cao (D12492, Research Diet). Các con vật được cho thích nghi với cơ sở trong ít nhất một tuần trước khi bắt đầu thí nghiệm.

Một ngày trước khi cho liều, chuột được lập nhóm thành các đoàn hệ gồm 8 con dựa trên cân nặng cơ thể của từng con. Vào lúc 3 giờ-4 giờ chiều ngày hôm sau, các con chuột được cân và được điều trị bằng chất mang (dPBS, pH 7,2), Hợp chất 1 với liều 0,1, 0,3, 1,0, 3,0 hoặc 7,5 nmol/kg hoặc Dulaglutide liều 0,3 nmol/kg dưới da (sc). Trọng lượng cơ thể và lượng thu nạp thức ăn được đo lúc 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ sau khi cho liều và tỷ lệ phần trăm giảm cân và giảm lượng thu nạp thức ăn được tính toán. Các phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng kỹ thuật ANOVA lặp lại hai yếu tố cùng hậu kiểm định Tukey trên Prism. Tất cả dữ liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± SEM (Hình 5 và Hình 6).

Giảm cân ở chuột béo phì do chế độ ăn (DIO): Cho liều mạn tính

Hợp chất 1 được đánh giá về khả năng làm giảm lượng thu nạp thức ăn và cân nặng và cải thiện cân bằng nội môi glucoza khi cho liều lặp lại ở chuột DIO C57B1/6 đực trong khoảng thời gian 8 ngày. Chuột DIO C57BL/6N đực (20 tuần tuổi, được cho ăn chế độ ăn có lượng chất béo cao trong 14 tuần) được Taconic Laboratory cung cấp. Chuột được nhốt một con một chuồng trên lớp lót AlphaDri trong phòng được điều khiển nhiệt độ với chu kỳ 12 giờ sáng/tối. Chuột được cho tiếp xúc với nước tùy thích và được duy trì chế độ ăn có hàm lượng chất béo cao (D12492, Research Diet). Các con vật được cho thích nghi với cơ sở trong ít nhất một tuần trước khi bắt đầu thí nghiệm.

Một ngày trước khi cho liều, chuột được lập nhóm dựa trên cân nặng cơ thể của từng con. Vào lúc 3 giờ-4 giờ chiều mỗi ngày trong 8 ngày tiếp theo, các con chuột và lượng thu nạp thức ăn được cân. Các con chuột được điều trị bằng chất mang (dPBS, pH 7,2) hoặc dulaglutide

liều 0,3 nmol/kg dưới da mỗi ngày, hoặc Hợp chất 1 với liều 0,1, 0,3, 1,0, 3,0 nmol/kg dưới da ba ngày một lần. Sau 8 ngày, chuột được cho nhịn đói trong 5 giờ và sau đó được bơm nhanh bằng đường miệng 2 g/kg glucoza tại t=0. Vào thời điểm t=0, 30, 60, 90, và 120 phút sau thử nghiệm glucoza, glucoza trong máu được đo và vào thời điểm t=0, 30, và 90 phút, máu được rút ra để đo insulin trong huyết thanh. Các phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng ANOVA một yếu tố hoặc hai yếu tố lặp lại cùng với hậu kiểm định Tukey trên Prism. Tất cả dữ liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± SEM (Hình 7 và 8 và Bảng 8-11).

Bảng 8: Tác dụng của hợp chất 1 đối với cân nặng cơ thể (g) trong 8 ngày điều trị

Điều trị	Chất mang	Hợp chất 1 (nmol/kg)				Dulaglutide (nmol/kg)
Ngày	n/a	0,1	0,3	1,0	3,0	0,3
-1	46,3 ± 0,6	46,3 ± 0,6	46,7 ± 0,8	46,3 ± 0,6	46,3 ± 0,6	46,3 ± 0,6
0	46,1 ± 0,7	46,0 ± 0,6	46,8 ± 0,7	46,3 ± 0,6	46,3 ± 0,6	45,9 ± 0,6
1	45,8 ± 0,7	45,0 ± 0,6	45,2 ± 0,7	43,9 ± 0,5	43,9 ± 0,6	44,1 ± 0,6
2	45,2 ± 0,7	43,9 ± 0,6	43,6 ± 0,7	42,4 ± 0,7*	41,8 ± 0,7*	42,2 ± 0,6*
3	45,1 ± 0,7	43,9 ± 0,6	42,8 ± 0,6	41,0 ± 0,6*	40,1 ± 0,6*	40,6 ± 0,6*
4	44,7 ± 0,7	43,4 ± 0,6	42,0 ± 0,6	39,9 ± 0,6*	38,5 ± 0,6*	39,3 ± 0,6*
5	44,5 ± 0,7	43,0 ± 0,6	41,5 ± 0,5*	39,1 ± 0,6*	36,8 ± 0,7*	38,1 ± 0,7*
6	44,5 ± 0,7	43,1 ± 0,6	41,4 ± 0,5*	38,6 ± 0,6*	35,5 ± 0,8*	37,1 ± 0,8*
7	44,3 ± 0,7	43,1 ± 0,7	41,3 ± 0,5*	38,2 ± 0,6*	34,8 ± 0,9*	36,4 ± 1,0*
8	45,2 ± 0,6	46,3 ± 0,7	41,9 ± 0,5*	38,8 ± 0,6	34,7 ± 1,0*	36,5 ± 1,1*

Các giá trị thể hiện giá trị trung bình ±SEM cho dữ liệu từ 8 con vật theo thời gian cho mỗi nhóm

*p<0,05, so với chất mang; phân tích ANOVA RM hai yếu tố, kiểm định so sánh nhiều cặp Tukey

Bảng 9: Tác dụng của hợp chất 1 đối với các nồng độ glucoza trong máu (mg/dL) trong quá trình OGTT sau 8 ngày điều trị

		Thời gian sau thử nghiệm glucoza (phút)						
Điều trị	Liều lượng (nmol/kg)	0	30	60	90	120	Tổng AUC (mg/dL/120 phút)	Delta AUC (mg/dL/120 phút)
Chất mang	NA	148 ±6	227 ±15	272 ±12	206 ±9	209 ±13	26492± 1232	8702± 1082
Hợp chất 1	0,1	151 ±4	213 ±9	249 ±10	186 ±11	194 ±15	24598 ±849	6433 ±677
	0,3	137 ±6	191 ±11	208±10*	146±8*	160±8*	20786±728*	4379±364*
	1,0	117 ±5	146±9*	203±10*	135±8*	136±*	18285±769*	4319±522*
	3,0	73±11*	129±5*	149±10*	93±9*	101±9*	13703 ± 913*	5004 ±585

Dulaglutide	0,3	76±9*	151±14*	174±17*	104±10*	119±9*	15758 ± 1054*	6668± 1846

Các giá trị thể hiện giá trị trung bình ±SEM cho dữ liệu từ 8 con vật theo thời gian cho mỗi nhóm

* p<0,05, so với chất mang; phân tích ANOVA RM hai yếu tố, kiểm định so sánh nhiều cặp Tukey cho các giá trị glucoza; phân tích ANOVA một yếu tố, kiểm định so sánh nhiều cặp Tukey cho AUC

Bảng 10: Tác dụng của hợp chất 1 đối với các nồng độ insulin (ng/dL) trong quá trình OGTT sau 8 ngày điều trị

		Thời gian sau thử nghiệm glucoza (phút)			
Điều trị	Liều lượng (nmol/kg)	0	30	90	Tổng AUC (mg/dL/120 phút)
Chất mang	NA	5,6 ±1,4	11,3 ±3,0	4,0 ±0,6	711,4± 164,1
Hợp chất 1	0,1	3,0±0,4	6,6±0,8*	2,4±0,2	415,6±44,2
	0,3	2,3±0,2	4,0±0,6*	1,7±0,2	264,3±33,0*
	1,0	1,3±0,2*	2,2±0,1*	1,1±0,2	151,6±12,5*
	3,0	0,4±0,1*	1,2±0,1*	0,4±0,1*	73,9±9,0*
Dulaglutide	0,3	0,6±0,1*	1,7±0,2*	0,7±0,2	108,8±12,3*

Các giá trị thể hiện giá trị trung bình ±SEM cho dữ liệu từ 8 con vật theo thời gian cho mỗi nhóm

* p<0,05, so với chất mang; phân tích ANOVA RM hai yếu tố, kiểm định so sánh nhiều cặp Tukey cho các giá trị glucoza; phân tích ANOVA một yếu tố, kiểm định so sánh nhiều cặp Tukey cho AUC

Bảng 11: Tác dụng của hợp chất 1 đối với các nồng độ glucoza trong máu (mg/dL) sau ăn sau 8 ngày điều trị

Điều trị	Liều lượng (nmol/kg)	Glucoza trong máu (mg/dL)
Chất mang	NA	180 ±5
Hợp chất 1	0,1	164 ±6
	0,3	160 ±5
	1,0	149 ±6
	3,0	105±12*
Dulaglutide	0,3	114±13*

Các giá trị thể hiện giá trị trung bình ±SEM cho dữ liệu từ 8 con vật theo thời gian cho mỗi nhóm

* p<0,05, so với chất mang; phân tích ANOVA một yếu tố, kiểm định so sánh nhiều cặp Tukey

Giảm cân ở chuột béo phì do chế độ ăn (DIO) kết hợp với liraglutide: Cho liều mạn tính

Hợp chất 1 được đánh giá về khả năng làm giảm lượng thu nạp thức ăn và cân nặng và cải thiện cân bằng nội môi glucoza kết hợp với chất chủ vận GLP-1 tác dụng kéo dài khi cho liều lặp lại ở chuột DIO C57B1/6 đực trong khoảng thời gian 9 ngày.

Chuột DIO C57BL/6N đực (20 tuần tuổi, được cho ăn chế độ ăn có lượng chất béo cao trong 14 tuần) được Taconic Laboratory cung cấp. Chuột được nhốt một con một chuồng trên lớp lót AlphaDri trong phòng được điều khiển nhiệt độ với chu kỳ 12 giờ sáng/tối. Chuột được cho tiếp xúc với nước tùy thích và được duy trì chế độ ăn có hàm lượng chất béo cao (D12492, Research Diet). Các con vật được cho thích nghi với cơ sở trong ít nhất một tuần trước khi bắt đầu thí nghiệm.

Một ngày trước khi cho liều, sử dụng MRI đo thành phần cơ thể chuột và lập nhóm dựa trên cân nặng cơ thể của từng con. Chuột và lượng thu nạp thức ăn được cân vào ngày 0 lúc 3-4 giờ chiều. Các con chuột trong nhóm đơn trị liệu được điều trị bằng chất mang (dPBS, pH 7,2) hoặc liraglutide liều 10 nomol/kg dưới da mỗi ngày một lần, hoặc Hợp chất 1 với liều 0,1, hoặc 1,0 nmol/kg dưới da ba ngày một lần. Các con chuột trong nhóm điều trị kết hợp được điều trị bằng liraglutide (10 nmol/kg) mỗi ngày một lần, và Hợp chất 1 với liều 0,1, hoặc 1,0 nmol/kg ba ngày một lần. Vào ngày 8, sử dụng MRI đo thành phần cơ thể chuột. Vào ngày 9, chuột được cho nhịn đói 5 giờ và được đo glucoza và insulin trong máu khi đói. Các phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng ANOVA một yếu tố hoặc hai yếu tố lặp lại cùng với hậu kiểm định Tukey trên Prism. Tất cả dữ liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± SEM (Hình 9 và Hình 12-17).

Bảng 12: Tác dụng của hợp chất 1, liraglutide, và tổ hợp của hợp chất 1 và liraglutide đối với lượng thu nạp thức ăn (g) hàng ngày trong 9 ngày điều trị.

Điều trị		Hợp chất 1 (nmol/kg)				
		0,1	1,0	n/a	0,1	1,0
	Chất mang	Liraglutide (nmol/kg)				
Ngày	n/a	n/a	n/a	10,0	10,0	10,0
0	2,6±0,1	2,4±0,1	2,3±0,1	2,4±0,1	2,5±0,1	2,8±0,1
1	2,5±0,1	2,0±0,2*	1,2±0,1*	1,1±0,1*	0,8±0,1*	0,5±0,1*
2	2,5±0,1	2,0±0,2	0,8±0,1*	1,1±0,1*	0,7±0,1*	0,2±0,1*
3	2,5±0,1	2,3±0,2	1,5±0,2*	1,5±0,2*	1,2±0,1*^	0,5±0,1*
4	2,6±0,1	2,4±0,1	1,8±0,1*	1,9±0,2*	1,2±0,2*	0,3±0,1*
5	2,4±0,1	2,4±0,1	2,0±0,2	1,9±0,1*	1,3±0,2*^	0,5±0,1*
6	2,8±0,2	2,8±0,1	2,4±0,1	2,2±0,1*	1,5±0,2*^	0,3±0,1*^
7	2,6±0,1	2,6±0,1	2,3±0,1	2,3±0,1	1,6±0,1*	0,3±0,2*^
8	2,9±0,2	2,2±0,1*^	2,3±0,1*	1,8±0,1*	1,4±0,1*	0,5±0,2*^

9	1,8±0,3	2,0±0,1	2,2±0,1	1,7±0,1	1,6±0,2	0,7±0,2*^

Các giá trị thể hiện giá trị trung bình ±SEM cho dữ liệu từ 8 con vật theo thời gian cho mỗi nhóm, ngoại trừ n ==7 khi có ghi chú ^

* p<0,05, so với chất mang; phân tích ANOVA RM hai yếu tố, kiểm định so sánh nhiều cặp Tukey

Bảng 13: Tác dụng của hợp chất 1, liraglutide, và tổ hợp của hợp chất 1 và liraglutide đối với cân nặng cơ thể (g) trong 9 ngày điều trị.

Điều trị		Hợp chất 1 (nmol/kg)				
		0,1	1,0	n/a	0,1	1,0
	Chất mang	Liều lượng (nmol/kg)				
Ngày	n/a	n/a	n/a	10,0	10,0	10,0
-1	46,8±0,5	46,8±0,5	46,8±0,5	46,8±0,5	46,8±0,5	46,8±0,4
0	46,9±0,4	46,8±0,5	46,8±0,5	47,0±0,5	46,8±0,5	47,0±0,4
1	47,0±0,5	46,4±0,5	45,5±0,5	45,6±0,4	44,9±0,5*	44,3±0,4*
2	46,8±0,5	45,9±0,5	44,1±0,4*	44,4±0,5*	43,7±0,5*	42,4±0,5*
3	46,6±0,5	45,8±0,5	43,5±0,5*	43,9±0,6*	43,0±0,5*	40,9±0,4*
4	46,5±0,4	45,7±0,5	43,2±0,4*	43,6±0,6*	42,1±0,4*	39,1±0,5*
5	46,4±0,5	45,5±0,6	42,7±0,4*	43,3±0,6*	41,2±0,5*	37,4±0,4*
6	46,8±0,5	46,0±0,6	43,0±0,5*	43,2±0,6*	40,7±0,5*	35,9±0,5*
7	46,7±0,5	45,8±0,6	42,9±0,5*	43,2±0,7*	40,3±0,5*	34,4±0,4*
8	46,6±0,5	45,5±0,6	42,6±0,5*	42,4±0,6*	39,5±0,4*	33,2±0,5*
9	47,0±0,6	45,8±0,6	43,1±0,5*	42,6±0,6*	39,4±0,4*	32,5±0,5*

Các giá trị thể hiện giá trị trung bình ±SEM cho dữ liệu từ 8 con vật theo thời gian cho mỗi nhóm

* p<0,05, so với chất mang; phân tích ANOVA RM hai yếu tố, kiểm định so sánh nhiều cặp Tukey

Bảng 14: So sánh liều kết hợp hợp chất 1 và liraglutide đối với phần trăm thay đổi cân nặng so với tổng thay đổi cân nặng vào ngày 9 khi sử dụng riêng hợp chất 1 hoặc liraglutide.

Điều trị	Hợp chất 1 (nmol/kg)			Tổng Hợp chất 1 (0,1) và Lira (10,0)	Hợp chất 1 (nmol/kg)			Tổng Hợp chất 1 (1,0) và Lira (10,0)
	0,1	n/a	0,1		1,0	n/a	1,0	
Ngày	Liraglutide (nmol/kg)				Liraglutide (nmol/kg)			
	n/a	10,0	10,0		n/a	10,0	10,0	
9	-2,2 ±0,7	-9,3 ±1,1	-15,8±0,8*	-11,5±1,1*	-7,8 ±1,1	-9,3 ±1,1	-30,8±0,9*	-17,1±1,9*

Các giá trị thể hiện giá trị trung bình ±SEM cho dữ liệu từ 8 con vật theo thời gian cho mỗi nhóm

* p<0,05, tổng hợp chất 1và liraglutide so với liều kết hợp; phân tích ANOVA một yếu tố, kiểm định so sánh nhiều cặp Tukey

Bảng 15: Tác dụng của hợp chất 1, liraglutide, và tổ hợp của hợp chất 1 và liraglutide đối với glucoza, insulin trong máu (mg/dL) và HOMA-IR trong 9 ngày điều trị.

		Hợp chất 1 (nmol/kg)				
		0,1	1,0	n/a	0,1	1,0
	Chất mang	Liraglutide (nmol/kg)				
	n/a	n/a	n/a	10,0	10,0	10,0
Glucoza trong máu sau ăn (mg/dL)	140,8±11,7	132,6±2,9	126,4±5,1	112,5±4,3	112,9±6,7	79,4±10,1*
Glucoza trong máu khi đói (mg/dL)	173,8±7,8	149,8±4,9	133,1±6,6*	124,1±4,9*	109,8±4,3*	68,6±7,7*
Insulin khi đói (ng/mL)	7,2±1,1	8,1±1,1	5,8±0,9	3,9±0,6*	1,9±0,3*	0,5±0,1*
HOMA-IR	92,1±18,6	86,4±10,7	54,7±9,2	34,8±6,0*	14,5±2,6*	2,9±0,6*

Các giá trị thể hiện giá trị trung bình ±SEM cho dữ liệu từ 8 con vật theo thời gian cho mỗi nhóm

* $p<0,05$, so với chất mang; phân tích ANOVA một yếu tố, kiểm định so sánh nhiều cặp Tukey

Bảng 16: Tác dụng của hợp chất 1, liraglutide, và tổ hợp của hợp chất 1 và liraglutide đối với thành phần cơ thể (g) được đo bằng MRI sau 8 ngày điều trị.

Điều trị	Chất mang	Hợp chất 1 (nmol/kg)				
		0,1	1,0	n/a	0,1	1,0
		Liraglutide (nmol/kg)				
	n/a	n/a	n/a	10,0	10,0	10,0
Mỡ (g) Ngày 1	18,6±0,4	18,6±0,4	18,8±0,6	18,2±0,5	18,1±0,6	18,1±0,7
Mỡ (g) Ngày 8	18,9±0,4	18,3±0,5	16,1±0,8*	15,6±0,5*	13,3±0,4*	9,3±0,7*
Nạc (g) Ngày 1	26,3±0,4	26,3±0,4	26,1±0,7	26,6±0,5	26,7±0,5	27,0±0,6
Nạc (g) Ngày 8	25,9±0,5	25,4±0,3	24,7±0,6	25,0±0,5	24,4±0,4	22,1±0,4*

Các giá trị thể hiện giá trị trung bình ±SEM cho dữ liệu từ 8 con vật theo thời gian cho mỗi nhóm

* $p<0,05$, so với chất mang; phân tích ANOVA một yếu tố, kiểm định so sánh nhiều cặp Tukey

Bảng 17: Tác dụng của hợp chất 1, liraglutide, và tổ hợp của hợp chất 1 và liraglutide đối với thành phần cơ thể (%) được đo bằng MRI sau 8 ngày điều trị.

Điều trị	Chất mang	Hợp chất 1 (nmol/kg)				
		0,1	1,0	n/a	0,1	1,0
		Liraglutide (nmol/kg)				
	n/a	n/a	n/a	10,0	10,0	10,0
Mỡ (%) Ngày 1	39,0 ±0,8	39,1 ±0,6	39,4 ±1,3	38,3 ±0,9	38,1 ±1,1	38,1 ±1,3

Mỡ (%) Ngày 8	39,9 ±0,8	39,6 ±0,6	37,3 ±1,6	36,2 ±0,9	33,4±0,9*	27,7±1,7*
Nạc (%) Ngày 1	55,3 ±0,8	55,2 ±0,6	54,9 ±1,3	56,0 ±1,0	56,0 ±1,2	56,8 ±1,3
Nạc (%) Ngày 8	54,7 ±0,7	55,1 ±0,6	57,4 ±1,5	58,1 ±0,9	61,2±1,0*	66,3±1,7*

Các giá trị thể hiện giá trị trung bình ±SEM cho dữ liệu từ 8 con vật theo thời gian cho mỗi nhóm

* $p<0,05$, so với chất mang; phân tích ANOVA một yếu tố, kiểm định so sánh nhiều cặp Tukey

Ví dụ 109: Tác dụng của hợp chất 1 đơn liều đối với lượng thu nạp thức ăn và cân nặng cơ thể ở chuột Sprague Dawley

Hợp chất 1 được đánh giá về khả năng giảm lượng thu nạp thức ăn và cân nặng cơ thể ở chuột Sprague-Dawley sau khi sử dụng đơn liều. Các con vật được Charles River Labs (Wilmington, MA) cung cấp với cân nặng 200-225 g và được sử dụng trong một tuần sau khi cung cấp. Mỗi con được cho vào một chuồng trên lớp lót khô alpha và trang bị thêm ống nhựa trong phòng được điều khiển nhiệt độ với chu kỳ 12 giờ sáng/tối. Chúng được cho tiếp xúc với nước tùy thích và được cho ăn theo chế độ dành cho loài gặm nhấm trong phòng thí nghiệm; PicoLab® Rodent Diet 20, 5K75* được chứng nhận chiếu xạ (được cung cấp từ Purina Mills, St. Louis, MO qua ASAP Quakertown, PA). Cân nặng của mỗi con chuột được ghi lại trước khi cho liều.

Một ngày trước khi cho liều, chuột được lập nhóm thành các đoàn hệ gồm 8 con dựa trên cân nặng cơ thể của từng con. Ngày hôm sau, các con chuột được cân và được điều trị bằng chất mang (dPBS, pH 7,2), Hợp chất 1 với liều 0,1, 0,3, 1,0, hoặc 3,0 nmol/kg hoặc dulaglutide liều 0,3 nmol/kg dưới da. Trọng lượng cơ thể và lượng thu nạp thức ăn được đo lúc 1, 2 và và 3 ngày sau khi cho liều và tỷ lệ phần trăm giảm cân và giảm lượng thu nạp thức ăn được tính toán. Các phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng kỹ thuật ANOVA lặp lại hai yếu tố cùng hậu kiểm định Tukey trên Prism. Tất cả dữ liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± SEM (Bảng 18-20).

Bảng 18: Tác dụng của hợp chất 1 đơn liều đối với lượng thu nạp thức ăn hàng ngày và tổng lượng thức ăn tiêu thụ trong 3 ngày ở chuột Sprague Dawley.

Điều trị	Liều lượng (nmol/kg)	Ngày 0	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Tổng lượng thức ăn tiêu thụ
Chất mang		26,7 ± 0,7	28,6 ± 1,0	29,4 ± 0,7	29,7 ± 0,8	87,7 ± 1,6
Hợp chất 1	0,1	25,9 ± 1,0	27,6 ± 1,0	29,1 ± 1,0	29,1 ± 1,0	85,7 ± 2,7
	0,3	24,3 ± 0,7	25,8 ± 1,1	27,2 ± 1,3	27,9 ± 0,9	80,9 ± 2,7
	1	27,0 ± 1,1	23,7 ± 0,6*	25,0 ± 2,0*	27,1 ± 0,9	75,8 ± 3,2*
	3	27,0 ± 0,8	19,6 ± 1,4*	19,1 ± 1,0*	23,6 ± 1,0*	62,3 ± 2,5*

Dulaglutide	0,3	26,6 ± 0,8	27,3 ± 1,2	30,0 ± 0,7	30,1 ± 0,7	87,4 ± 2,0

Các giá trị thể hiện giá trị trung bình ±SEM cho dữ liệu từ 8 con vật theo thời gian cho mỗi nhóm

* p<0,05, so với chất mang; phân tích ANOVA một yếu tố, kiểm định so sánh nhiều cặp Dunnett cho tổng lượng thức ăn tiêu thụ; phân tích ANOVA hai yếu tố, kiểm định so sánh nhiều cặp Tukey cho lượng thức ăn tiêu thụ hàng ngày

Bảng 19: Tác dụng của hợp chất 1 đơn liều đối với cân nặng cơ thể tuyệt đối trong 3 ngày ở chuột Sprague Dawley.

Điều trị	Liều lượng (nmol/kg)	Ngày -1	Ngày 0	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3
Chất mang		263,9 ± 4,9	271,6 ± 4,7	281,2 ± 5,0	289,5 ± 5,3	299,0 ± 5,9
Hợp chất 1	0,1	266,0 ± 2,3	274,1 ± 2,9	284,3 ± 2,7	293,3 ± 2,8	301,4 ± 2,8
	0,3	264,9 ± 3,6	270,8 ± 3,8	278,2 ± 4,5	285,9 ± 4,8	294,3 ± 4,9
	1	266,5 ± 3,6	276,1 ± 3,7	280,9 ± 3,7	287,1 ± 4,5	294,3 ± 4,1
	3	265,1 ± 3,6	272,7 ± 3,4	274,8 ± 3,8	275,7 ± 3,4*	282,1 ± 3,7*
Dulaglutide	0,3	264,0 ± 3,1	270,3 ± 3,0	280,8 ± 4,2	292,47 ± 3,6	299,0 ± 3,3

Các giá trị thể hiện giá trị trung bình ±SEM cho dữ liệu từ 8 con vật theo thời gian cho mỗi nhóm

* p<0,05, so với chất mang; phân tích ANOVA hai yếu tố, kiểm định so sánh nhiều cặp Tukey

Bảng 20: Tác dụng của hợp chất 1 đơn liều đối với thay đổi cân nặng cơ thể trong 3 ngày ở chuột Sprague Dawley.

Điều trị	Liều lượng (nmol/kg)	Ngày -1	Ngày 0	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3
Chất mang		-7,7 ± 1,5	0,0 ± 0,0	9,6 ± 1,5	18,0 ± 1,4	27,4 ± 1,8
Hợp chất 1	0,1	-8,2 ± 0,9	0,0 ± 0,0	10,2 ±1,6	19,1 ± 1,0	27,3 ± 1,4
	0,3	-5,9 ± 0,9	0,0 ± 0,0	7,3 ± 1,1	15,1 ± 1,1	23,4 ± 1,7
	1	-9,7 ± 0,8	0,0 ± 0,0	4,7 ± 0,8*	11,0 ± 1,4*	18,2 ± 1,0*
	3	-7,6 ± 1,4	0,0 ± 0,0	2,2 ± 1,6*	3,0 ± 1,5*	9,4 ± 1,9*
Dulaglutide	0,3	-6,3 ± 0,8	0,0 ±0,0	10,6 ± 1,6	22,5 ± 0,8	28,7 ±0,6

Các giá trị thể hiện giá trị trung bình ±SEM cho dữ liệu từ 8 con vật theo thời gian cho mỗi nhóm

* p<0,05, so với chất mang; phân tích ANOVA một yếu tố, kiểm định so sánh nhiều cặp Dunnett cho thay đổi thuần cân nặng cơ thể vào ngày 3; phân tích ANOVA hai yếu tố, kiểm định so sánh nhiều cặp Tukey cho thay đổi cân nặng cơ thể hàng ngày

Ví dụ 110: Tác dụng của hợp chất 1, khi sử dụng riêng hoặc khi kết hợp với liraglutide ở khỉ vàng béo phì

Hợp chất 1 được đánh giá về khả năng giảm lượng thu nạp thức ăn ở khỉ vàng béo phì. Hiệu quả bổ sung quan sát được khi liraglutide được cùng sử dụng với liều hữu hiệu hợp chất 1 cũng được đánh giá. Trước tiên, nghiên cứu về phạm vi liều rút gọn được tiến

hành để xác định liều liraglutide sẽ được sử dụng trong quá trình cùng sử dụng. Sáu con khỉ được điều trị bằng dung dịch nước muối qua đường dưới da mỗi ngày một lần trong ba tuần Đo lượng thu nạp thức ăn hàng ngày và lượng thu nạp thức ăn thời điểm khởi điểm được đặt là lượng thu nạp trung bình hàng ngày trong 3 tuần điều trị bằng chất mang. Sáu con khỉ sau đó được chia làm 2 nhóm; 0,01 mg/kg (n=3) và 0,02 mg/kg (n=3). Mỗi con được nhận một liều liraglutide dưới da hàng ngày trong 1 tuần để xác định tác dụng đối với lượng thu nạp thức ăn so với thời điểm khởi điểm và để biết liều dung nạp tối đa. Lượng thu nạp thức ăn cũng được đo trong 2 tuần sau khi ngừng điều trị bằng liraglutide. Tất cả dữ liệu được trình bày dưới dạng lượng thu nạp thức ăn trung bình hàng tuần ± SEM (Hình 10).

Mười (10) con khỉ vàng béo phì được sử dụng để đánh giá hiệu lực của hợp chất 1. Sau giai đoạn 2 tuần sau thời điểm khởi điểm, hợp chất 1 được cho sử dụng dưới da mỗi ngày một lần trong 4 tuần. Các con khỉ được cho liều 0,01 mg/kg trong 7 ngày, sau đó 0,03 mg/kg trong 7 ngày, sau đó 0,015 mg/kg trong 9 ngày, và cuối cùng cho liều sử dụng đồng thời 0.015 mg/kg hợp chất 1 kết hợp với 0,01 mg/kg liraglutide trong 5 ngày. Theo dõi lượng thu nạp thức ăn hàng ngày và đo cân nặng cơ thể hàng tuần. Nồng độ glucoza, insulin, cholesterol toàn phần, HDL, LDL, ALT và AST được đánh giá ở thòi điểm khởi điểm, sau khi điều trị bằng hợp chất 1 và sau khi điều trị kết hợp. Tất cả dữ liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± SEM (Bảng 21-22 và Hình 11 và 12).

Bảng 21: Tác dụng của hợp chất 1 khi sử dụng kết hợp với liraglutide đối với lượng thu nạp thức ăn ở khỉ vàng béo phì

Ngày điều trị	Hợp chất 1 (mg/kg)			
	0,01	0,03	0,015	0,015 + liraglutide
2 tuần trước thời điểm khởi điểm	190 ±15			
1	160 ±9	149 ±12	117 ±18	50 ±11
2	167 ±19	149 ±14	72 ±14	13 ±5
3	175 ±13	94 ±16	72 ±12	15 ±10
4	196 ±14	181 ±13	86 ±14	34 ±17
5	166 ±15	101 ±12	77 ±8	34 ±12
6	180 ±14	99 ±27	91 ±12	
7	146 ±12	73 ±11	75 ±4	
8			97 ±12	
9			118 ±21	

Bảng 22: Tác dụng của hợp chất 1 khi sử dụng kết hợp với liraglutide đối với cân nặng cơ thể ở khỉ vàng béo phì

Điều trị	Liều lượng (mg/kg)	Cân nặng cơ thể (kg)
Trước khi cho liều	NA	15,8 ±0,9
Hợp chất 1	0,01	15,9 ±0,9
	0,03	15,7 ±0,9
	0,015	15,4±0,8*
Hợp chất 1 + liraglutide	0,015	15,0±0,8*

Các giá trị thể hiện giá trị trung bình ±SEM cho dữ liệu từ 8 con vật cho mỗi nhóm

* $p<0,05$, so với chất mang

phân tích ANOVA RM một yếu tố, kiểm định so sánh nhiều cặp Dunnett

Người có trình độ bình thường trong ngành sẽ hiểu là có thể có những phương án thay đổi so với các phương án được mô tả ở phần trên mà không tách rời ý tưởng chung của sáng chế. Do đó, cần hiểu rằng sáng chế này không bị giới hạn trong các phương án cụ thể được bộc lộ, mà sáng chế dự kiến bao gồm cả các phương án cải biến nhưng vẫn thuộc ý tưởng và phạm vi của sáng chế, như được nêu trong bản mô tả này.

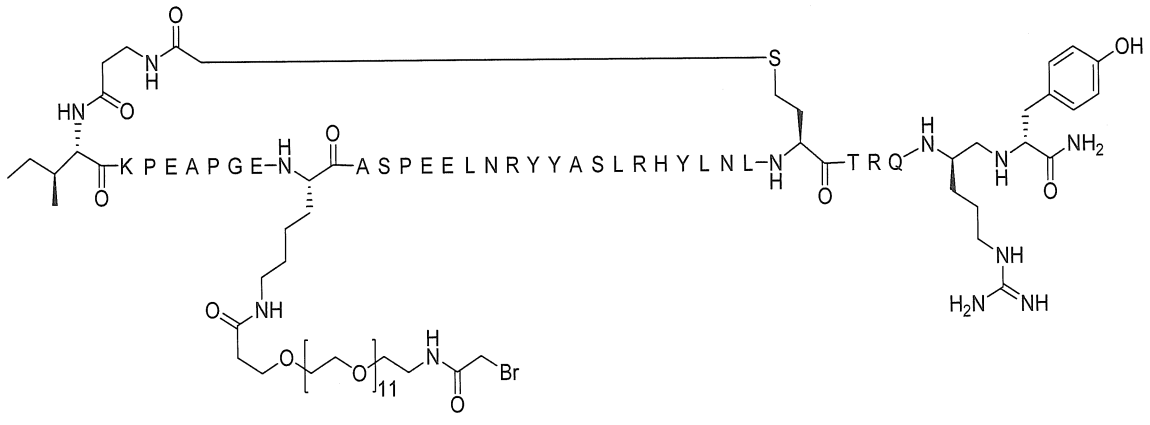
Tất cả các tài liệu được trích dẫn trong tài liệu này đều có trong phần tham khảo.

Các trình tự PYY vòng mẫu hoặc các liên hợp của nó của sáng chế bao gồm:

SỐ ID TRÌNH TỰ: 1

Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(35R,36Y)]-PYY2-36

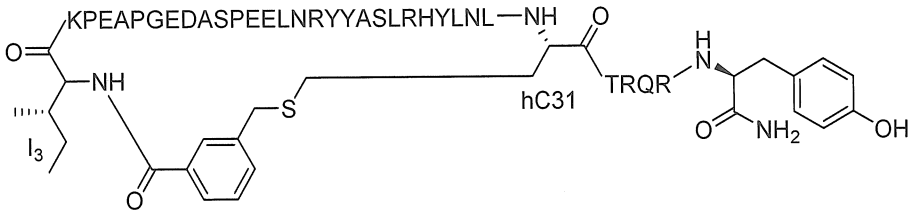
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 2

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$-hC31)]-PYY3-36

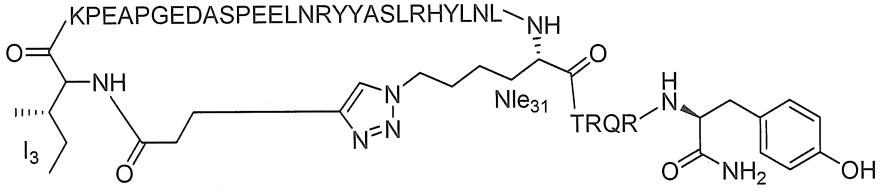
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 3

Tên: [xyclo-(I3-CO- CO(CH$_2$)$_2$triazolyl-Nle31)]-PYY3-36

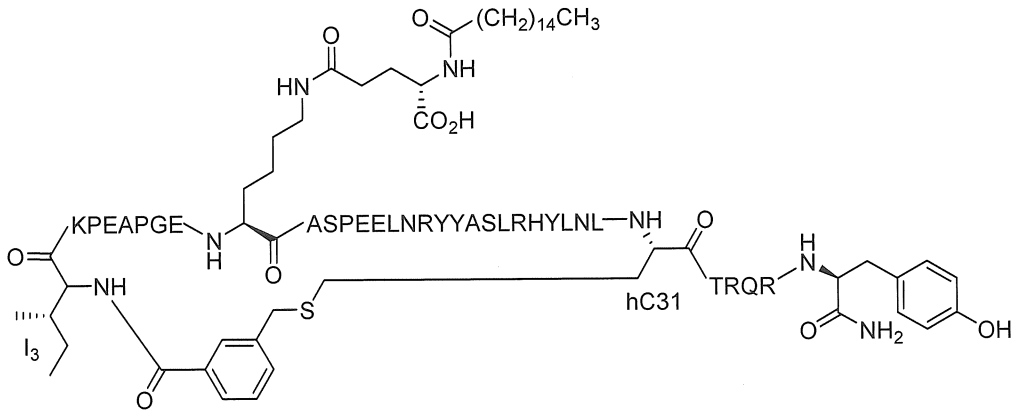
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 4

Tên: [xyclo-(I3-*m*-COPhCH$_2$-hC31), K(γ-Glu-Pal)11]-PYY3-36

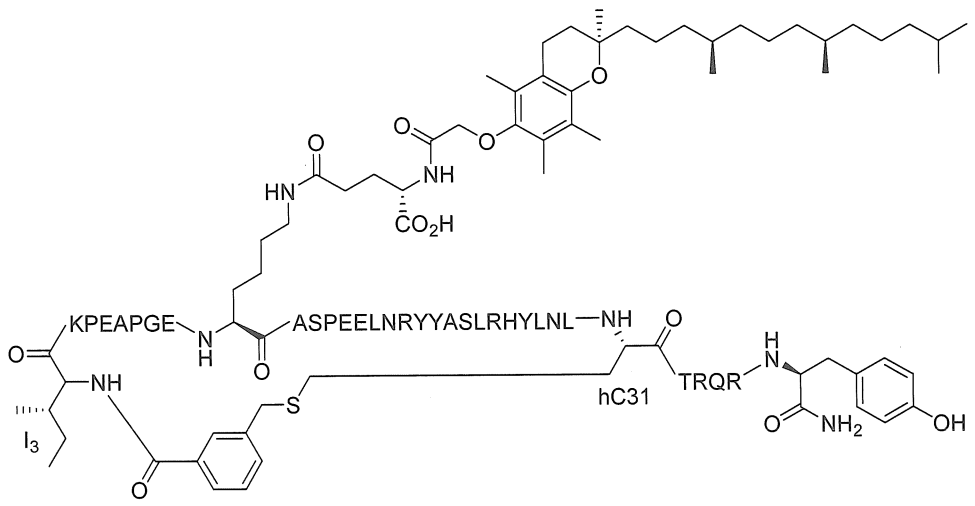
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 5

Tên: [xyclo-(I3-*m*-COPhCH$_2$-hC31), K(γ-Glu-AcVitE)11]-PYY3-36

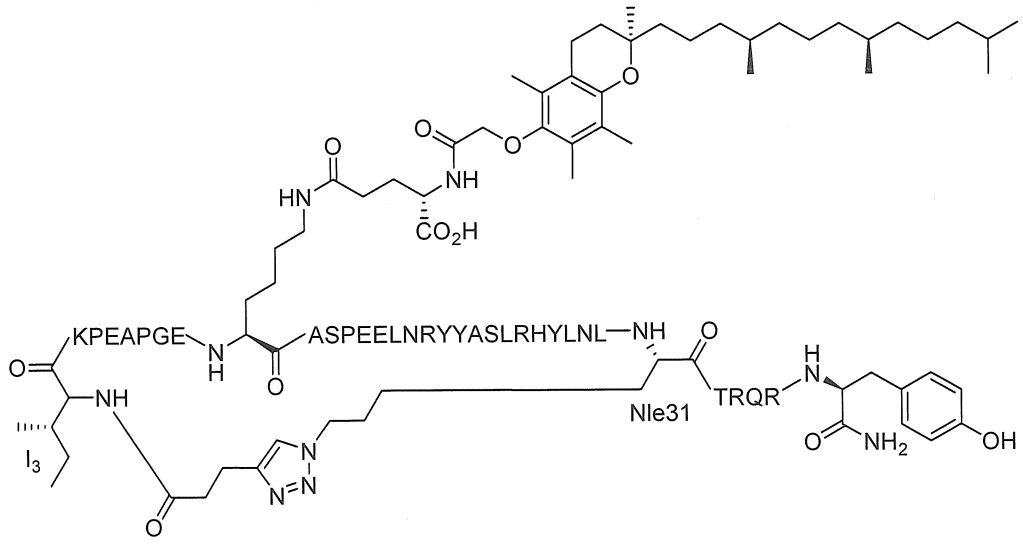
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 6

Tên: [xyclo-(I3-CO(CH_2)$_2$triazolyl-Nle31), K(γ-Glu-AcVitE)11]-PYY3-36

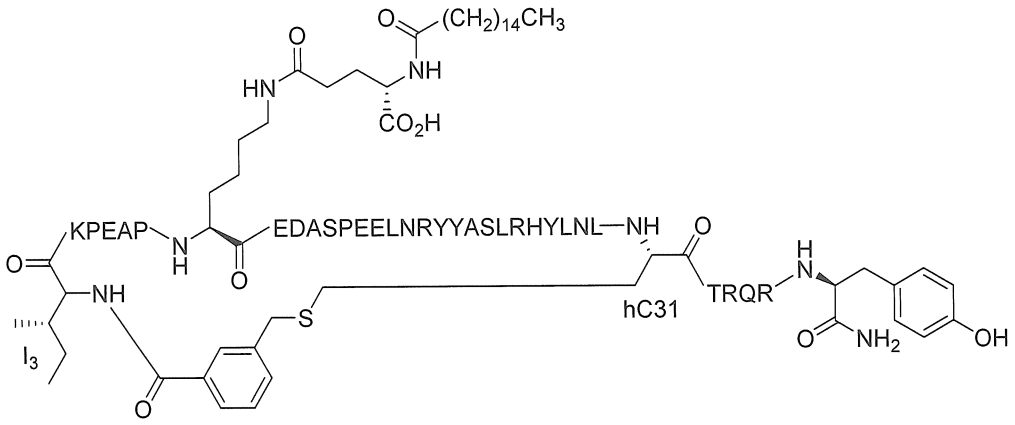
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 7

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH_2- hC31), K(γ-Glu-Pal)9]-PYY3-36

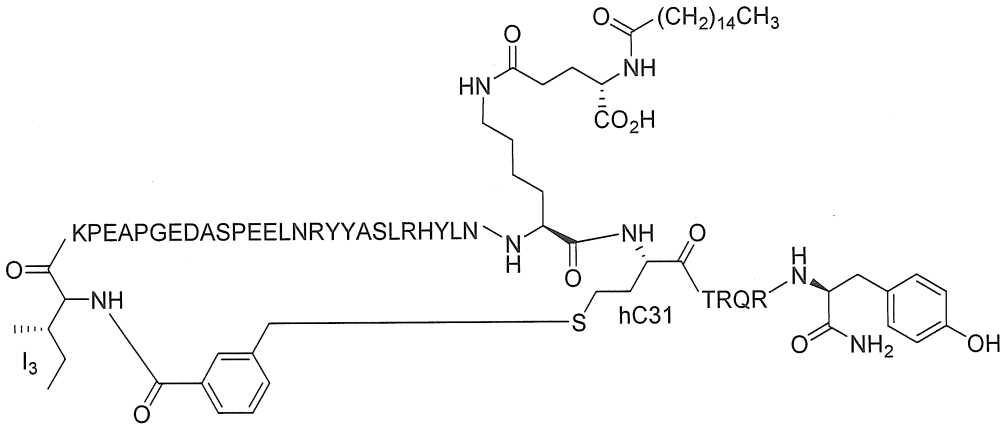
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 8

Tên: [xyclo-(I3-*m*-COPhCH$_2$-hC31), K(γ-Glu-Pal)30]-PYY3-36

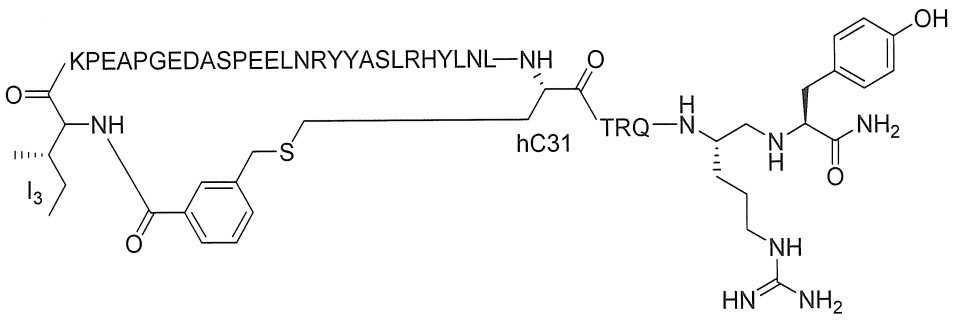
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 9

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), psi-(R35Y36)]-PYY3-36

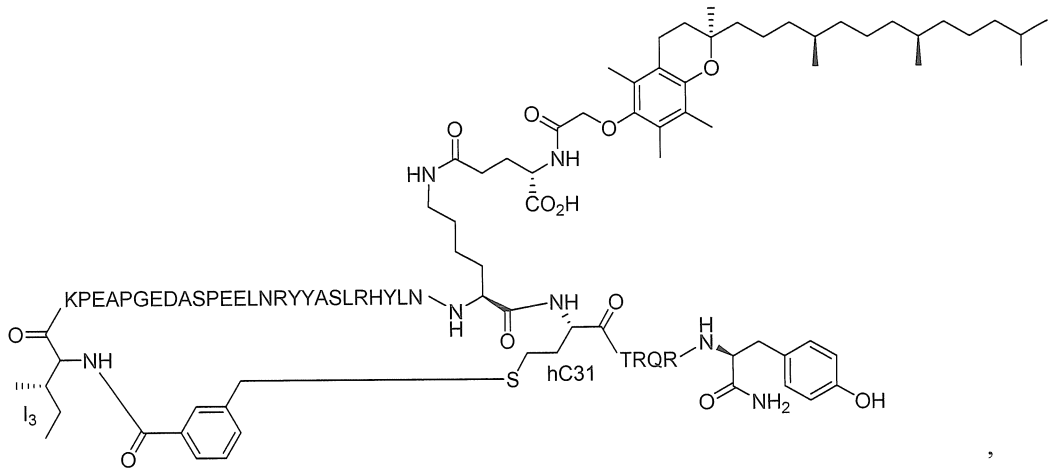
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 10

Tên: [xyclo-(I3-*m*-COPhCH$_2$-hC31), K(γ-Glu-AcVitE)30]-PYY3-36

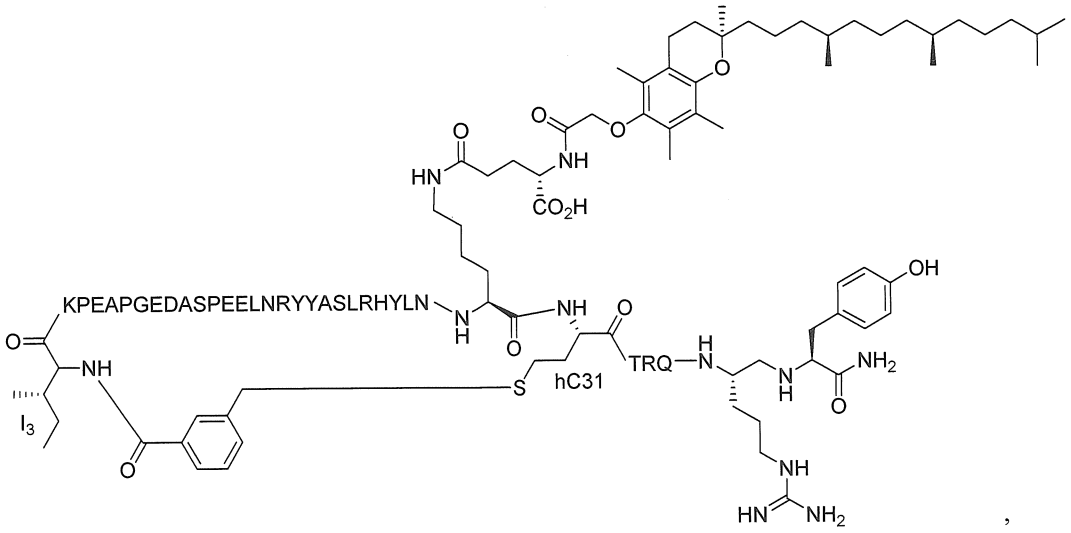
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 11

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K(γ-Glu-AcVitE)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

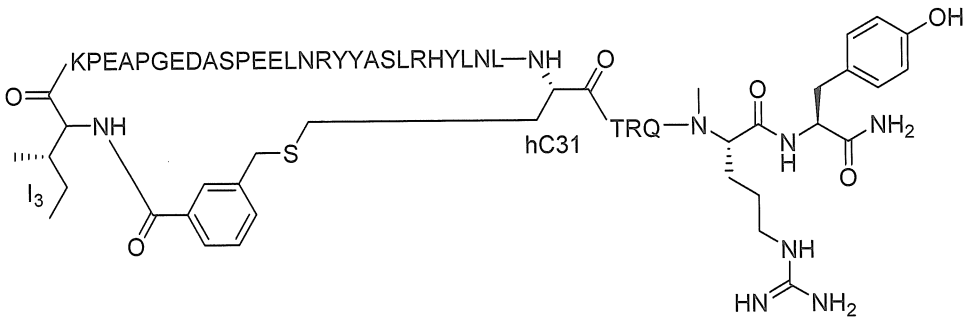
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 12

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), (N-Me-R35)]-PYY3-36

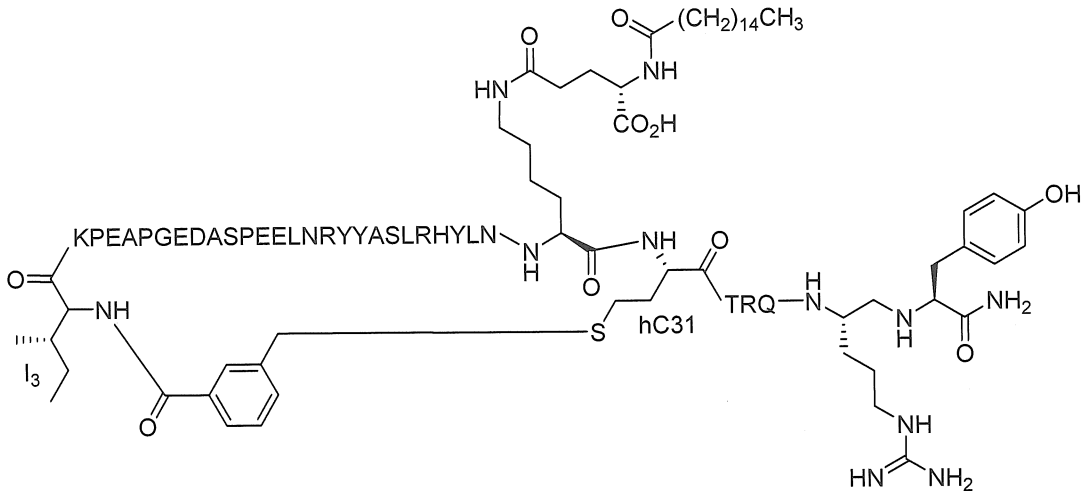
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 13

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

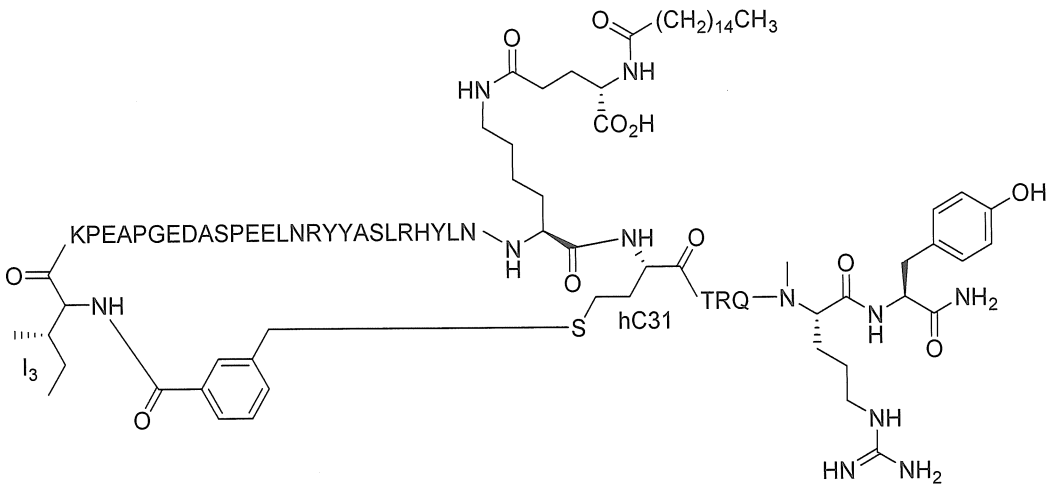
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 14

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K(γ-Glu-Pal)30, (N-Me-R35)]-PYY3-36

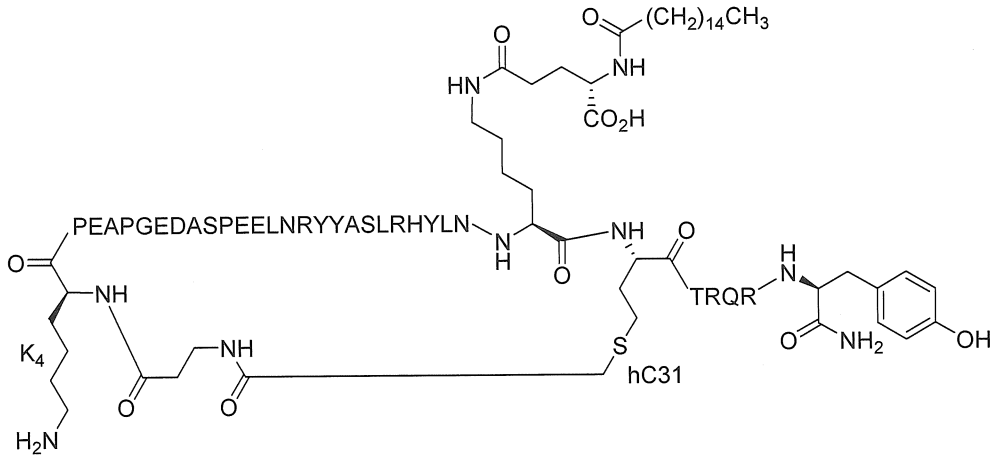
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 15

Tên: [xyclo-(K4-CO$(CH_2)_2$NHCOCH_2-hC31), K(γ-Glu-Pal)30]-PYY4-36

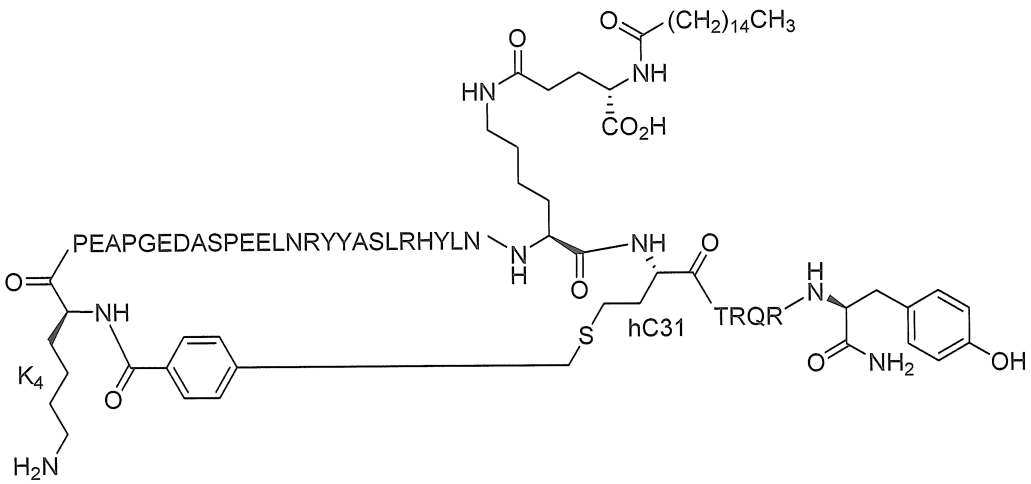
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 16

Tên: [xyclo-(K4- *p*-COPhCH_2- hC31), K(γ-Glu-Pal)30]-PYY4-36

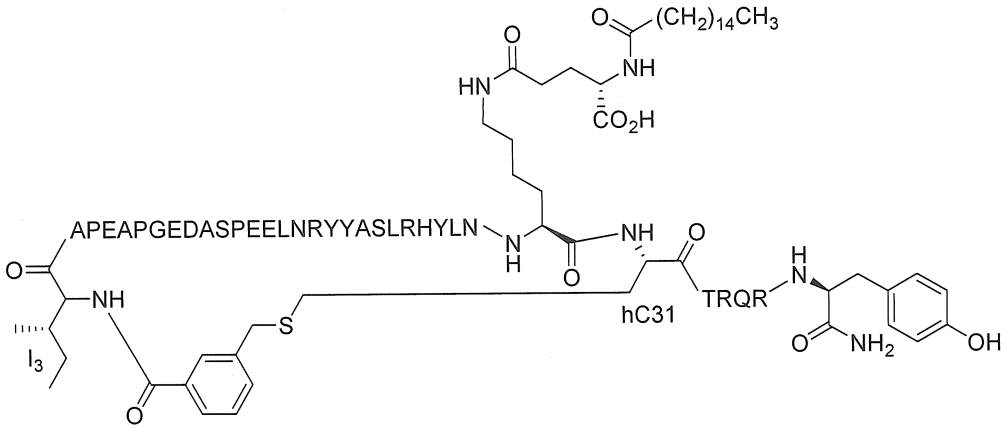
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 17

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), A4, K(γ-Glu-Pal)30]-PYY3-36

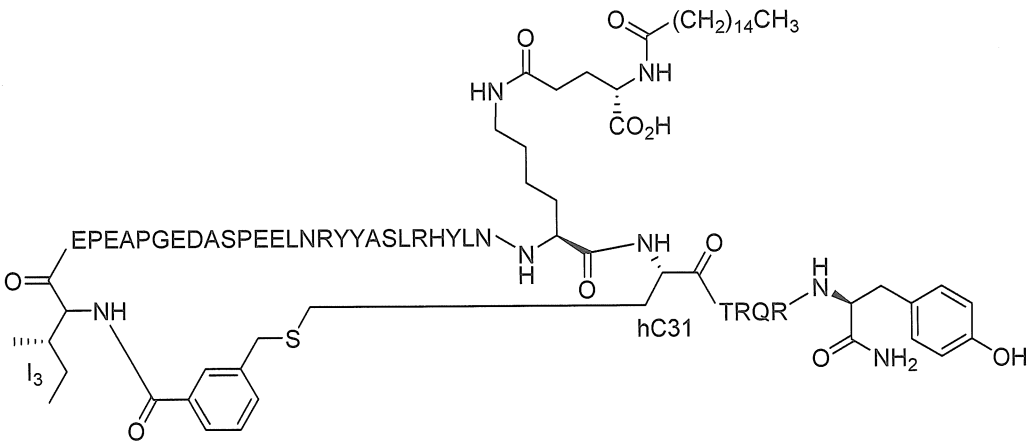
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 18

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), E4, K(γ-Glu-Pal)30]-PYY3-36

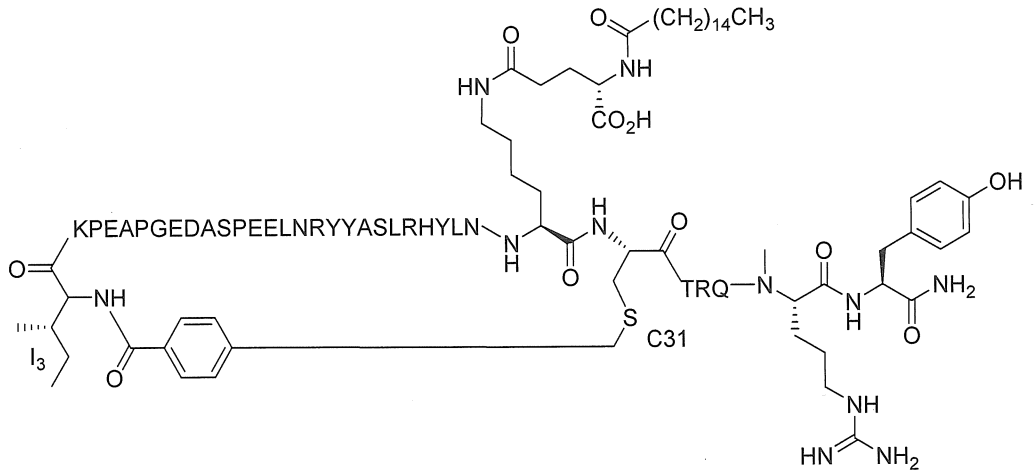
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 19

Tên: [xyclo-(I3- *p*-COPhCH$_2$- C31), K(γ-Glu-Pal)30, (N-Me-R35)]-PYY3-36

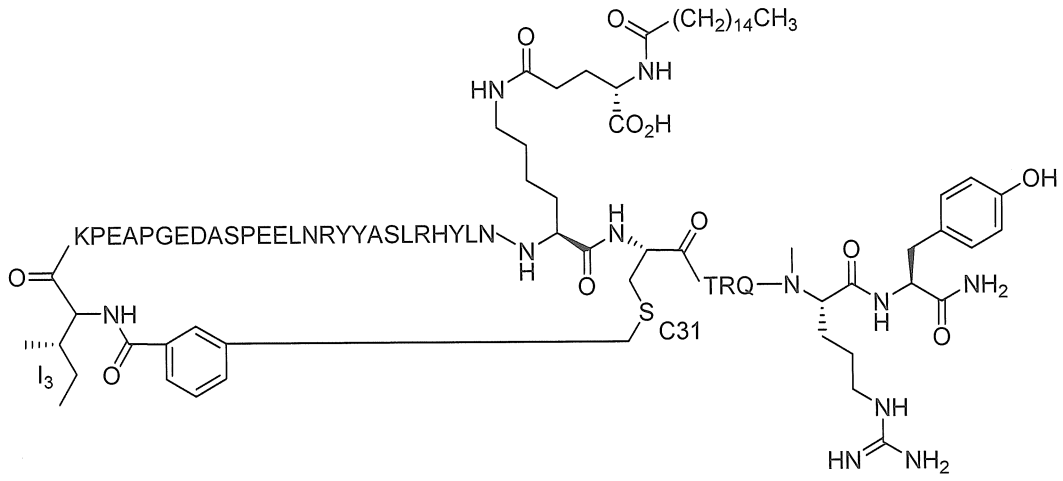
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 20

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- C31), K(γ-Glu-Pal)30, (N-Me-R35)]-PYY3-36

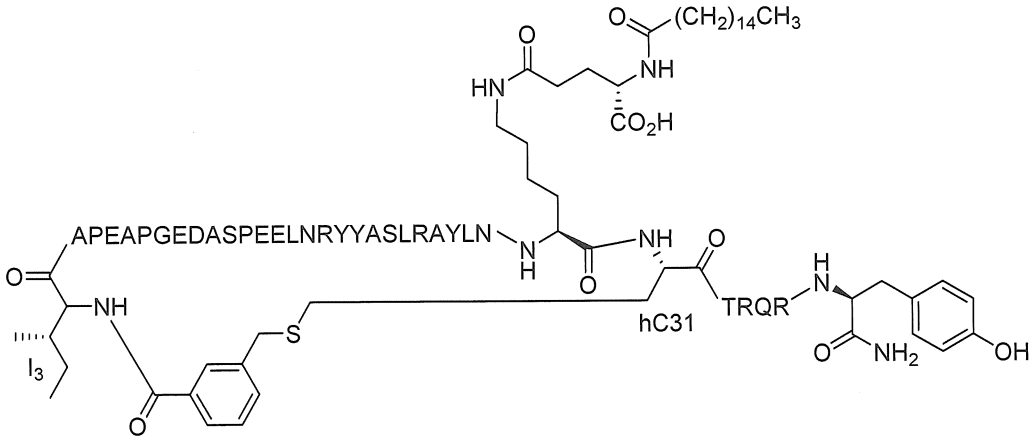
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 21

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), A4, A26, K(γ-Glu-Pal)30]-PYY3-36

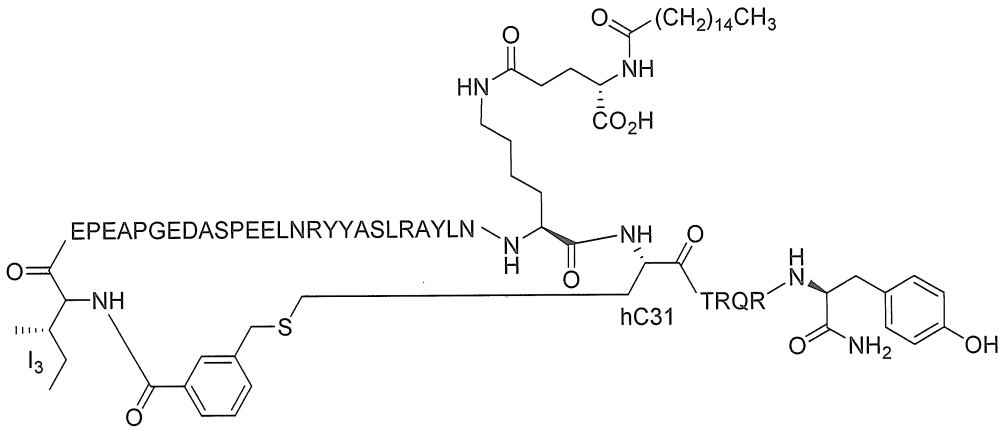
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 22

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), E4, A26, K(γ-Glu-Pal)30]-PYY3-36

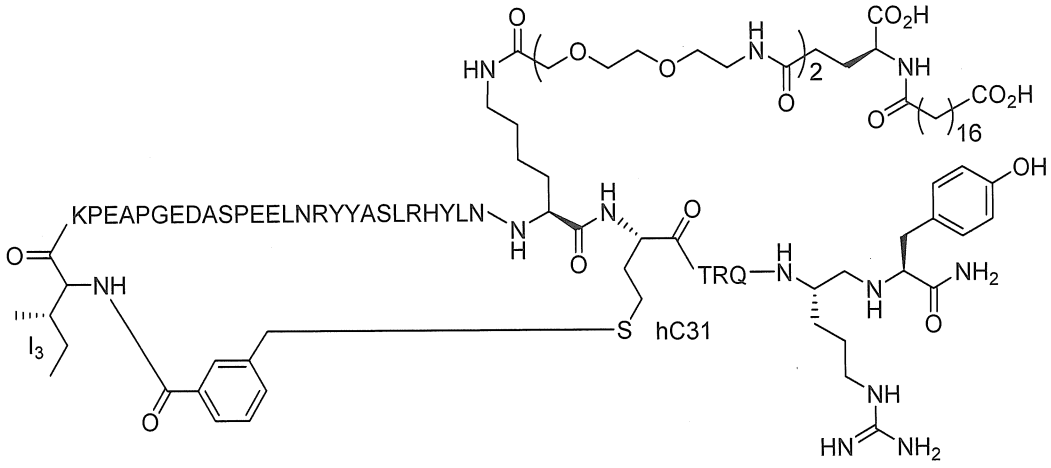
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 23

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K((OEG)$_2$-γ-Glu-COC$_{16}$CO$_2$H)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

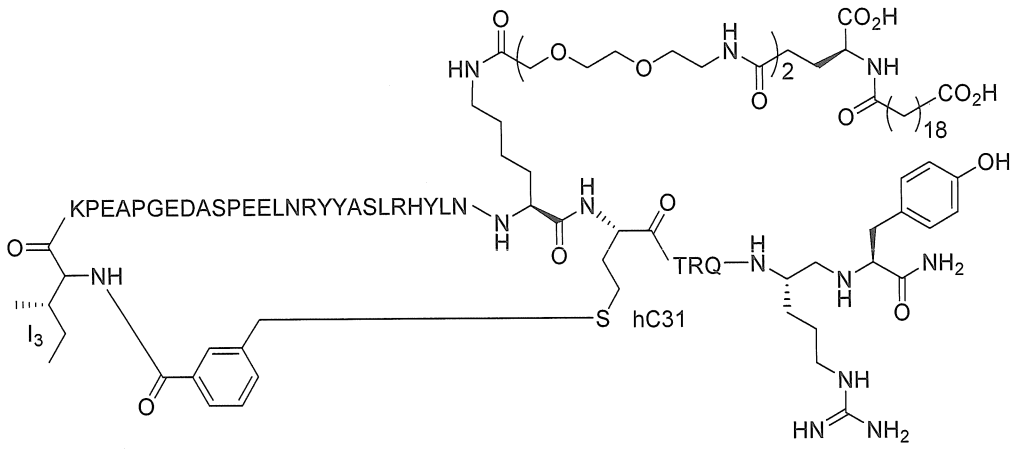
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 24

Tên: [xyclo-(I3-*m*-COPhCH$_2$-hC31), K((OEG)$_2$-γ-Glu-COC$_{18}$CO$_2$H)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

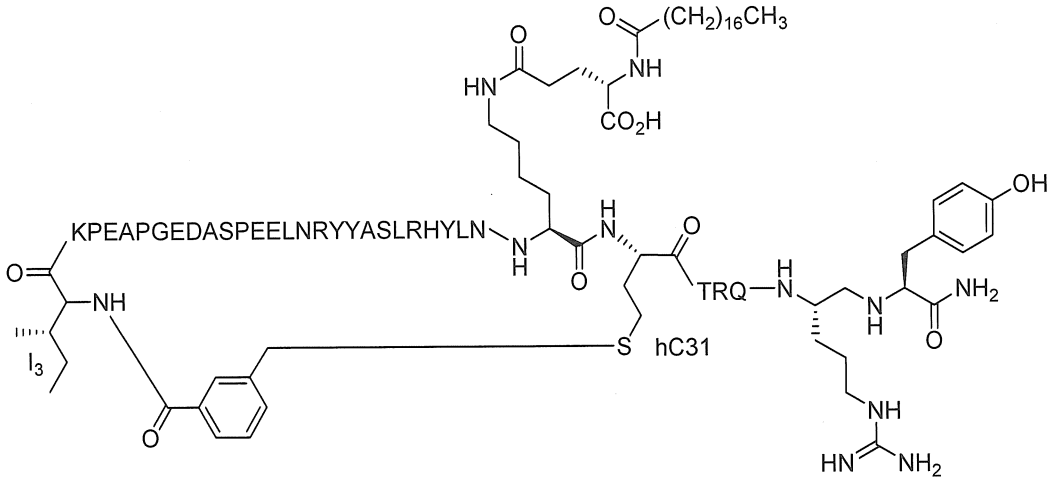
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 25

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K(γ-Glu-Stear)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

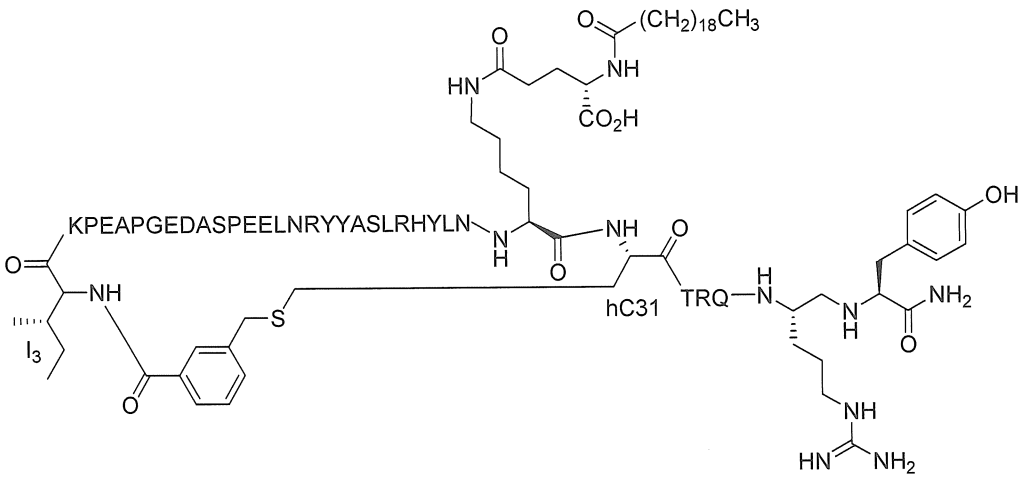
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 26

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K(γ-Glu-Arach)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

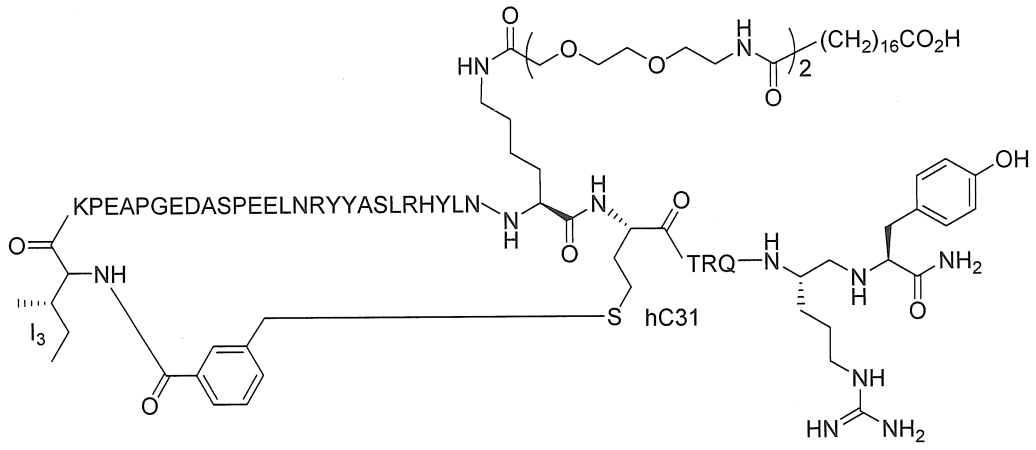
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 27

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K((OEG)$_2$-COC$_{16}$CO$_2$H)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

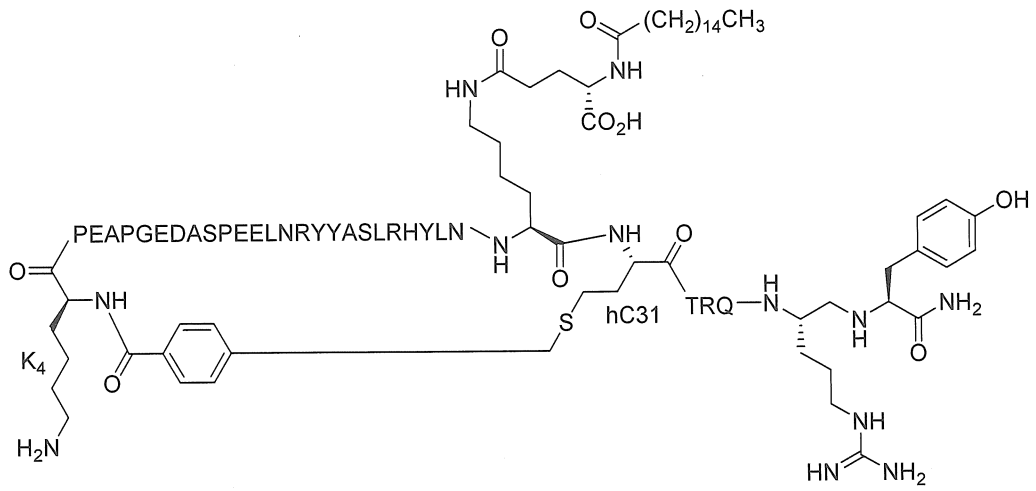
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 28

Tên: [xyclo-(K4- *p*-COPhCH$_2$- hC31), K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY4-36

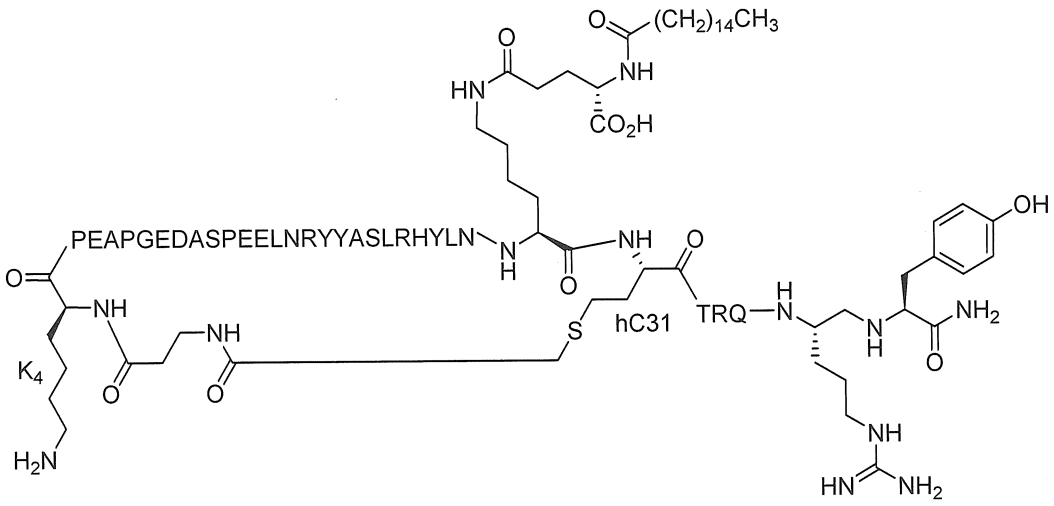
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 29

Tên: [xyclo-(K4-CO- $CO(CH_2)_2NHCOCH_2$- hC31), K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY4-36

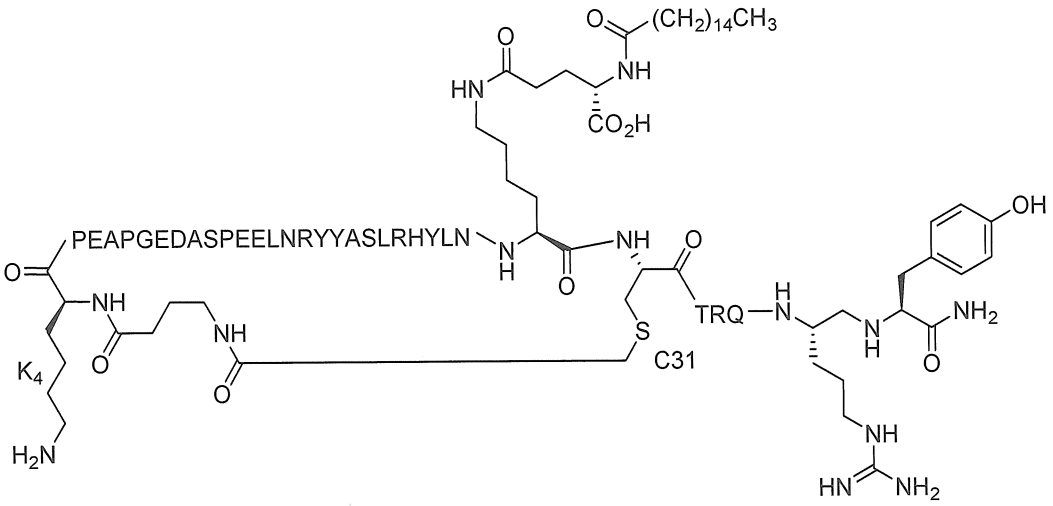
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 30

Tên: [xyclo-(K4-$CO(CH_2)_3NHCOCH_2$-C31), K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY4-36

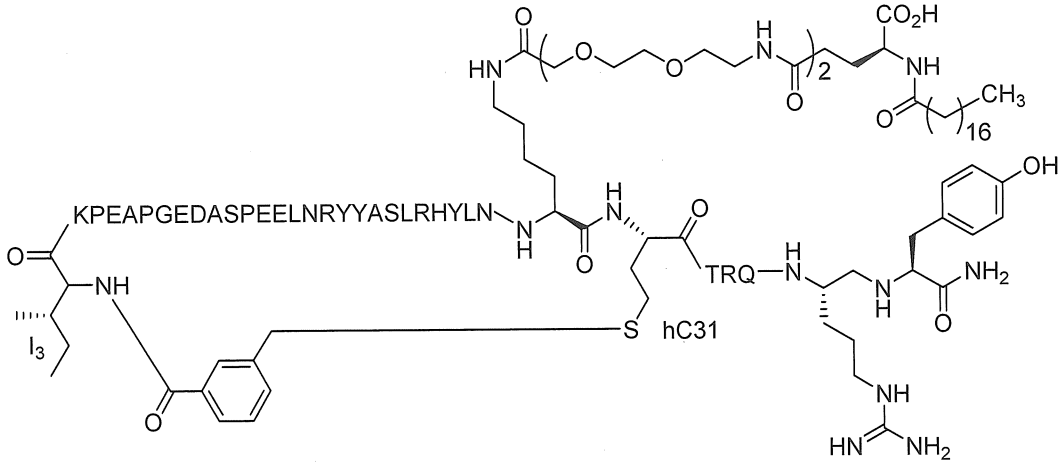
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 31

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K((OEG)$_2$-γ-Glu-Stear)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

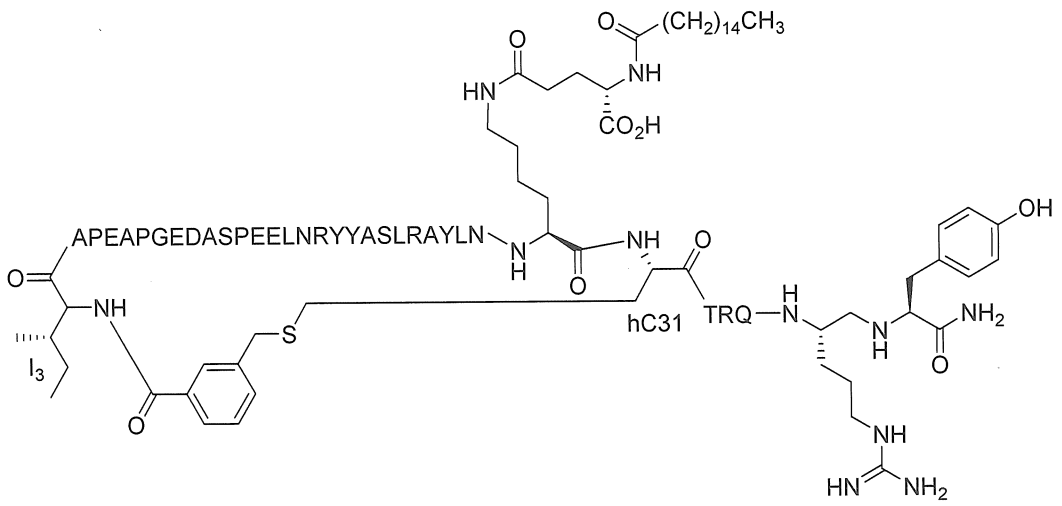
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 32

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), A4, A26, K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

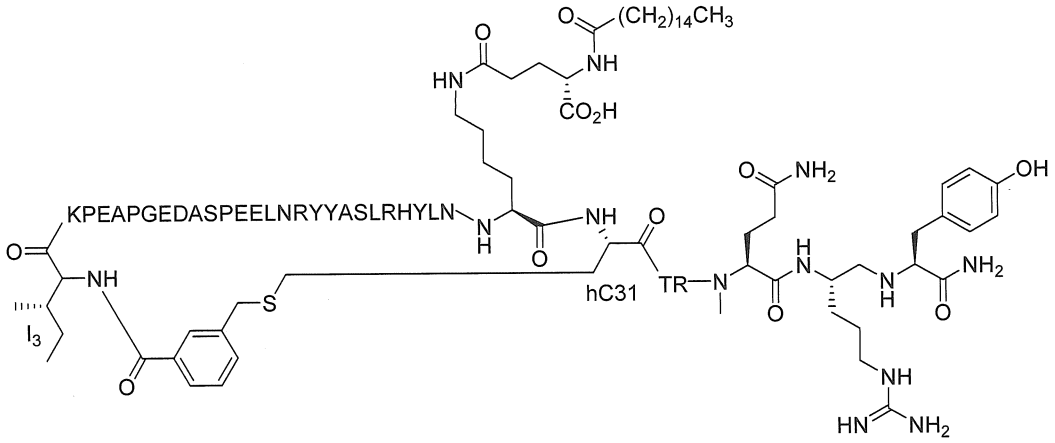
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 33

Tên: [xyclo-(I3-*m*-COPhCH$_2$-hC31), K(γ-Glu-Pal)30, (N-Me-Q34), psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

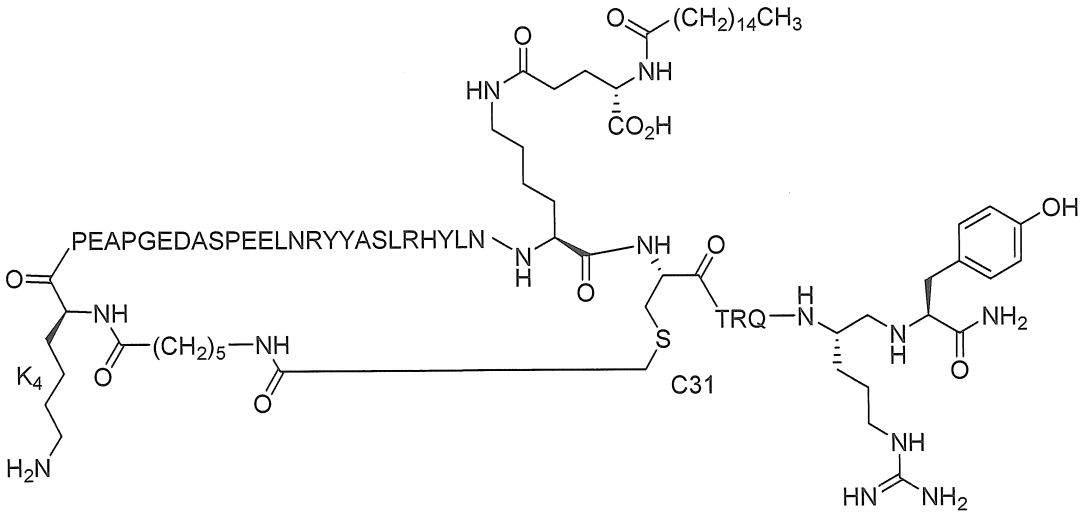
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 34

Tên: [xyclo-(K4-CO(CH$_2$)$_5$NHCOCH$_2$-C31), K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY4-36

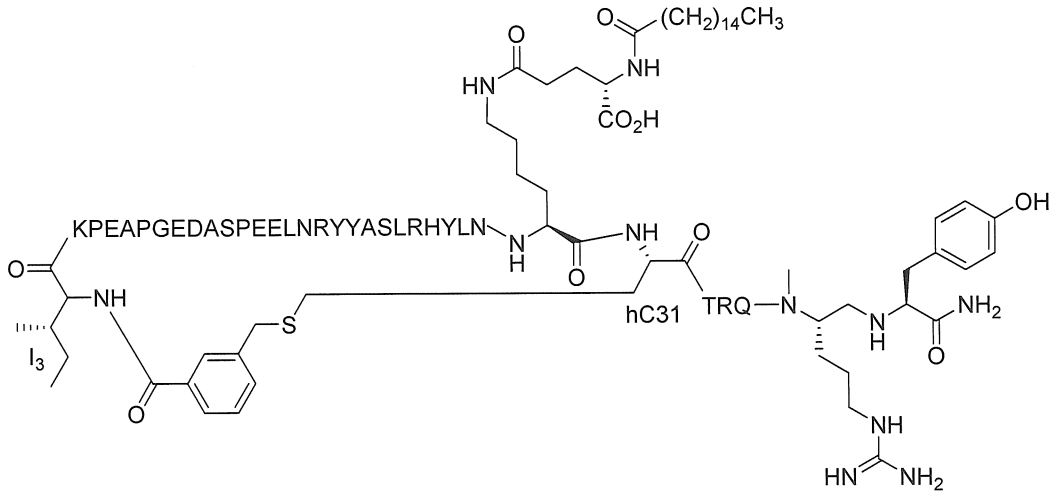
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 35

Tên: [xyclo-(I3-*m*-COPhCH$_2$-hC31), K(γ-Glu-Pal)30, (N-Me-R35), psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

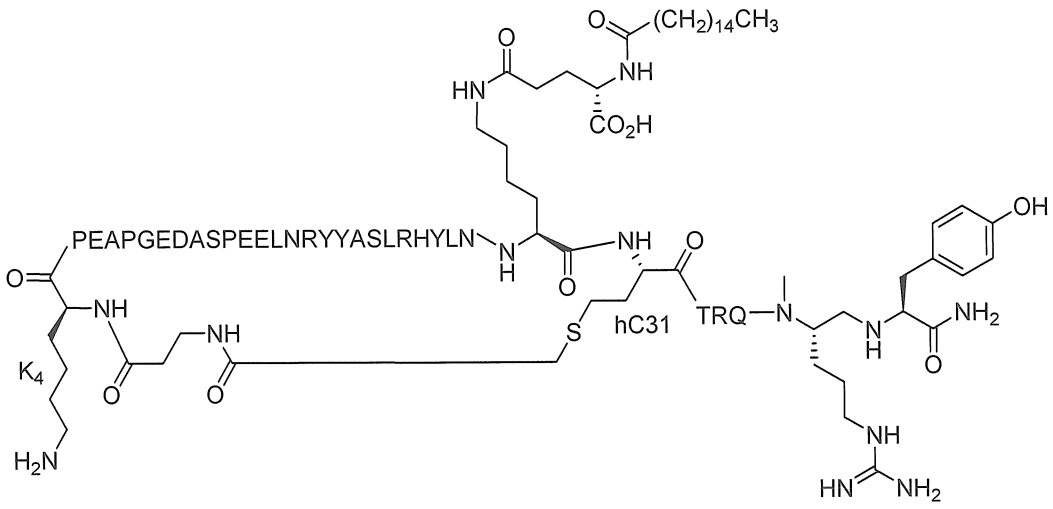
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 36

Tên: [xyclo-(K4-CO(CH$_2$)$_2$NHCOCH$_2$-hC31), K(γ-Glu-Pal)30, (N-Me-R35), psi-(R35,Y36)]-PYY4-36

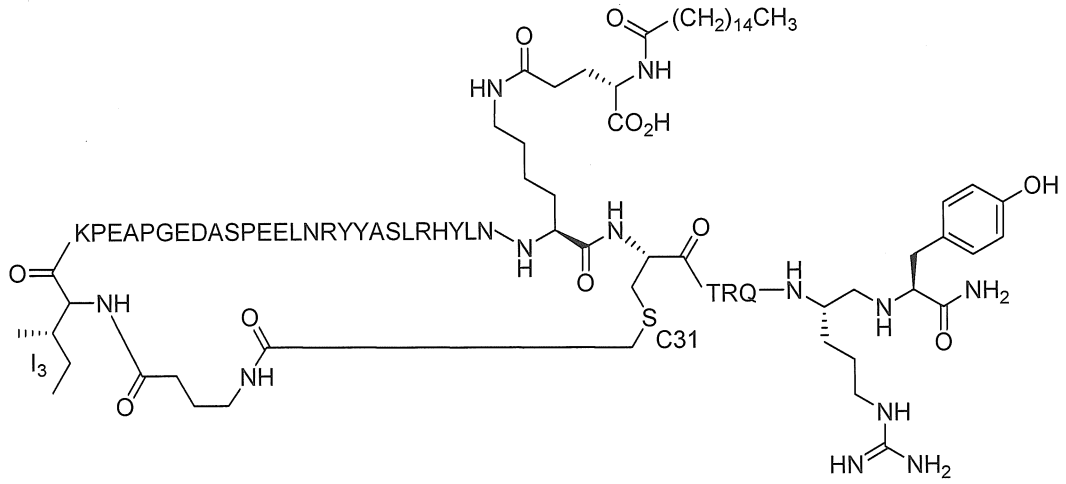
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 37

Tên: [xyclo-(I3-CO(CH_2)$_3$NHCOCH_2-C31), K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

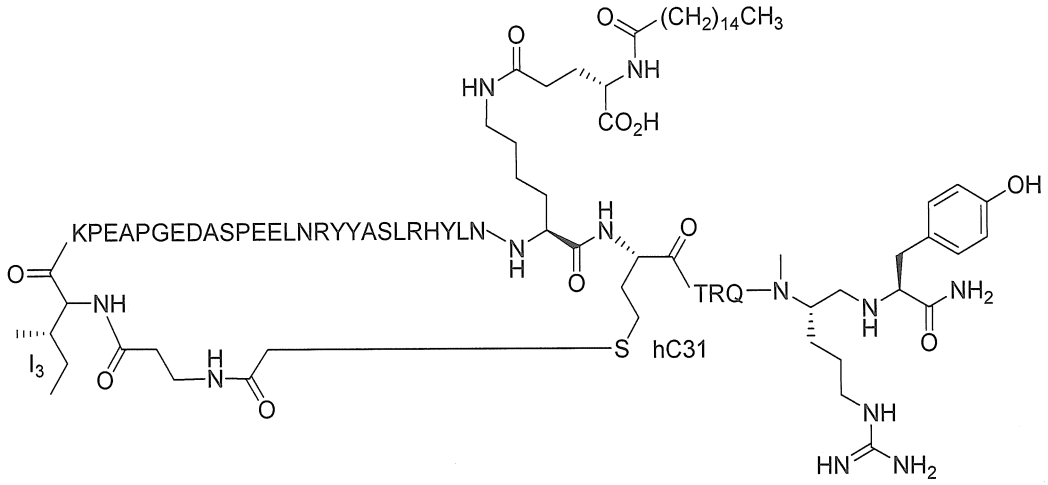
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 38

Tên: [xyclo-(I3-CO(CH_2)$_2$NHCOCH_2-hC31), K(γ-Glu-Pal)30, (N-Me-R35), psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

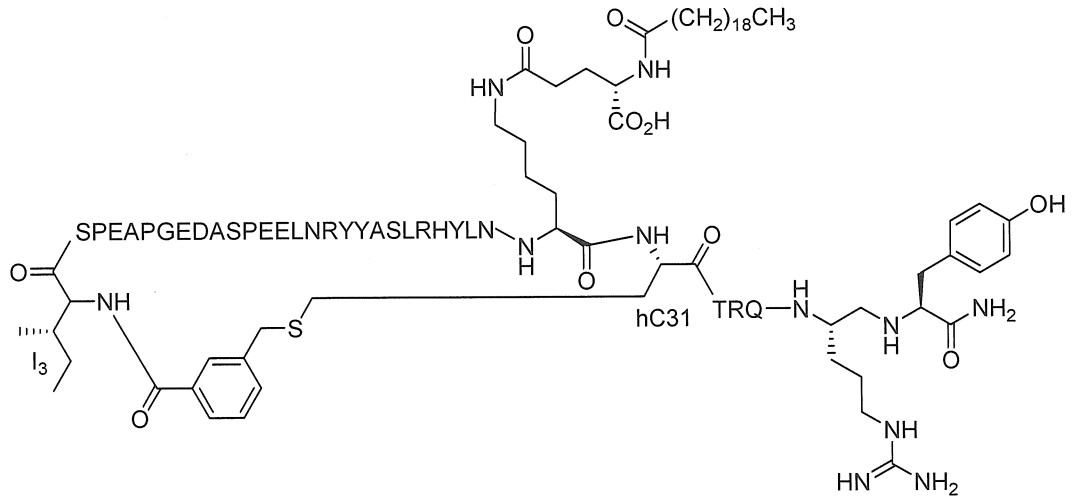
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 39

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), S4, K(γ-Glu-Arach)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

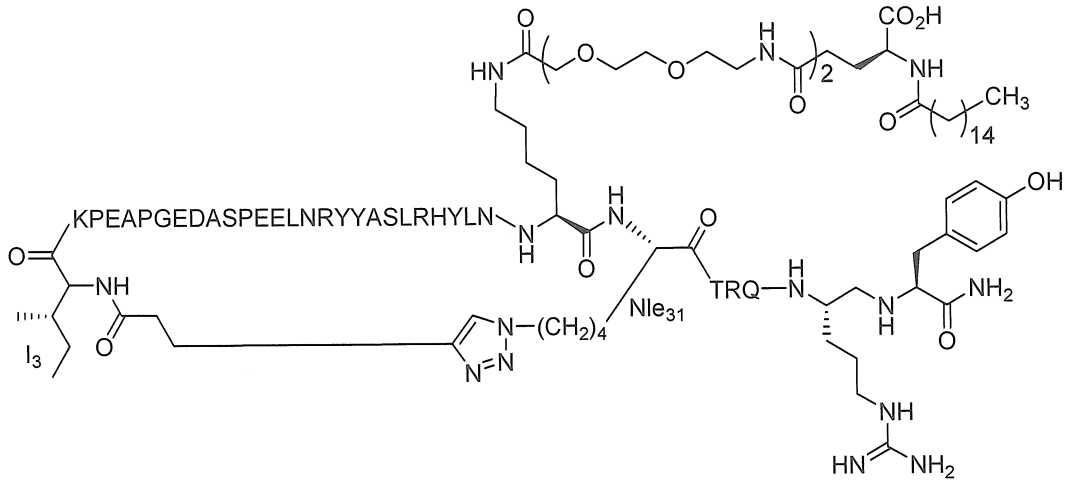
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 40

Tên: [xyclo-(I3-CO(CH$_2$)$_2$triazolyl-Nle31), K((OEG)$_2$-γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

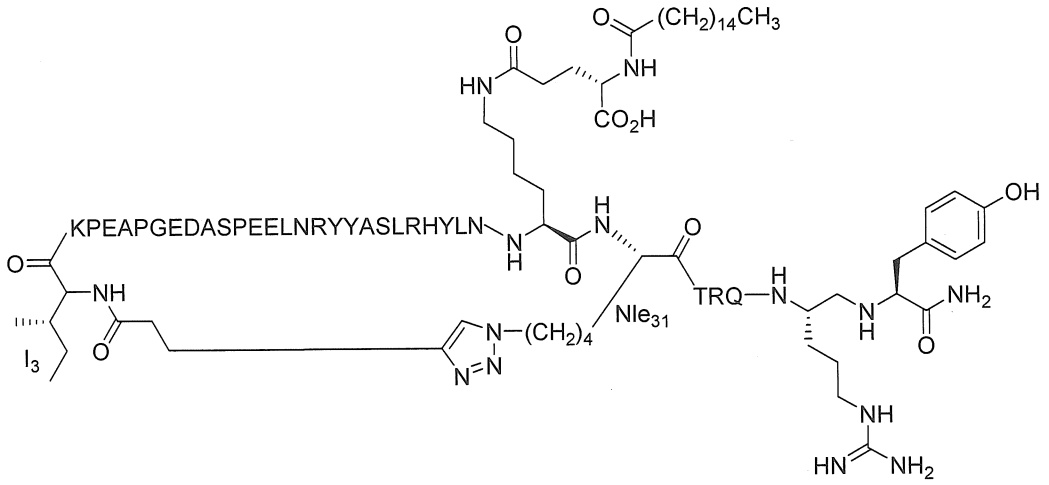
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 41

Tên: [xyclo-(I3-CO(CH_2)$_2$triazolyl-Nle31), K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

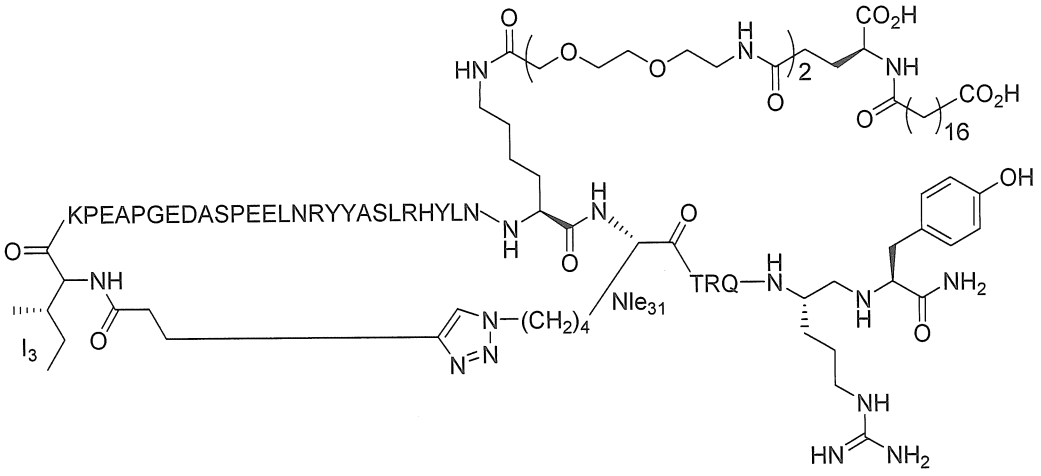
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 42

Tên: [xyclo-(I3-CO(CH_2)$_2$triazolyl-Nle31), K((OEG)$_2$-γ-Glu-$COC_{16}CO_2H$)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

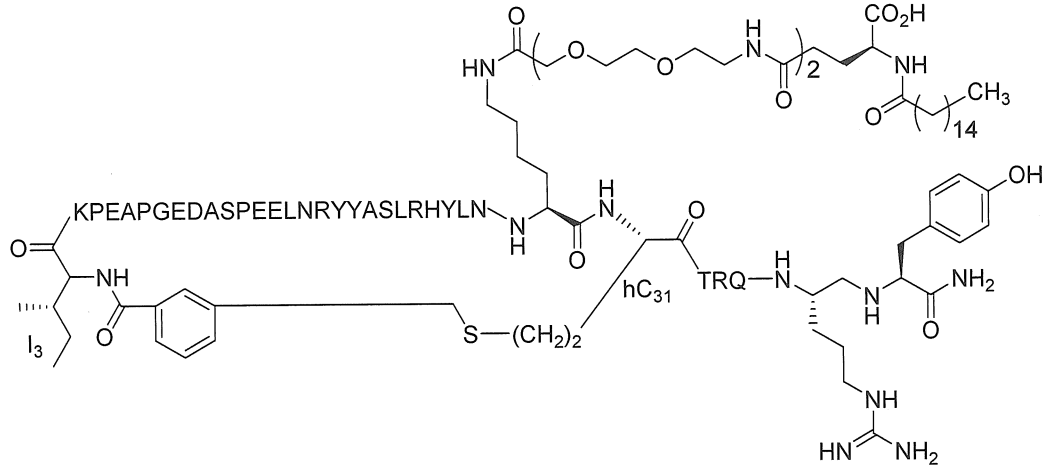
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 43

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K((OEG)$_2$-γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

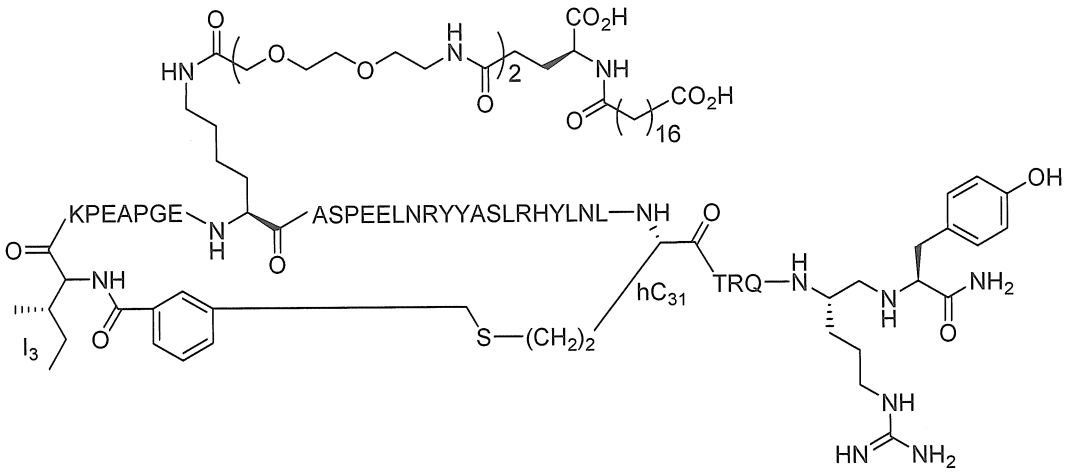
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 44

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K((OEG)$_2$-γ-Glu- COC$_{16}$CO$_2$H)11, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

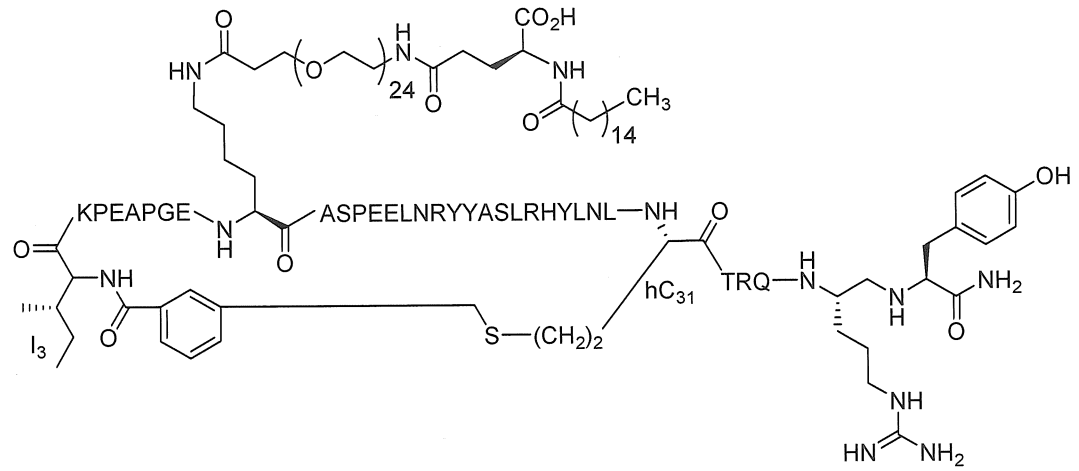
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 45

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K(COCH$_2$CH$_2$(OCH$_2$CH$_2$)$_{24}$NH-γ-Glu-Pal)11, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

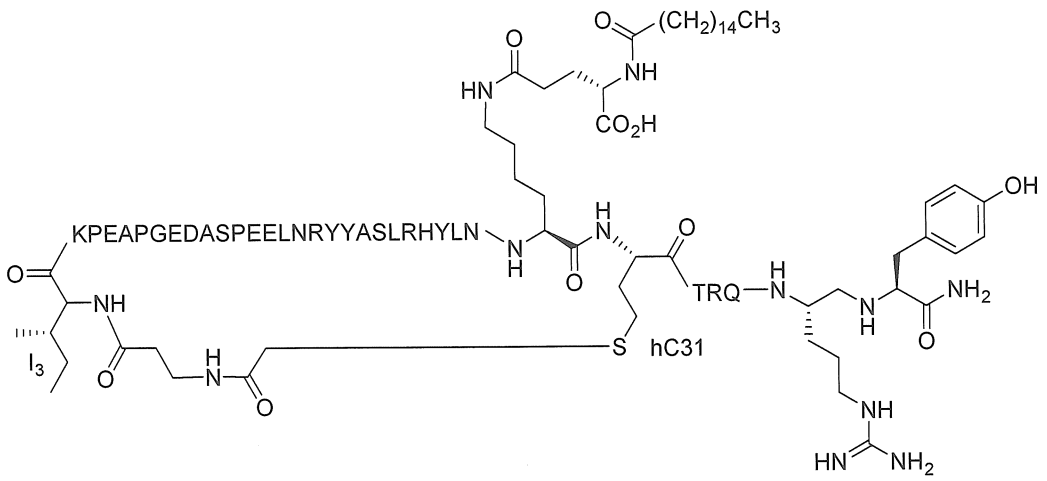
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 46

Tên: [xyclo-(I3-CO(CH$_2$)$_2$NHCOCH$_2$-hC31), K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

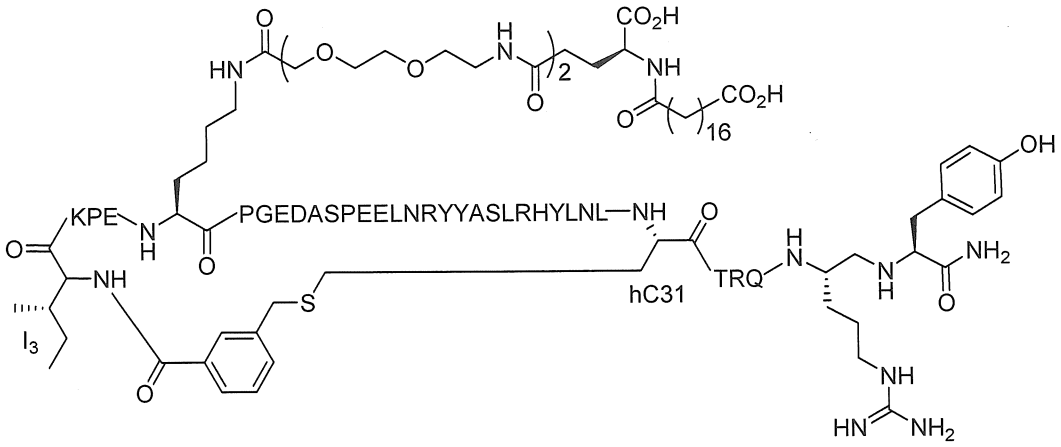
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 47

Tên: [xyclo-(I3-*m*-COPhCH$_2$-hC31), K((OEG)$_2$-γ-Glu- COC$_{16}$CO$_2$H)7, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

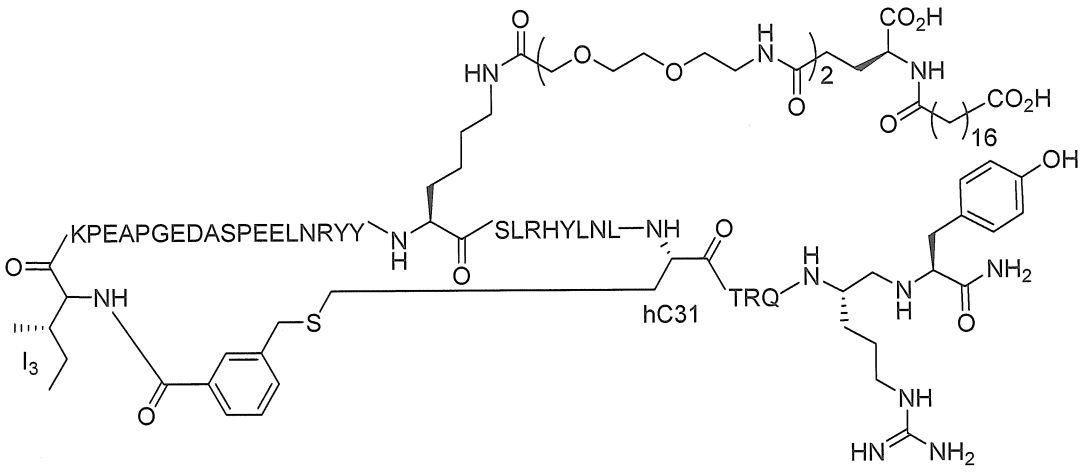
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 48

Tên: [xyclo-(I3-*m*-COPhCH$_2$-hC31), K((OEG)$_2$-γ-Glu-COC$_{16}$CO$_2$H)22, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

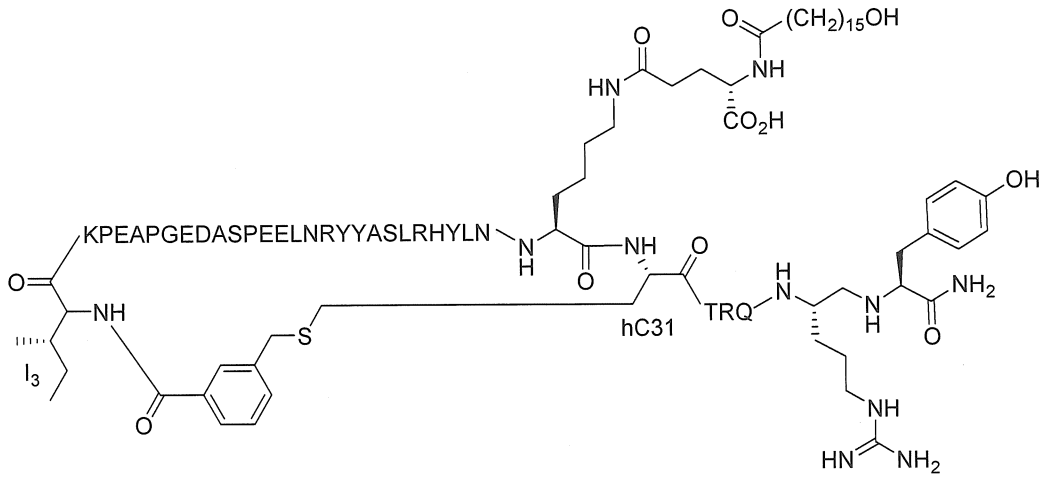
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 49

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K(γ-Glu-(Pal-16-OH))30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

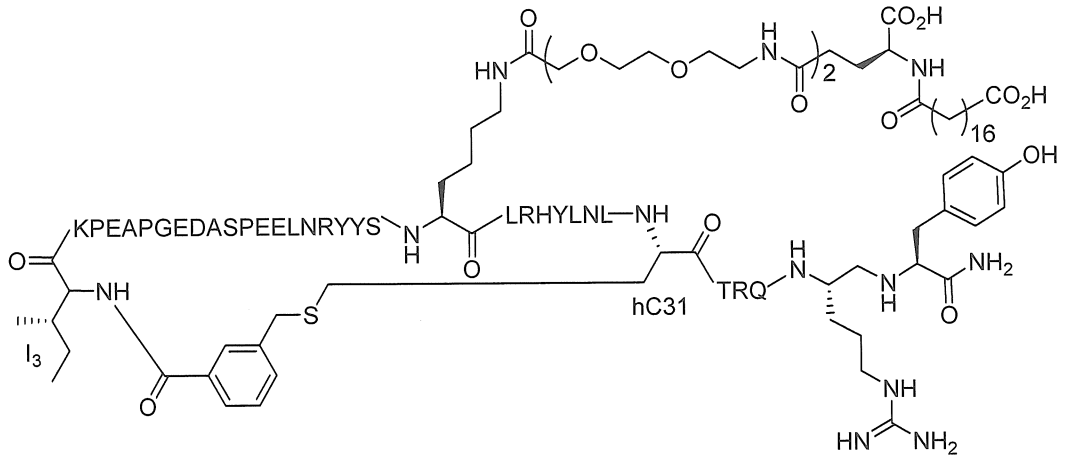
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 50

Tên: [xyclo-(I3-*m*-COPhCH$_2$- hC31), K((OEG)$_2$-γ-Glu-COC$_{16}$CO$_2$H)23, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

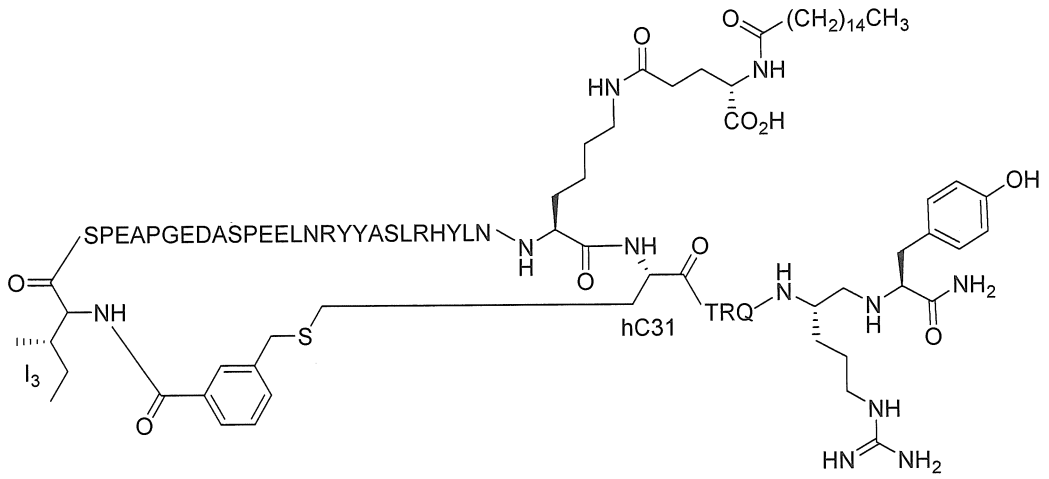
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 51

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), S4, K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

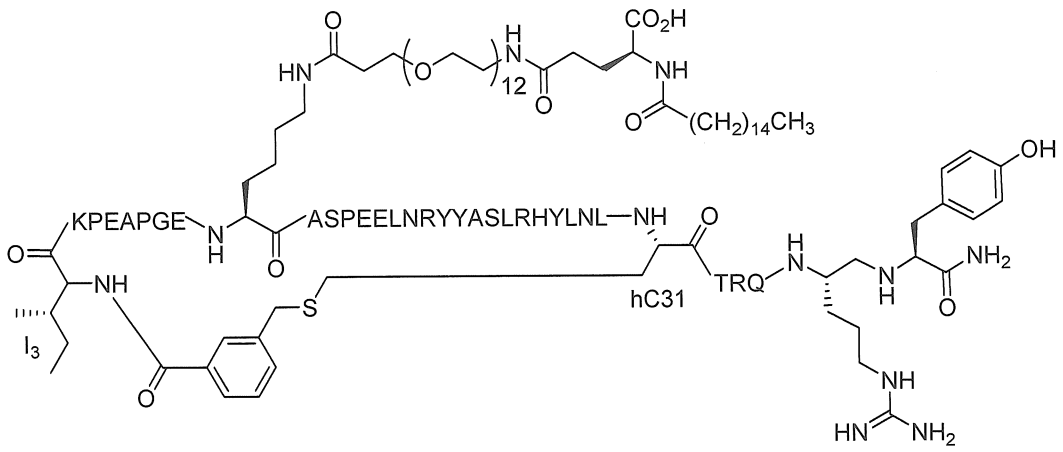
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 52

Tên: [xyclo-(I3-*m*-COPhCH$_2$-hC31), K(COCH$_2$CH$_2$(OCH$_2$CH$_2$)$_{12}$NH-γ-Glu-Pal)11, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

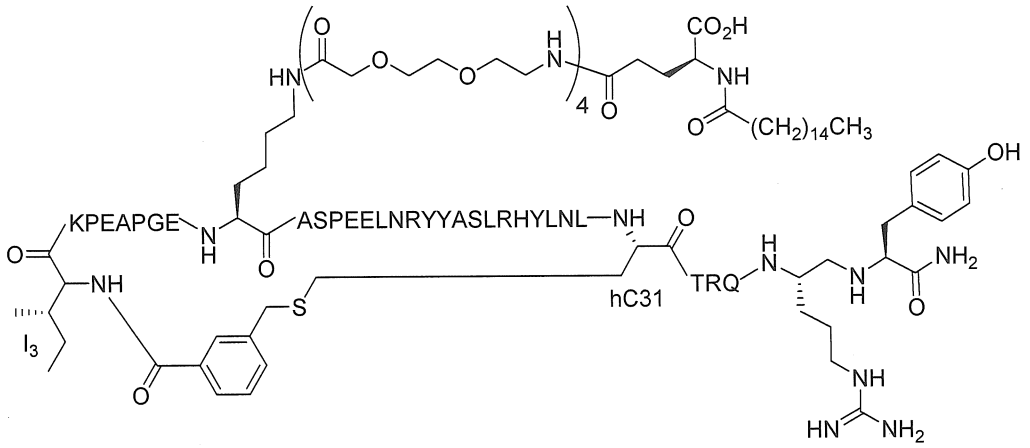
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 53

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K((OEG)$_4$-γ-Glu-Pal)11, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

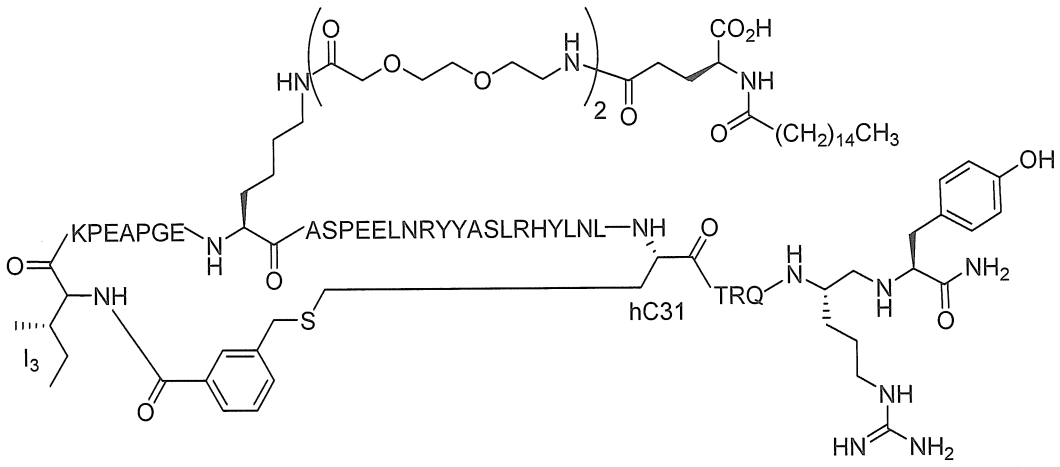
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 54

Tên: [xyclo-(I3-*m*-COPhCH$_2$-hC31), K((OEG)$_2$-γ-Glu-Pal)11, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

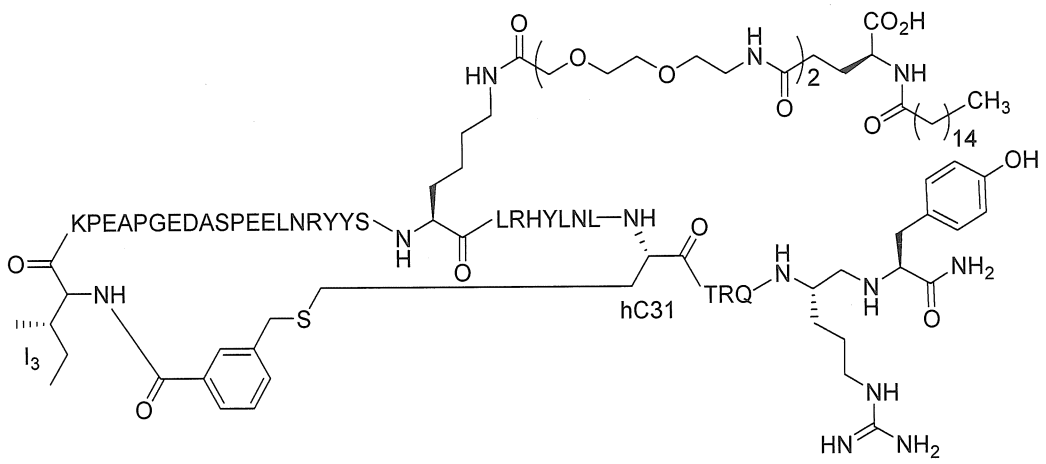
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 55

Tên: [xyclo-(I3-*m*-COPhCH$_2$-hC31), K((OEG)$_2$-γ-Glu-Pal)23, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

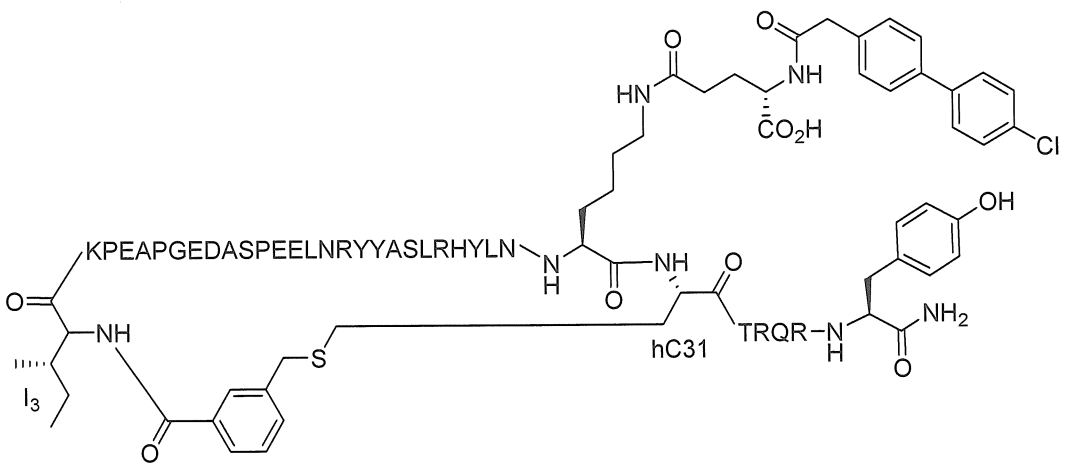
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 56

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K(γ-Glu-COCH$_2$Ph-(4-ClPh)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

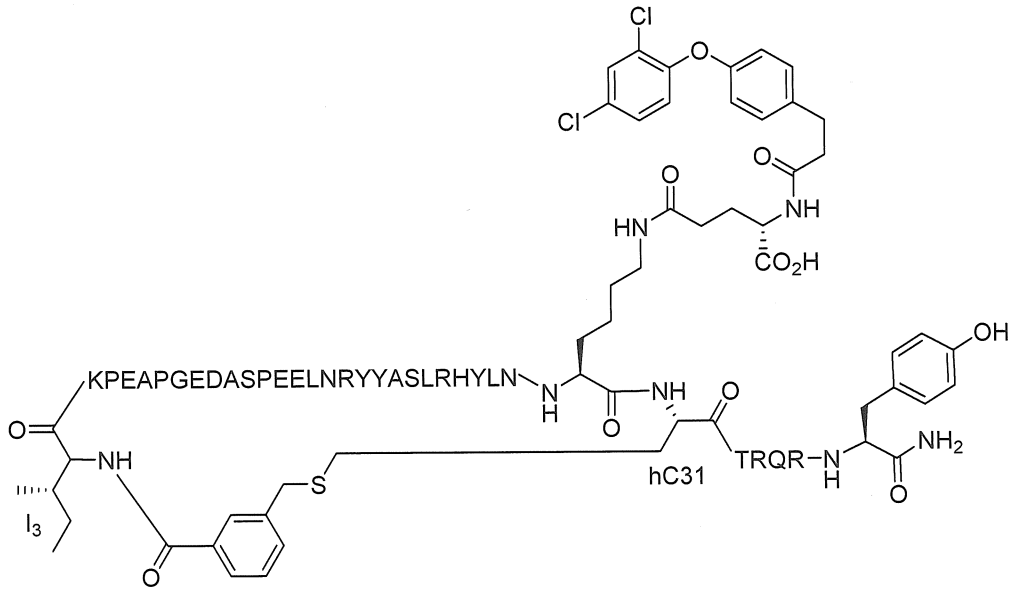
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 57

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K(γ-Glu-CO(CH$_2$)$_2$PhO-(2,4-Cl$_2$Ph)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

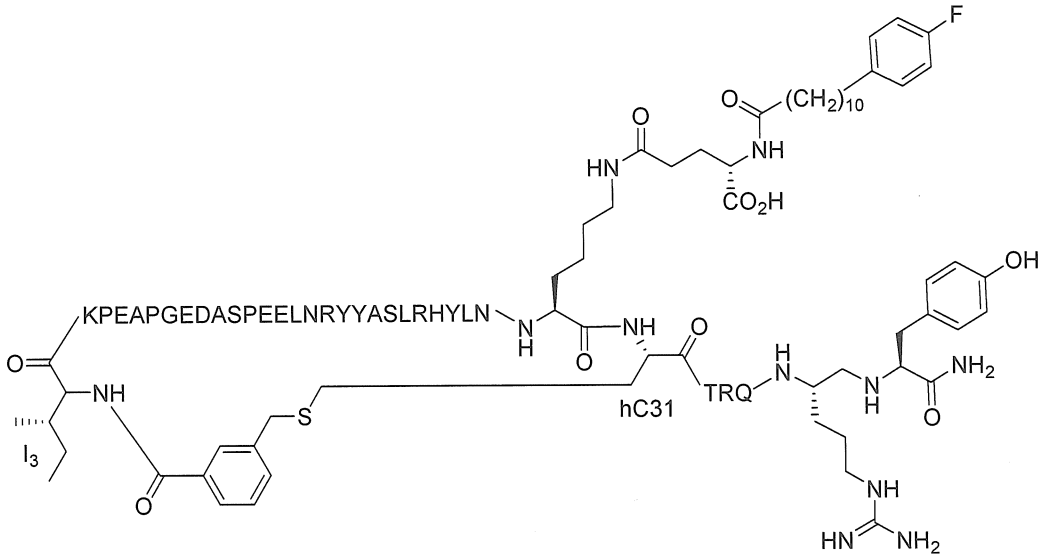
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 58

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K(γ-Glu-CO(CH$_2$)$_{10}$-(4-F-Ph))30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

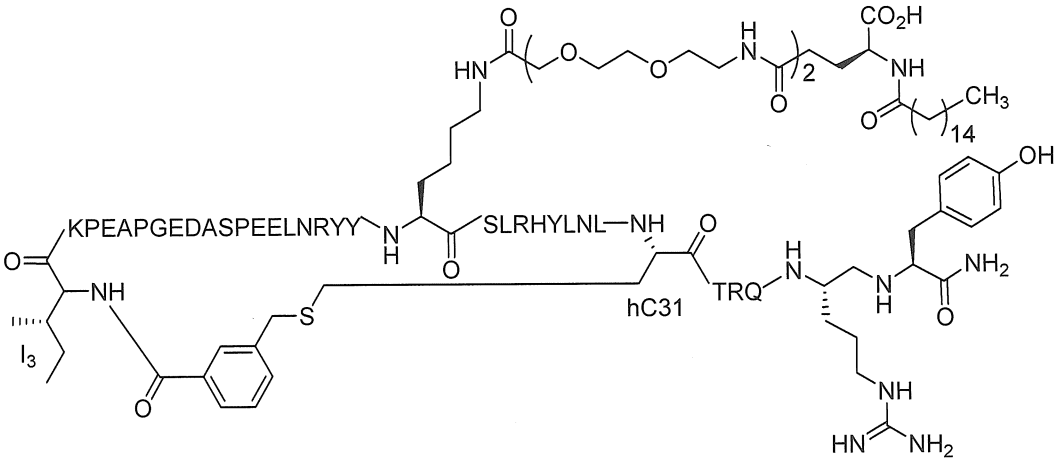
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 59

Tên: [xyclo-(I3-*m*-COPhCH$_2$-hC31), K((OEG)$_2$-γ-Glu-Pal)22, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

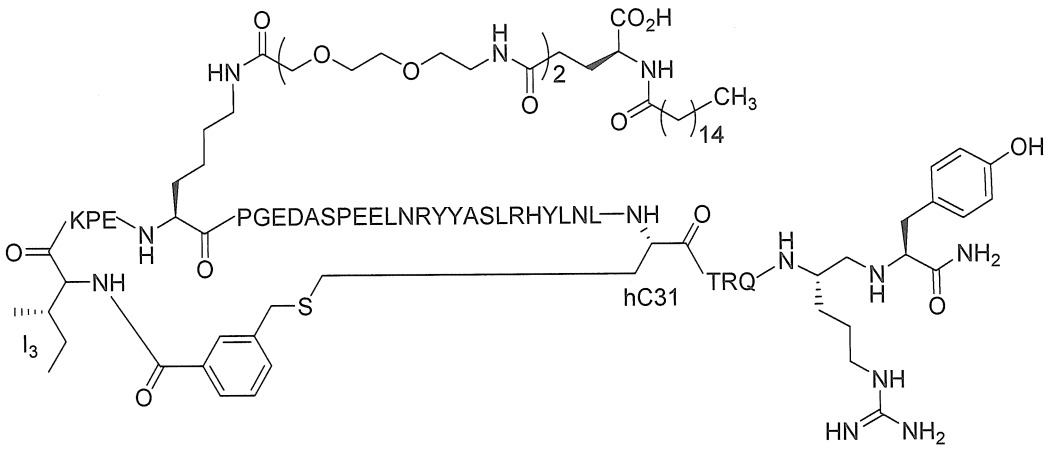
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 60

Tên: [xyclo-(I3-*m*-COPhCH$_2$-hC31), K((OEG)$_2$-γ-Glu-Pal)7, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

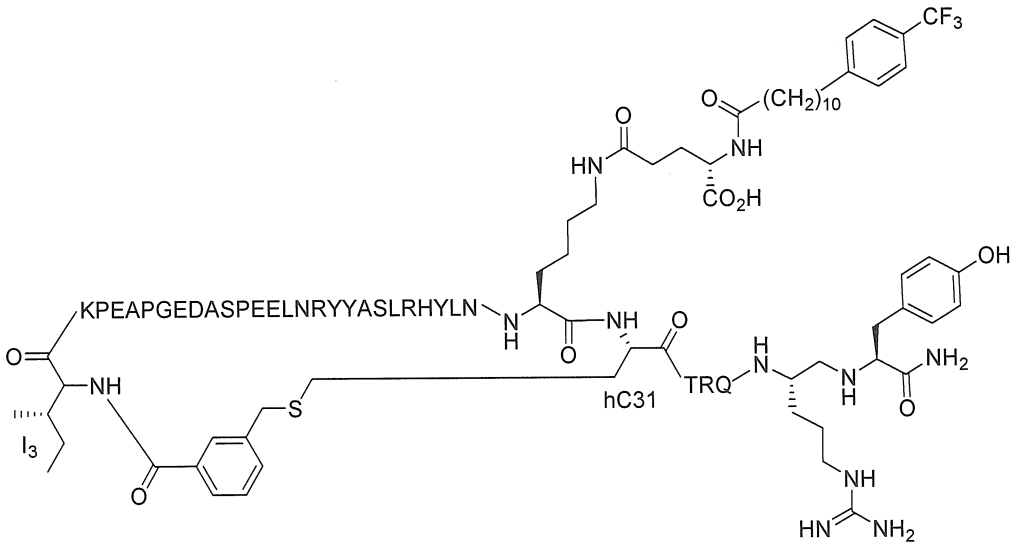
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 61

Tên: [xyclo-(I3-*m*-COPhCH$_2$-hC31), K(γ-Glu-CO(CH$_2$)$_{10}$-(4-F$_3$C-Ph))30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

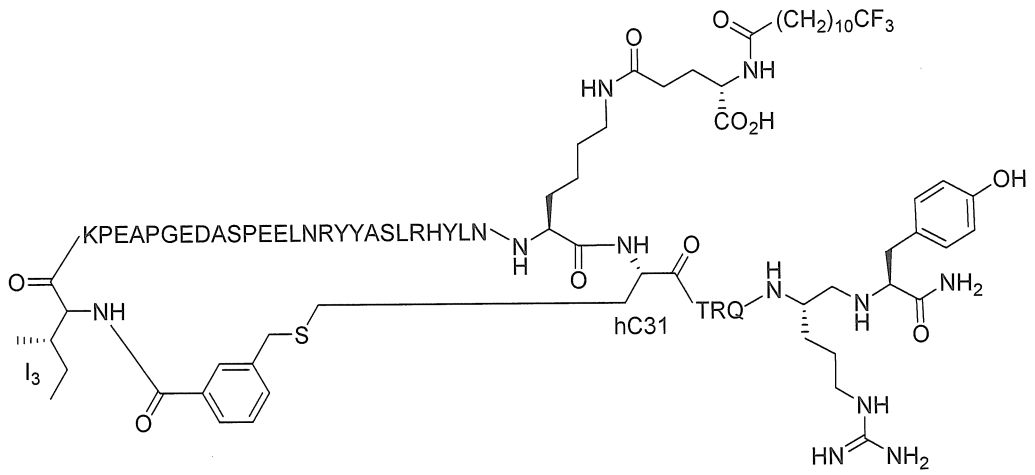
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 62

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K(γ-Glu-CO(CH$_2$)$_{10}$-CF$_3$)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

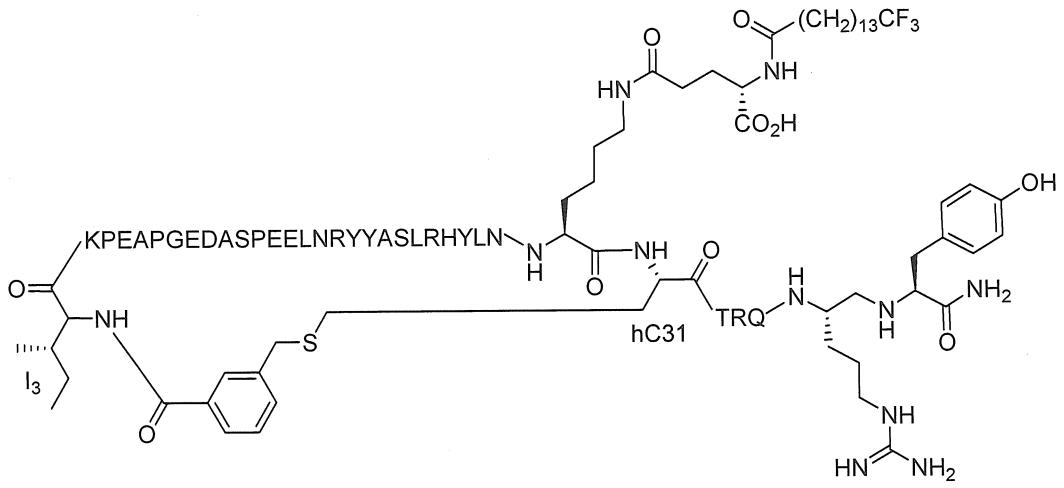
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 63

Tên: [xyclo-(I3-*m*-COPhCH$_2$- hC31), K(γ-Glu-CO(CH$_2$)$_{13}$-CF$_3$)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

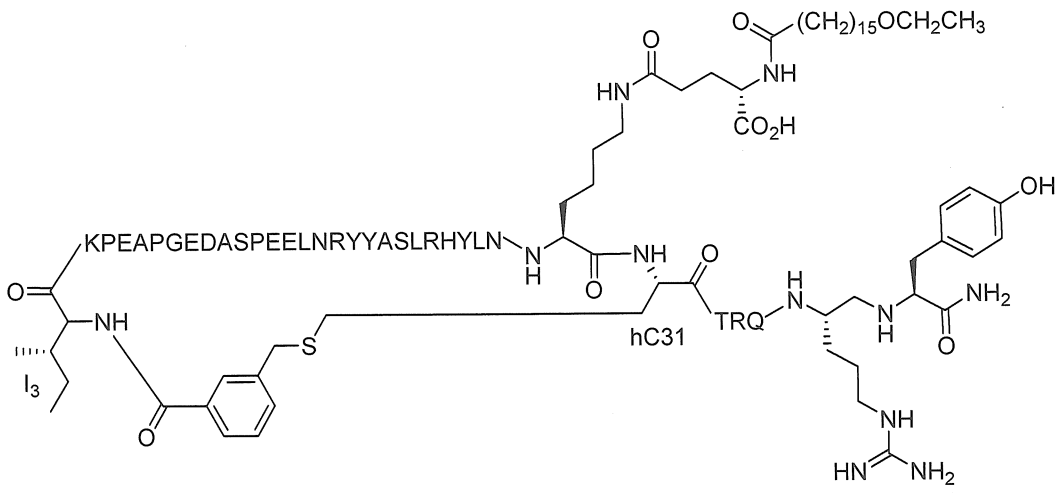
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 64

Tên: [xyclo-(I3-*m*-COPhCH$_2$-hC31), K(γ-Glu-(Pal-16-OEt))30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

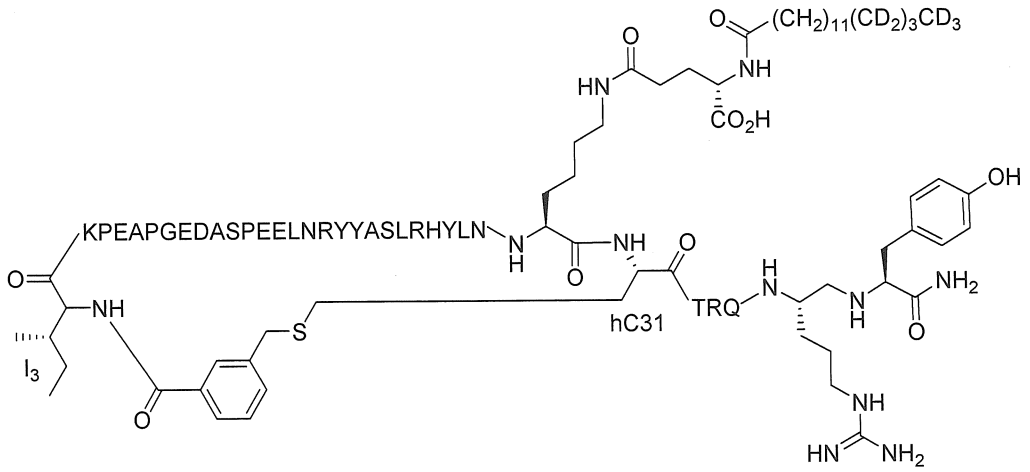
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 65

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K(γ-Glu-CO(CH$_2$)$_{11}$(CD$_2$)$_3$CD$_3$)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

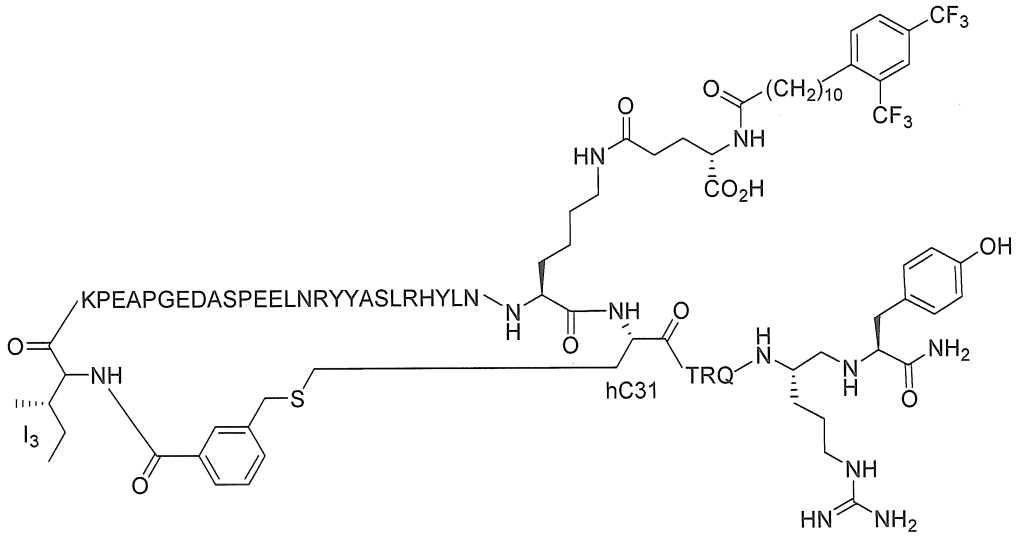
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 66

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH$_2$- hC31), K(γ-Glu-CO(CH$_2$)$_{10}$-(2,4-(CF$_3$)$_2$-Ph))30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

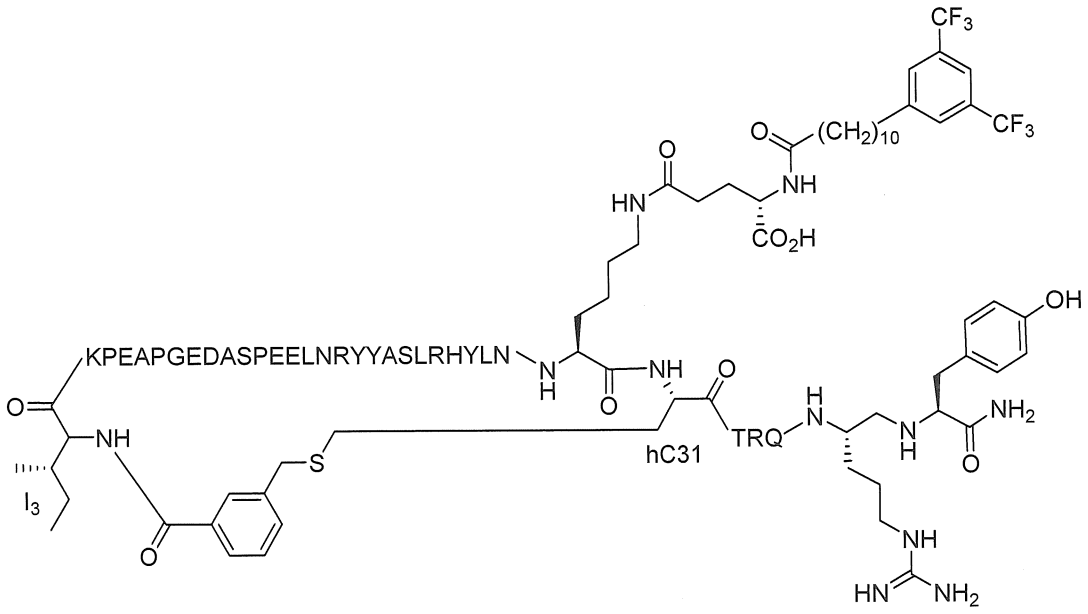
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 67

Tên: [xyclo-(I3- *m*-COPhCH_2- hC31), K(γ-Glu-CO$(CH_2)_{10}$-(3,5-$(CF_3)_2$-Ph))30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

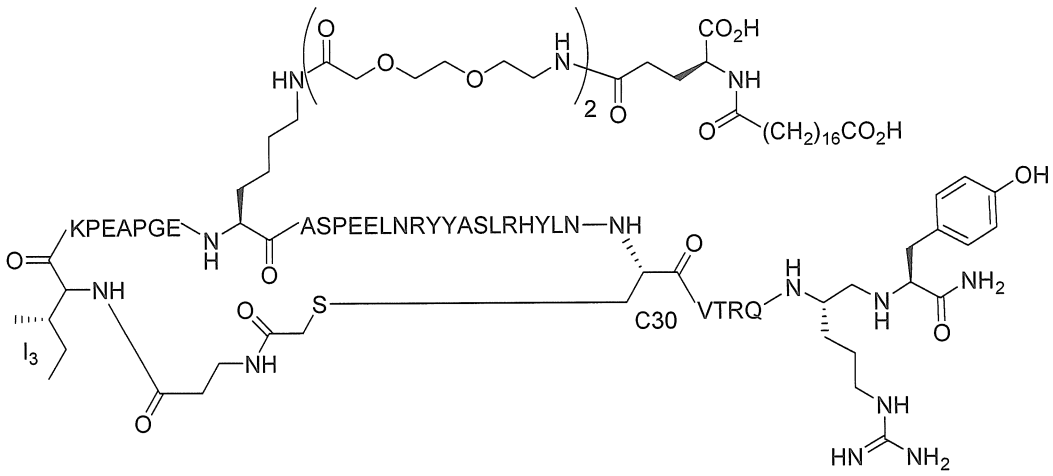
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 68

Tên: [xyclo-(I3-CO- $CO(CH_2)_2NHCOCH_2$- C30), K(($(OEG)_2$-γ-Glu- $COC_{16}CO_2H$)11, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

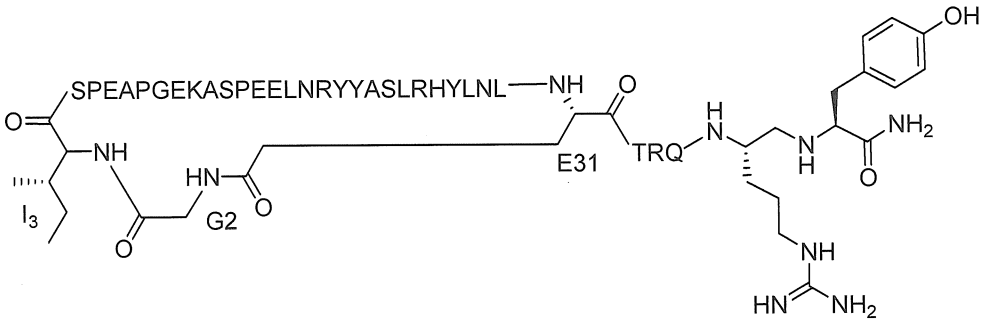
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 69

Tên: [xyclo-(G2-E31), S4, K11, psi-(R35,Y36)]-PYY2-36

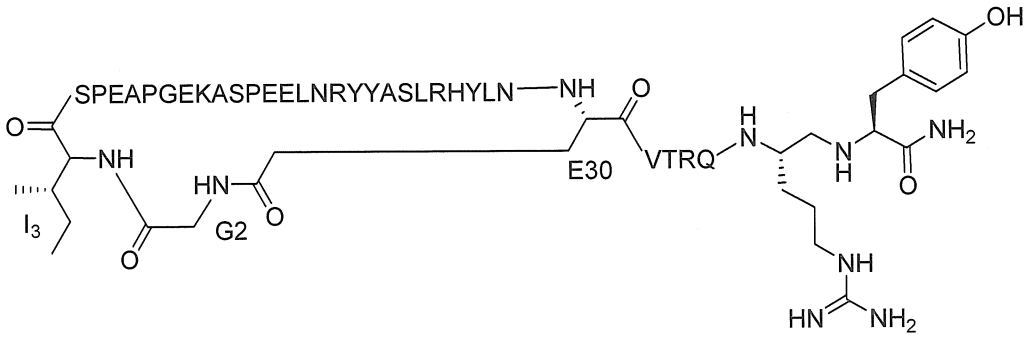
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 70

Tên: [xyclo-(G2-E30), S4, K11, psi-(R35,Y36)]-PYY2-36

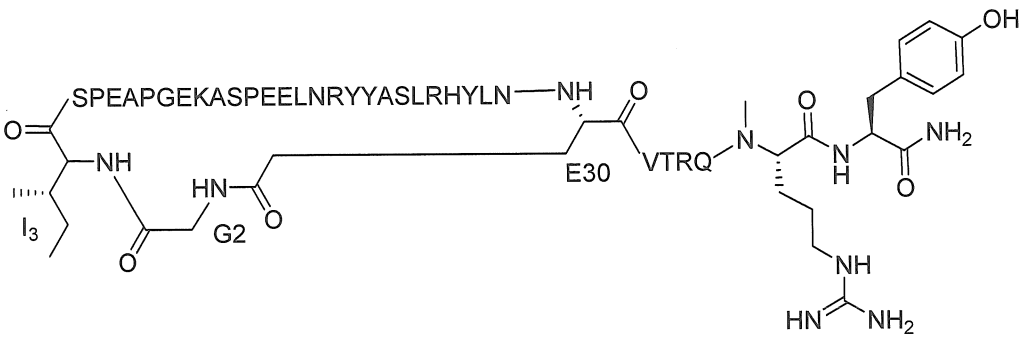
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 71

Tên: [xyclo-(G2-E30), S4, K11, (N-Me-R35)]-PYY3-36

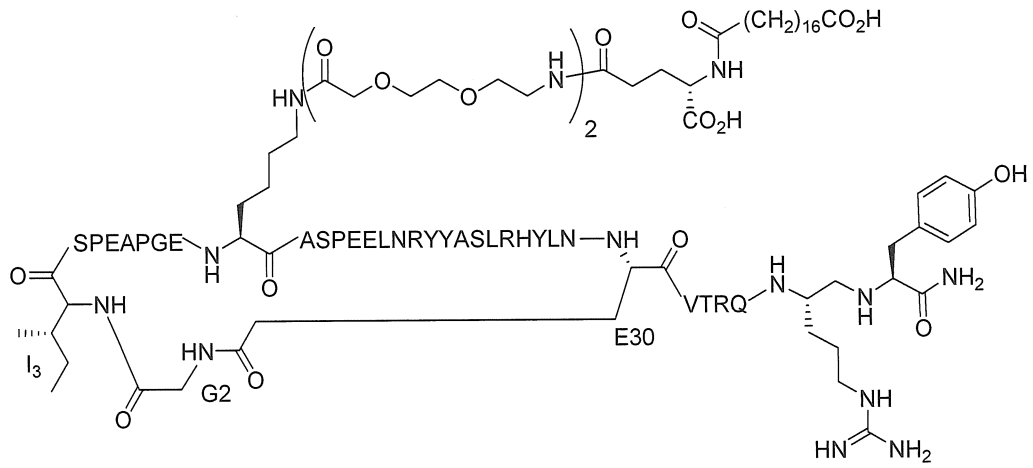
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 72

Tên: [xyclo-(G2-E30), S4, K((OEG)$_2$-γ-Glu- COC$_{16}$CO$_2$H)11, psi-(R35,Y36)]-PYY2-36

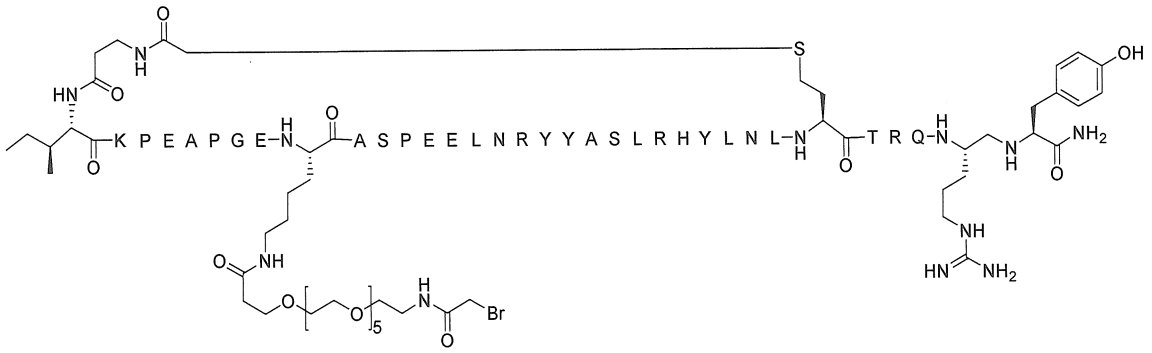
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 73

Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(PEG6-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

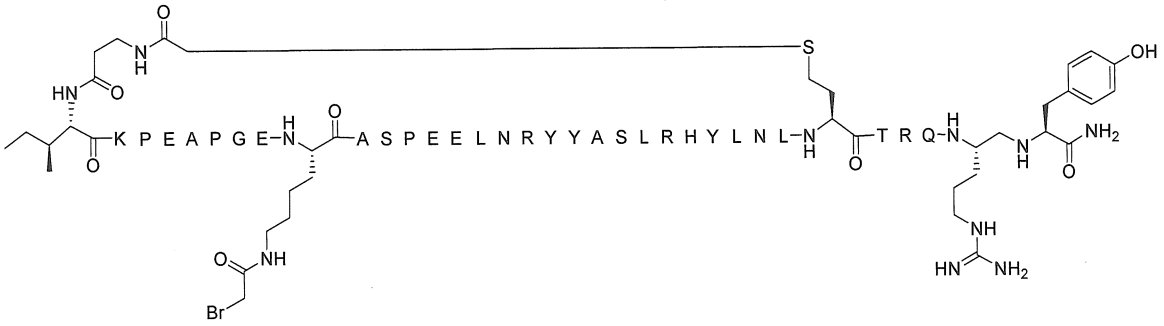
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 74

Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

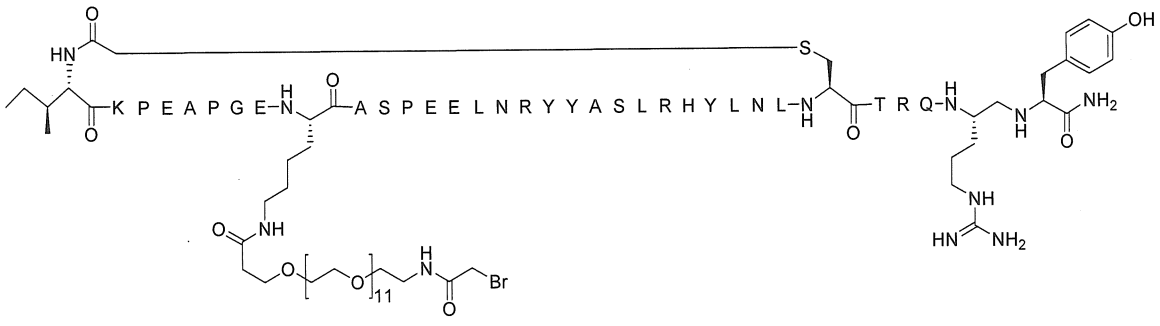
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 75

Tên: [Xyclo-(I3-COCH$_2$-C31), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36

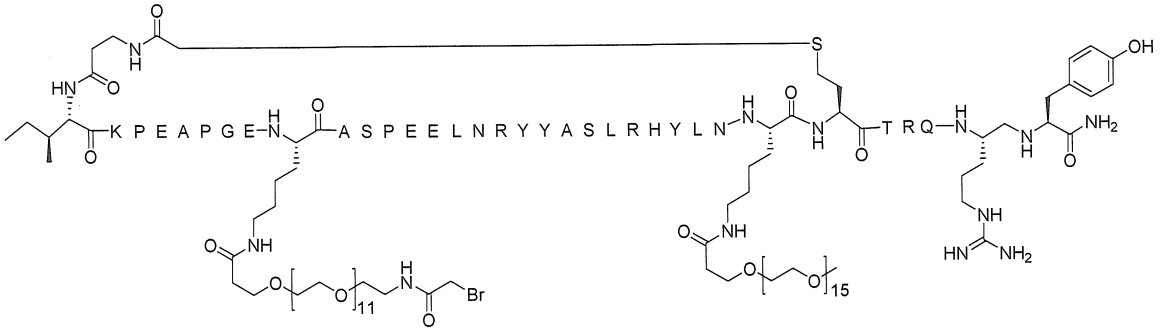
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 76

Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(PEG12-AcBr)11, K(mPEG16)30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

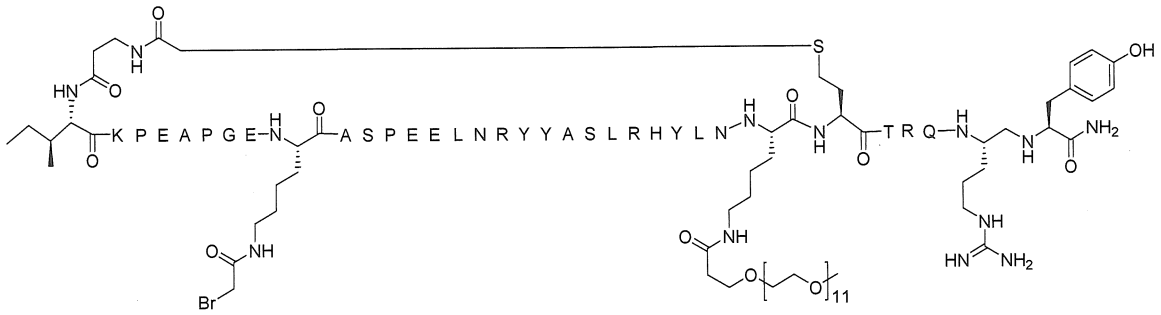
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 77

Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(AcBr)11, K(mPEG12)20, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

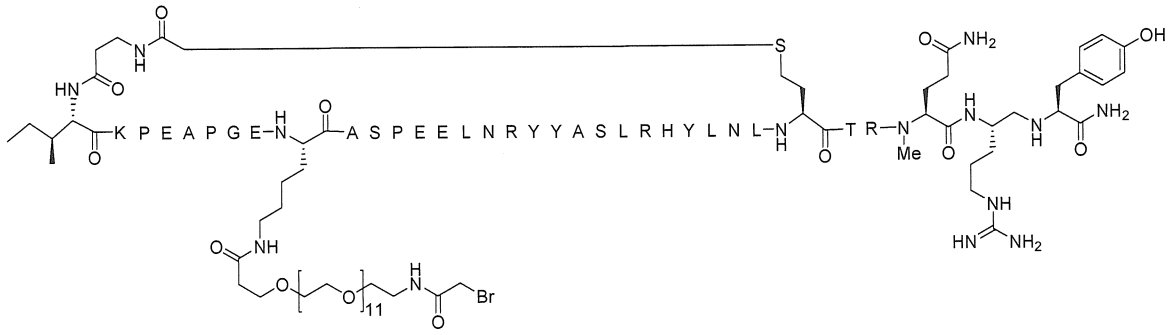
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 78

Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(PEG12-AcBr)11, (N-Me)Q34, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

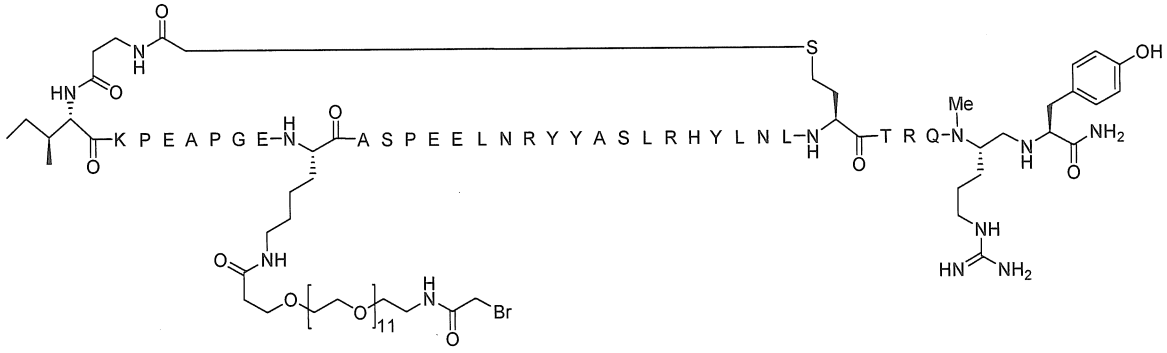
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 79

Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(PEG12-AcBr)11, N-Me-R35, *psi*-(R35,36Y)]-PYY2-36

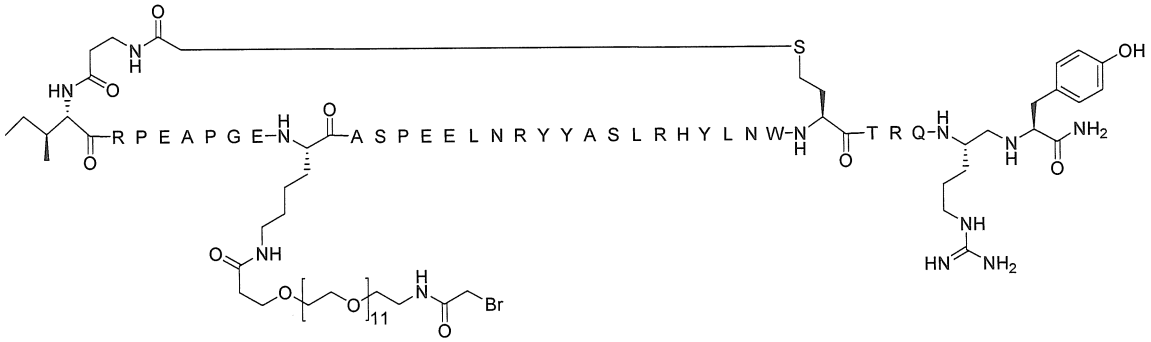
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 80

Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), R4, K(PEG12-AcBr)11, W30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

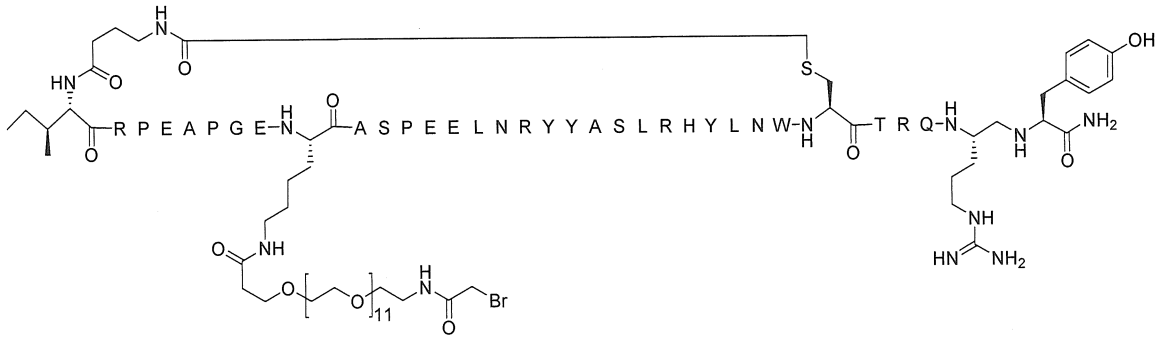
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 81

Tên: [Xyclo-(3I-COCH$_2$CH$_2$CH$_2$NHCOCH$_2$-C31), R4, K(PEG12-AcBr)11, W30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36

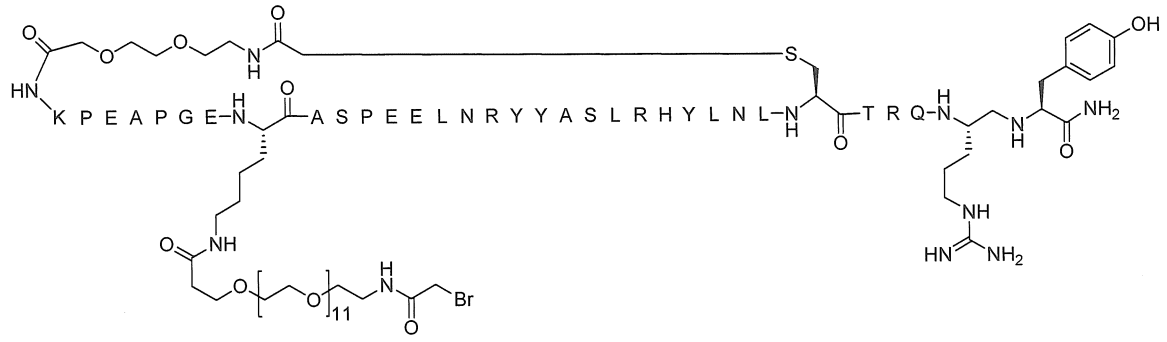
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 82

Tên: [Xyclo-(K4-OEG-COCH$_2$-C31), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY4-36

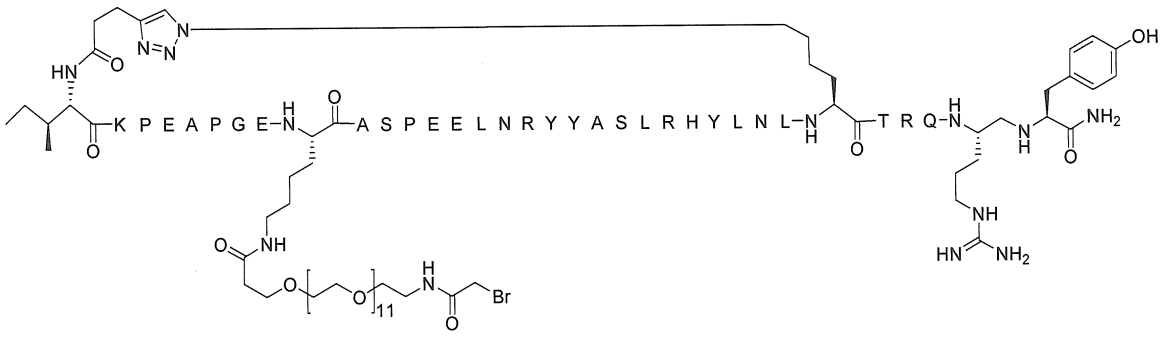
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 83

Tên: [Xyclo-(I3-$COCH_2CH_2$triazolylNle31), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36

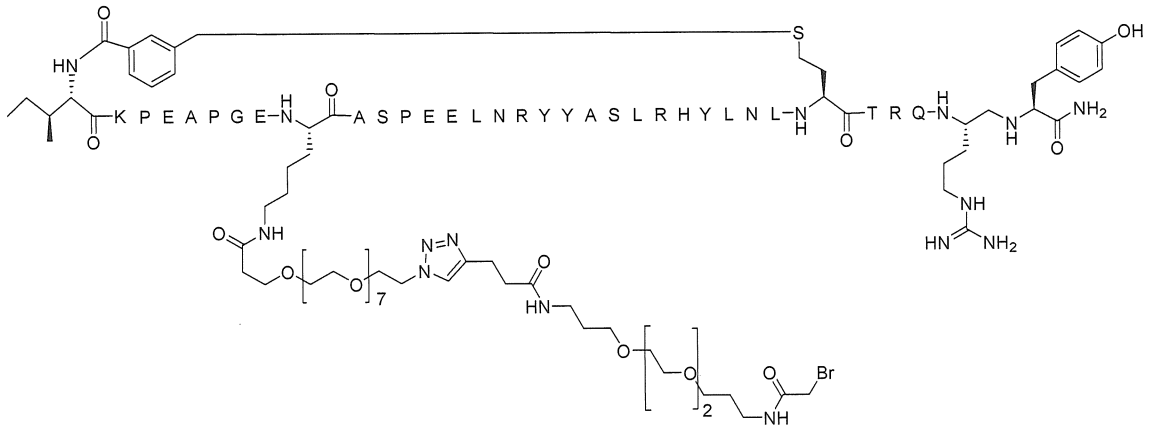
Cấu trúc



SỐ ID TRÌNH TỰ: 84

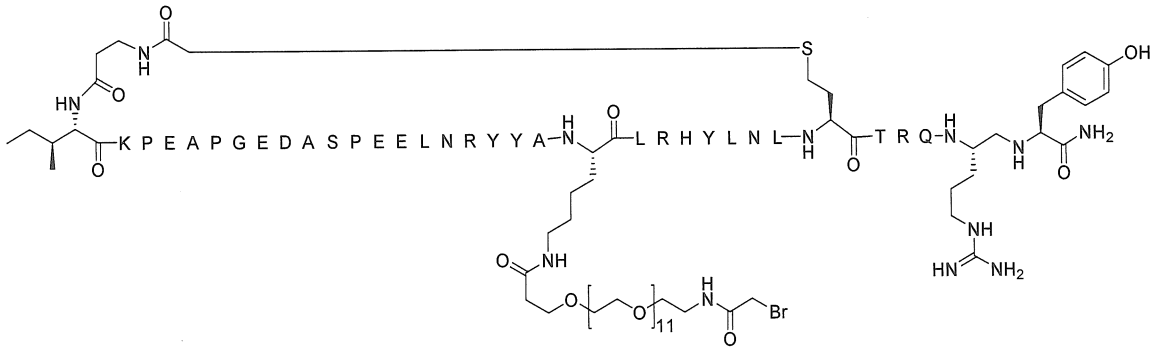
Tên:: [Xyclo-(I3-*m*-CO-benzyl-hC31), K(PEG8-triazolyl-CH_2CH_2CO-PEG4-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36

Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 85

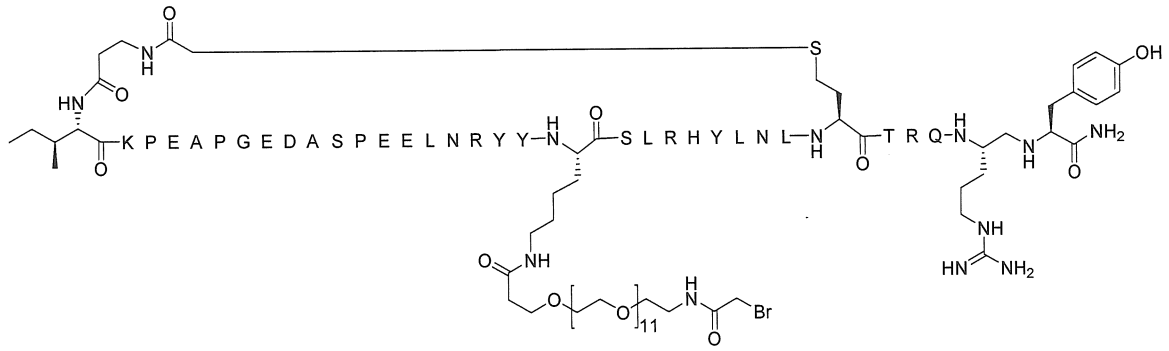
Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(PEG12-AcBr)23, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36, Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 86

Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(PEG12-AcBr)22, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

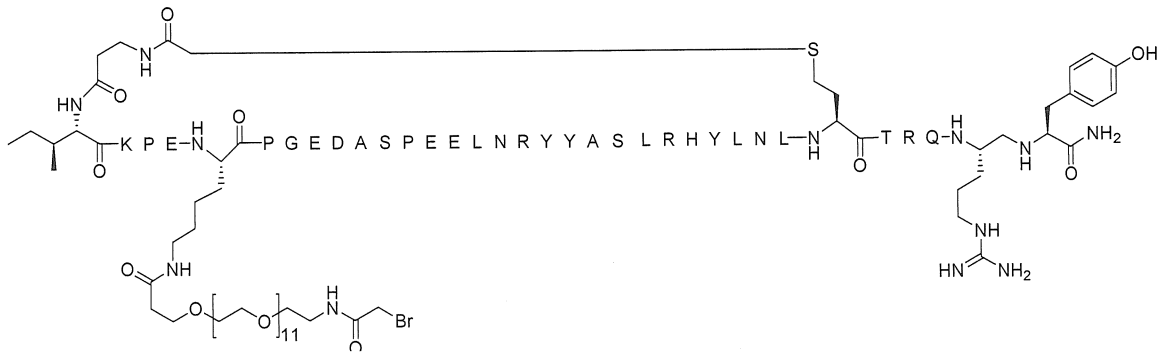
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 87

Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(PEG12-AcBr)7, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

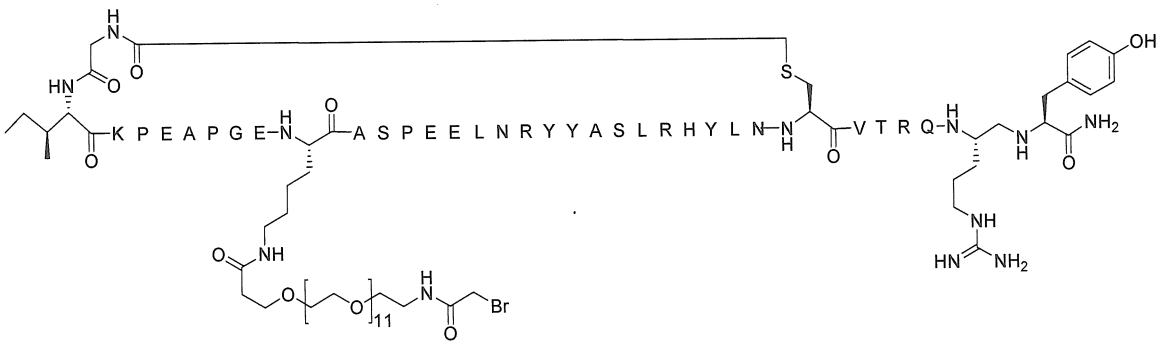
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 88

Tên: [Xyclo-(G2-$COCH_2$-C30), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

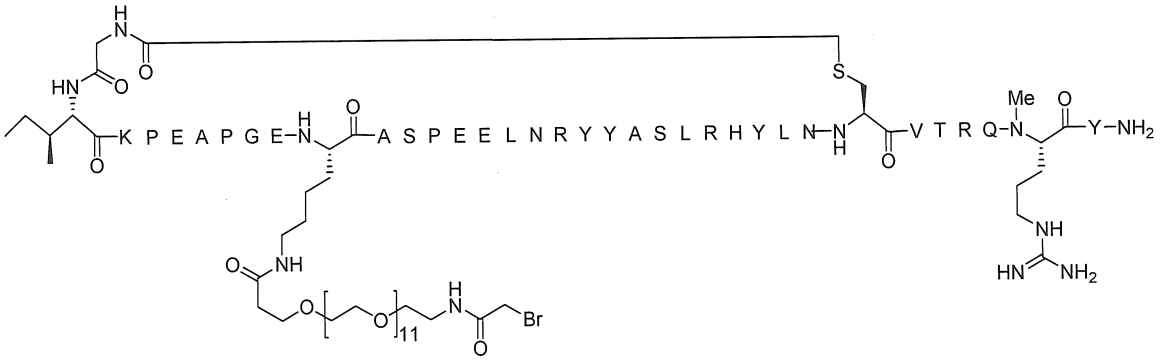
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 89

Tên: [Xyclo-(G2-$COCH_2$-C30), K(PEG12-AcBr)11, N-Me-R35]-PYY2-36

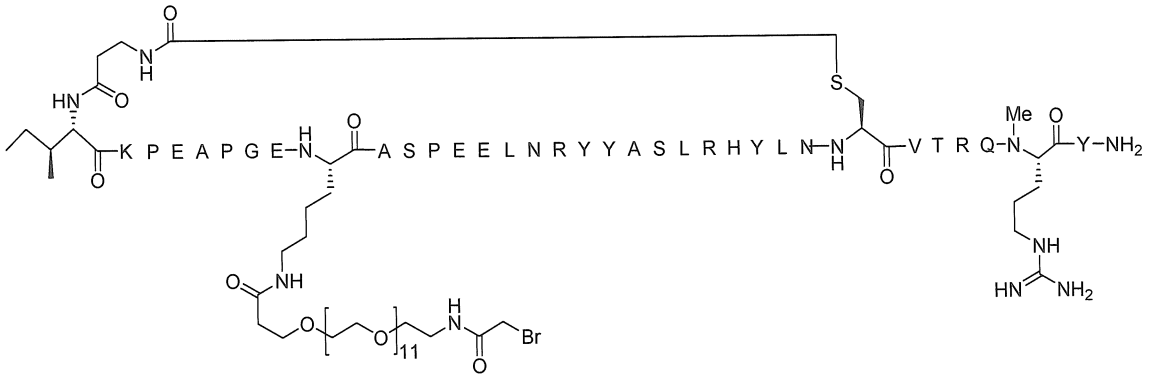
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 90

Tên: [Xyclo-(βA2-$COCH_2$-C30), K(PEG12-AcBr)11, N-Me-R35]-PYY2-36

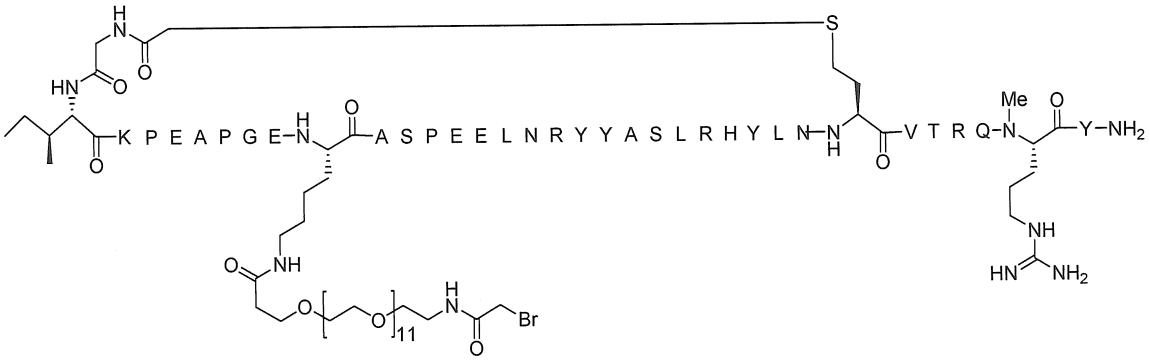
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 91

Tên: [Xyclo-(G2-COCH$_2$-hC30), K(PEG12-AcBr)11, N-Me-R35]-PYY2-36

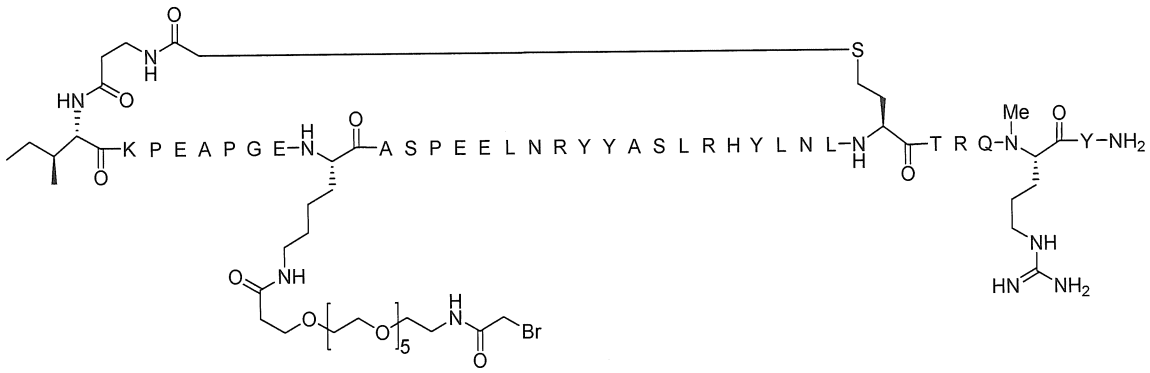
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 92

Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(PEG12-AcBr)11, N-Me-R35]PYY2-36

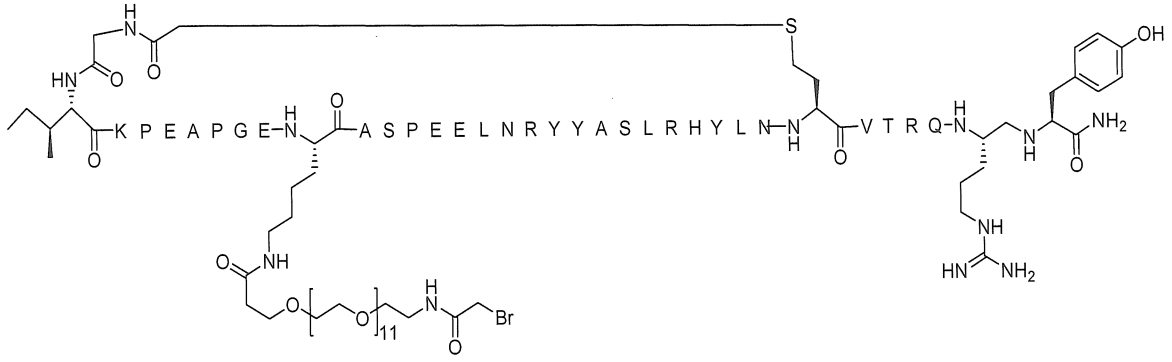
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 93

Tên: [Xyclo-(G2-COCH$_2$-hC30), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

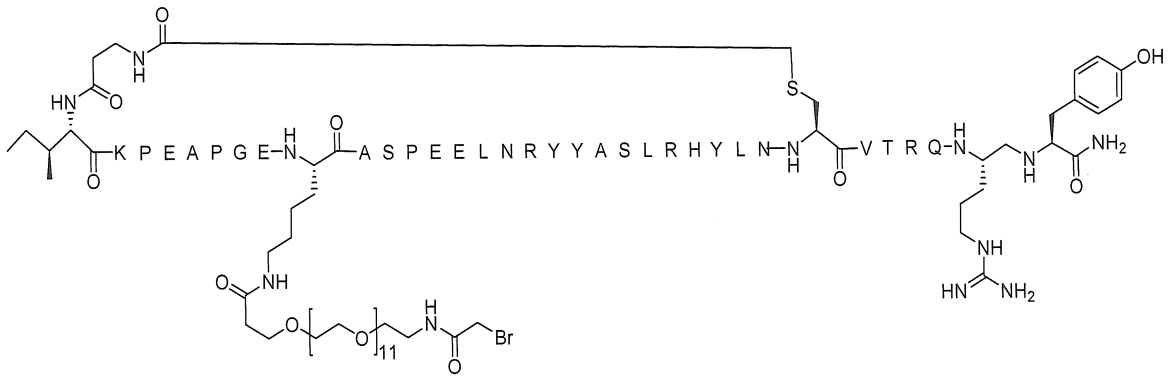
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 94

Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-C30), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

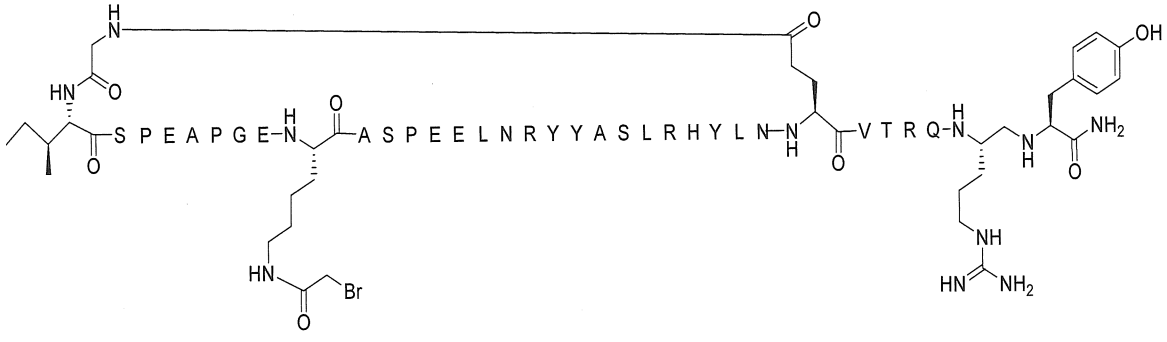
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 95

Tên: [Xyclo-(G2-E30), S4, K(AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

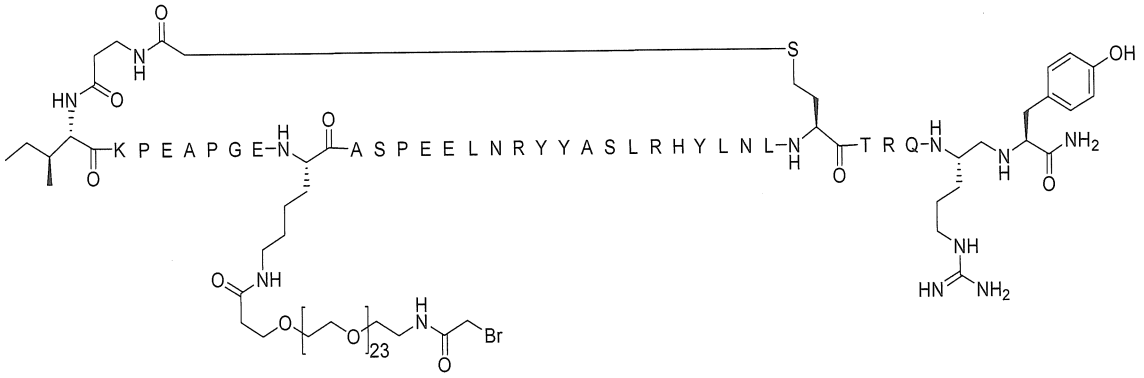
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 96

Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(PEG24-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

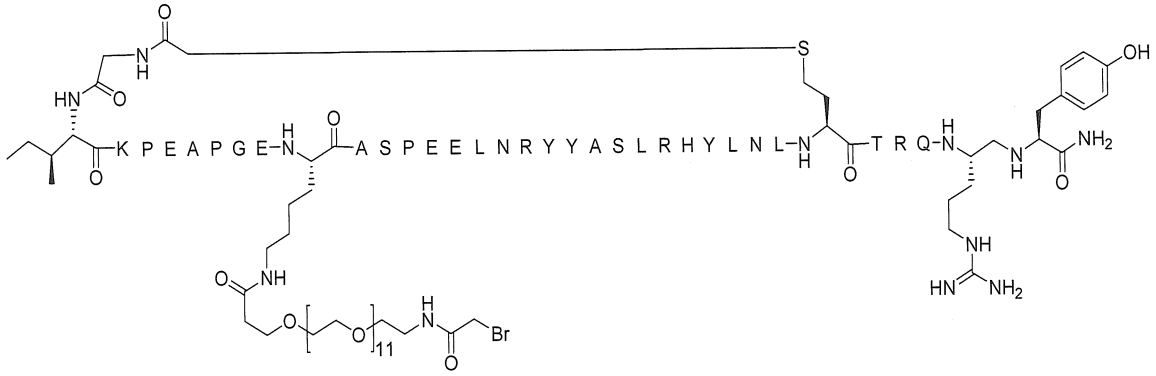
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 97

Tên: [Xyclo-(G2-Ac-hC31), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(R35-Y36)]-PYY2-36

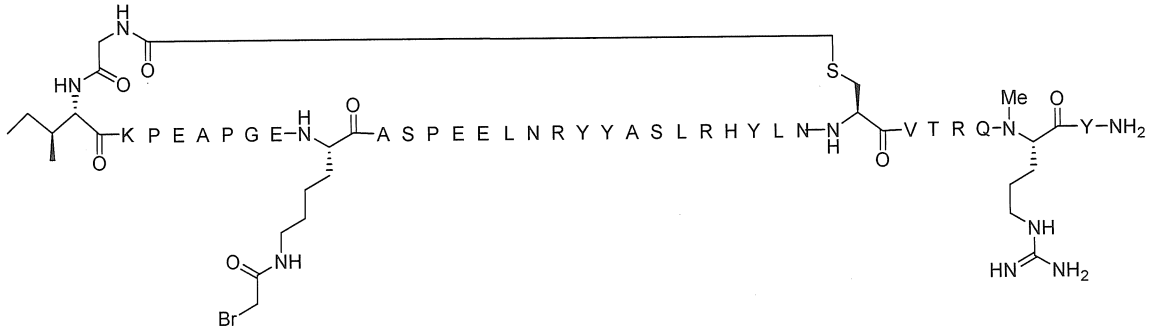
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 98

Tên: [Xyclo-(G2-COCH$_2$-C30), K(AcBr)11, N-Me-R35]-PYY2-36

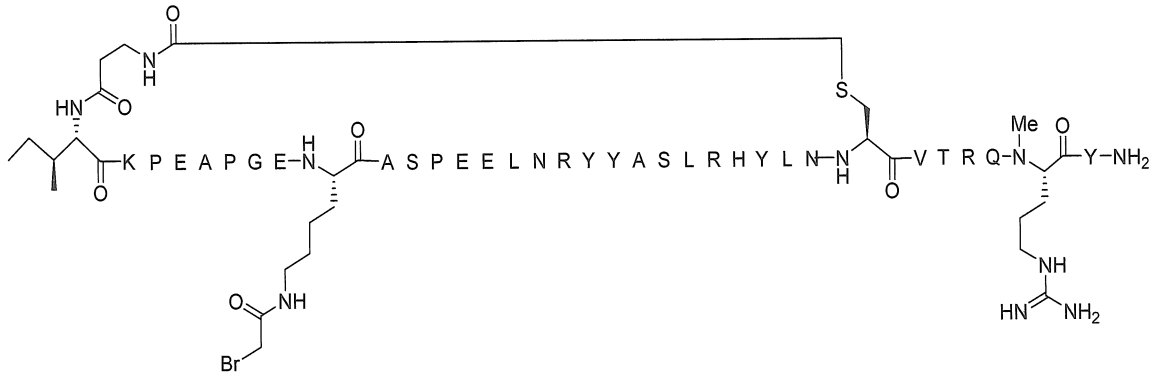
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 99

Tên: [Xyclo-(βA2-$COCH_2$-C30), K(AcBr)11, N-Me-R35]-PYY2-36

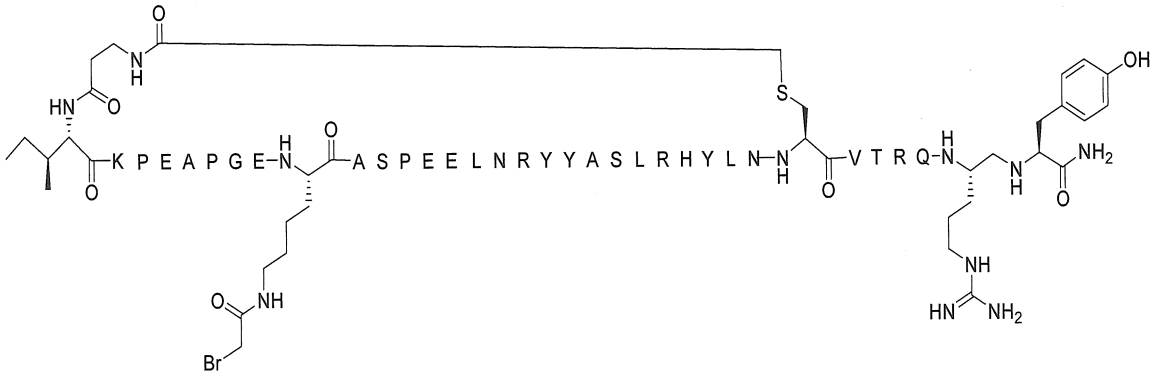
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 100

Tên: [Xyclo-(βA2-$COCH_2$-C30), K(AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 101

hPYY3-36

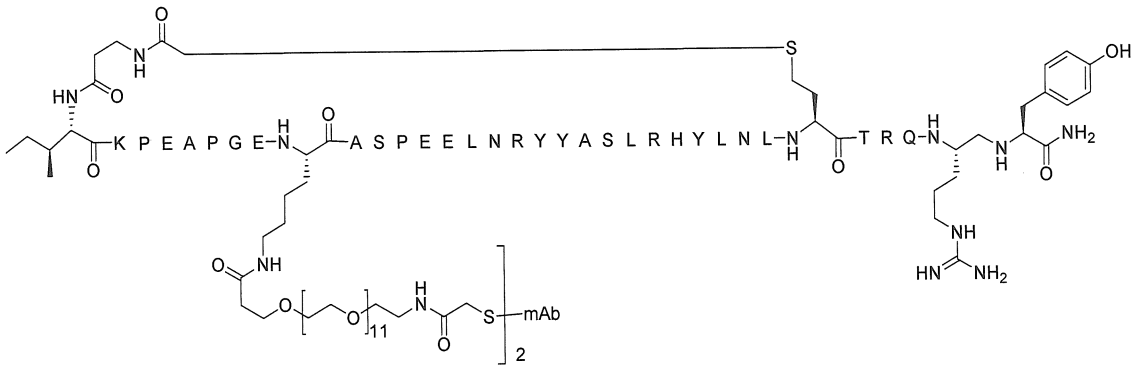
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 102

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(PEG12)11, *psi*-(35R,36Y)]-PYY2-36 (Hợp chất 1)

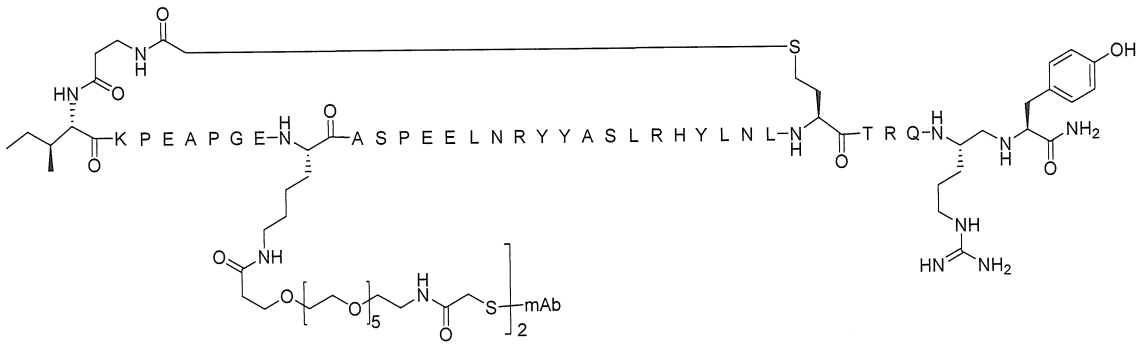
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 103

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(PEG6)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Hợp chất 2)

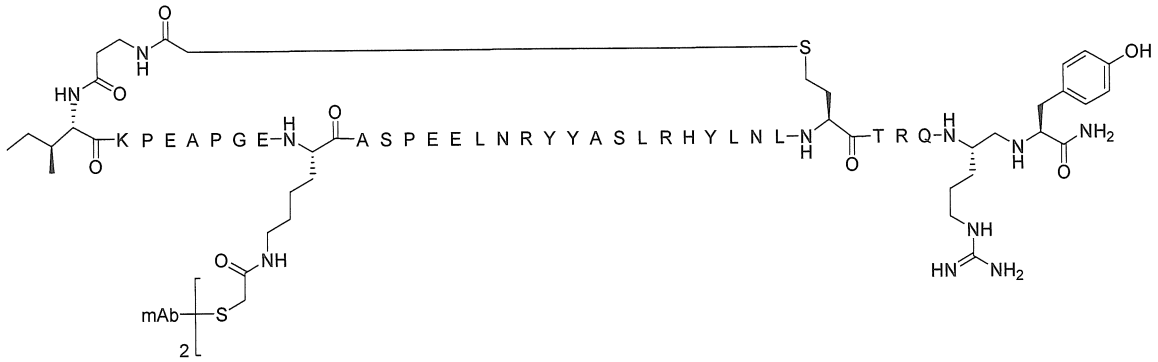
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 104

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Hợp chất 3)

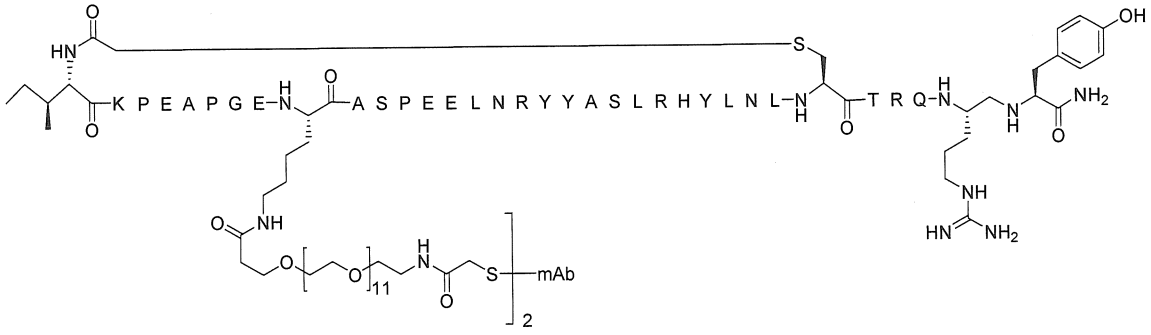
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 105

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(I3-COCH$_2$-C31), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36 (Hợp chất 4)

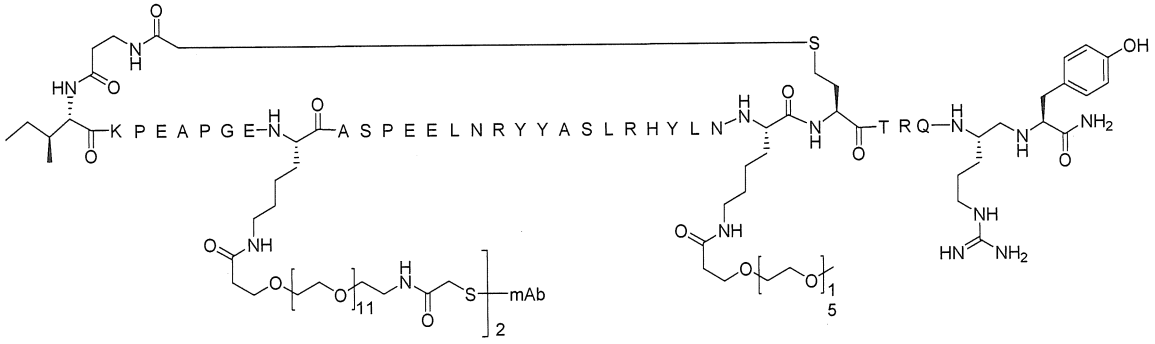
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 106

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(PEG12)11, K(mPEG16)30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Hợp chất 5)

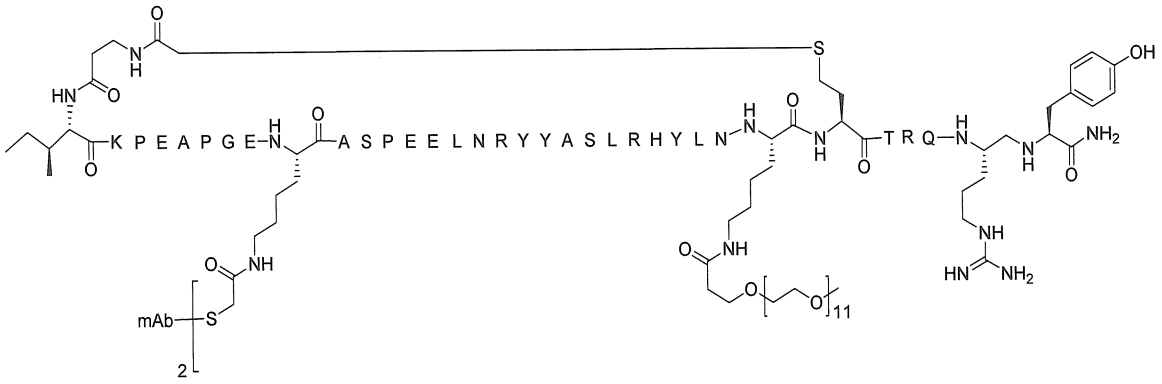
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 107

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(βA2-$COCH_2$-hC31), K11, K(mPEG12)20, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Hợp chất 6)

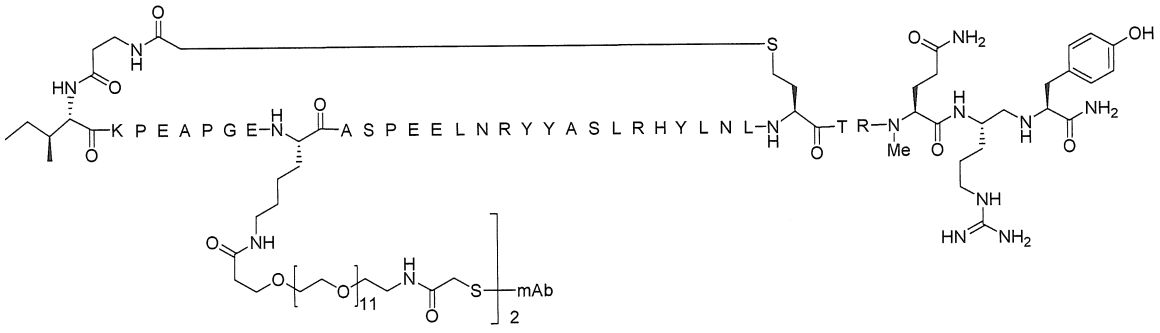
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 108

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(βA2-$COCH_2$-hC31), K(PEG12)11, (N-Me)Q34, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Hợp chất 7)

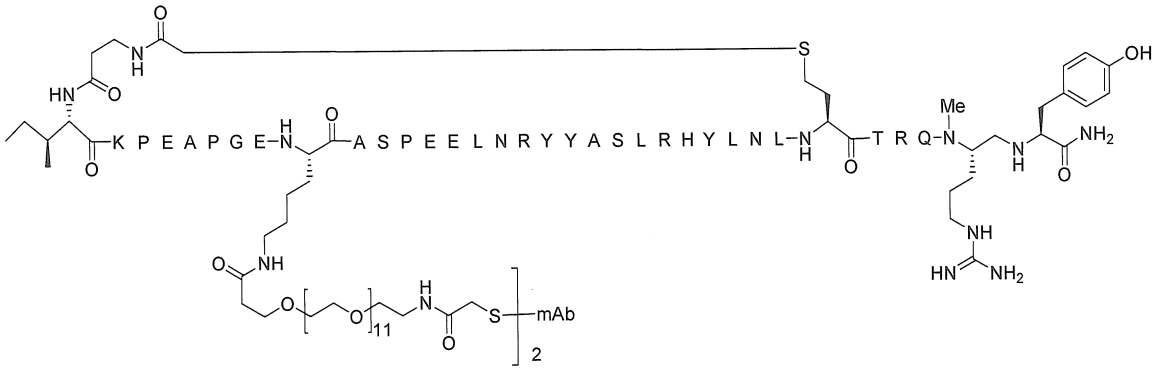
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 109

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(βA2-$COCH_2$-hC31), K(PEG12)11, N-Me-R35, *psi*-(R35,36Y)]-PYY2-36 (Hợp chất 8)

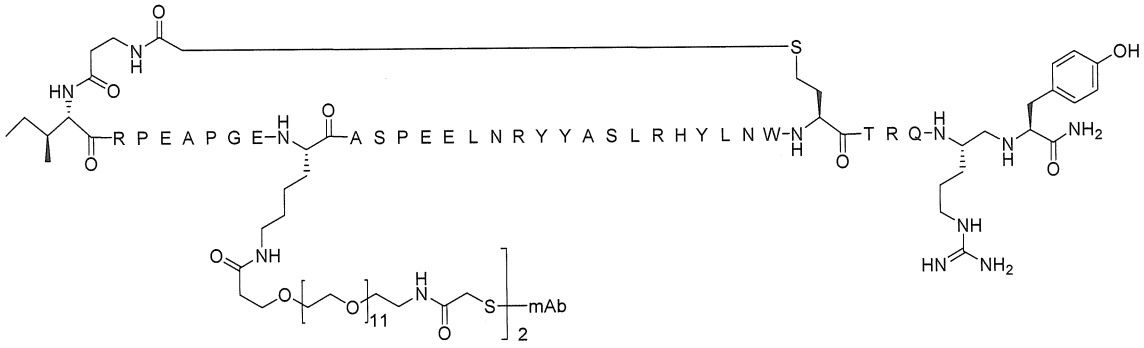
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 110

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), R4, K(PEG12)11, W30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Hợp chất 9)

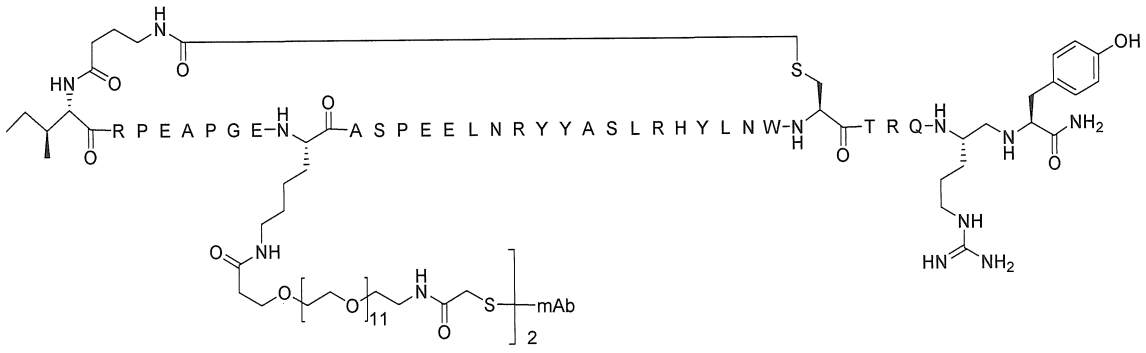
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 111

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(3I-COCH$_2$CH$_2$CH$_2$NHCOCH$_2$-C31), R4, K(PEG12)11, W30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36 (Hợp chất 10)

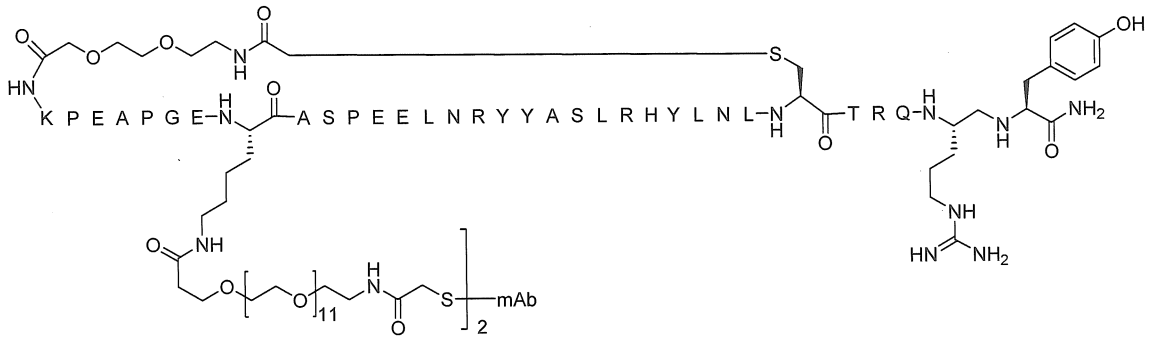
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 112

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(K4-OEG-COCH$_2$-C31), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY4-36 (Hợp chất 11)

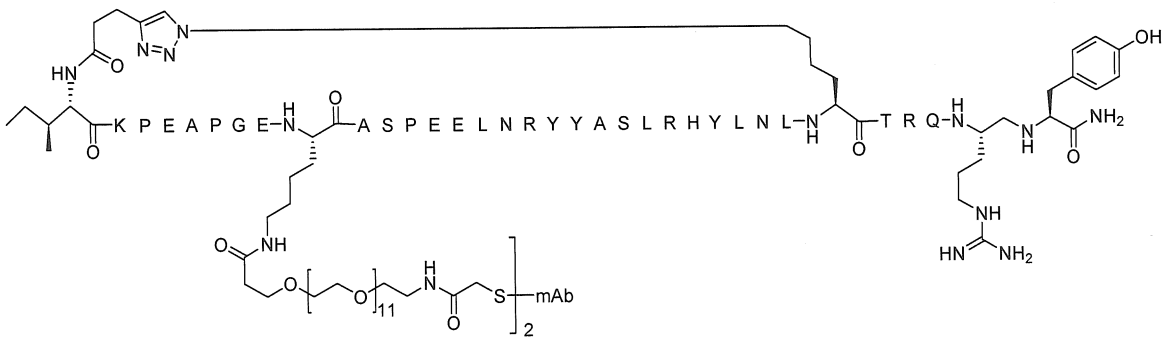
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 113

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(I3-COCH$_2$CH$_2$triazolylNle31), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36 (Hợp chất 12)

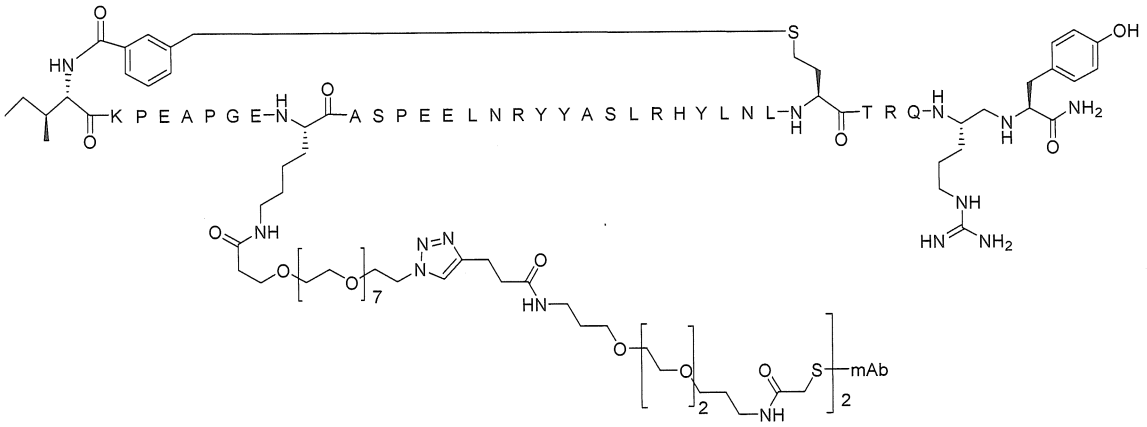
Cấu trúc



SỐ ID TRÌNH TỰ: 114

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(I3-*m*-CO-benzyl-hC31), K(PEG8-triazolyl-CH$_2$CH$_2$CO-PEG4)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36 (Hợp chất 13)

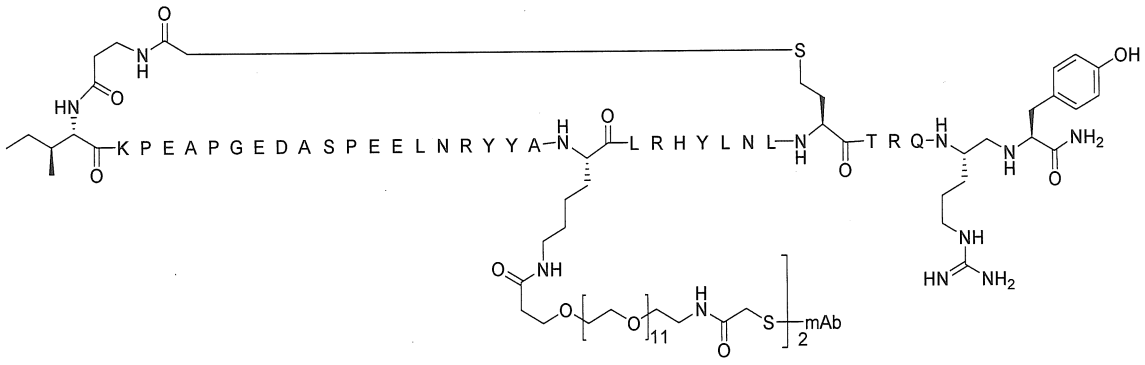
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 115

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(PEG12)23, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Hợp chất 14)

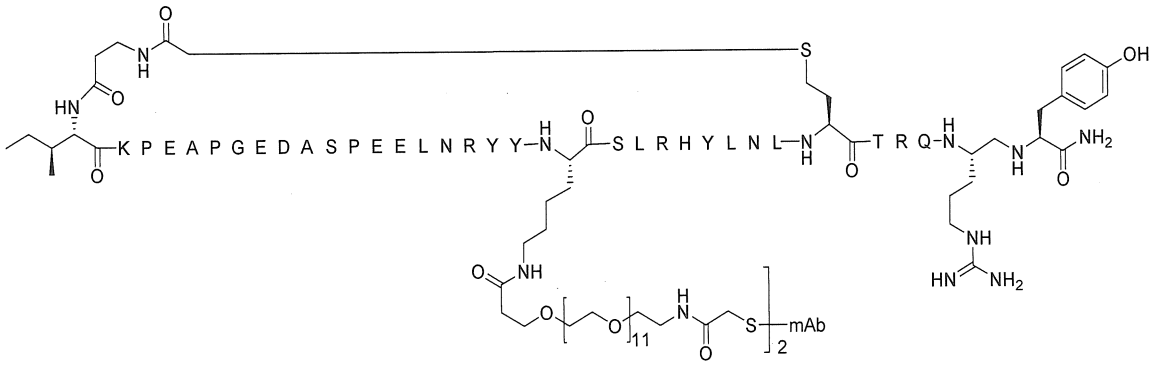
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 116

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(PEG12)22, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Hợp chất 15)

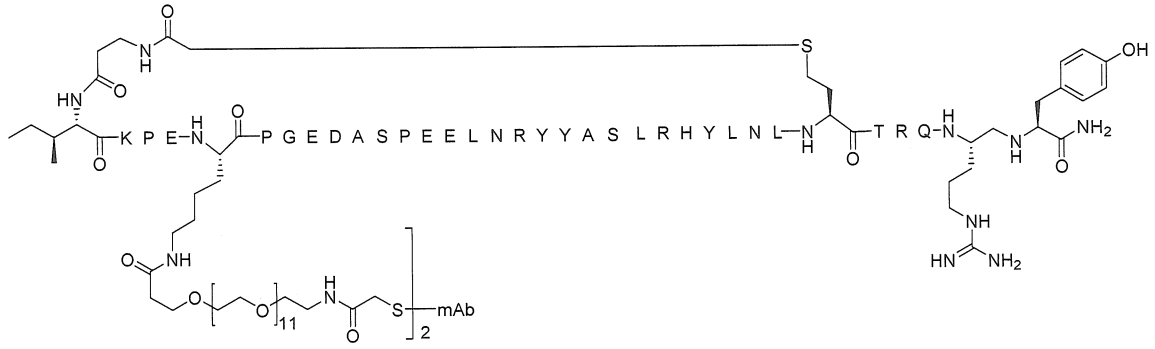
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 117

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(PEG12)7, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Hợp chất 16)

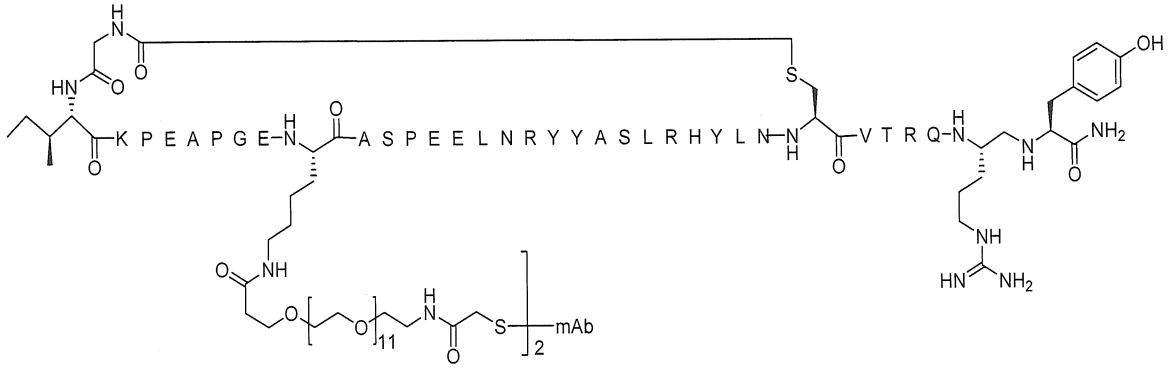
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 118

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(G2-COCH$_2$-C30), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Hợp chất 17)

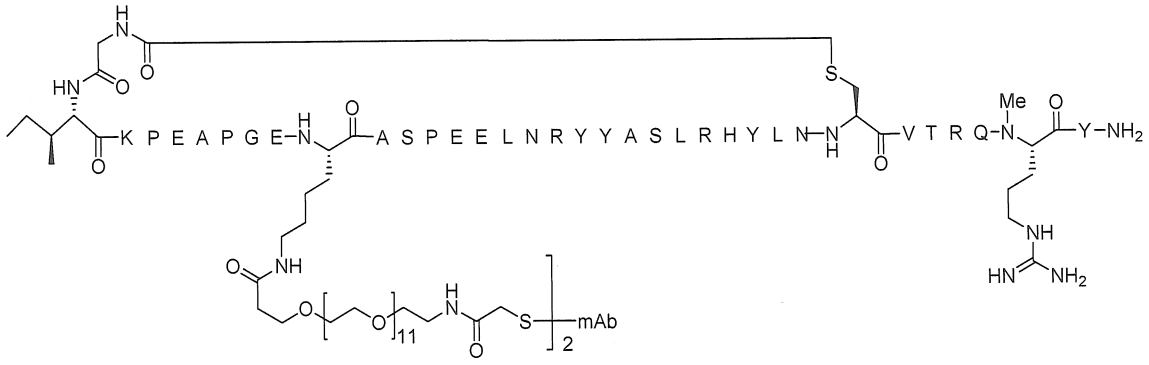
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 119

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(G2-COCH$_2$-C30), K(PEG12)11, N-Me-R35]-PYY2-36 (Hợp chất 18)

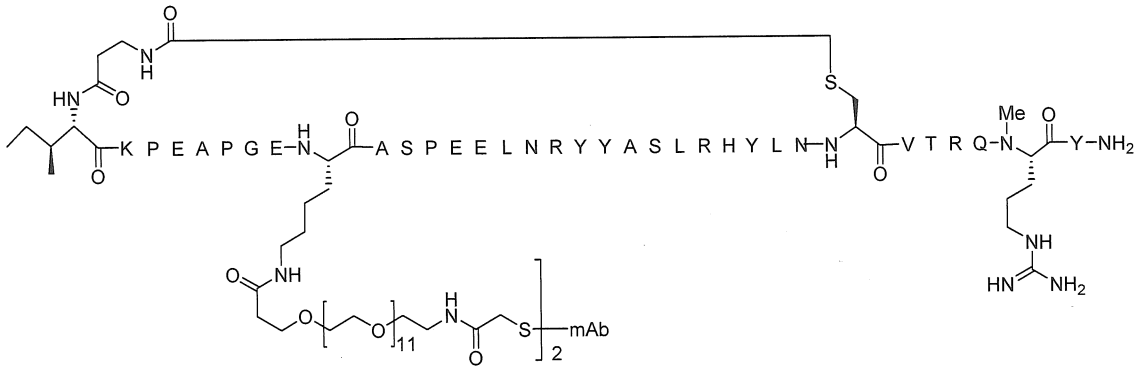
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 120

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(βA2-COCH$_2$-C30), K(PEG12)11, N-Me-R35]-PYY2-36 (Hợp chất 19)

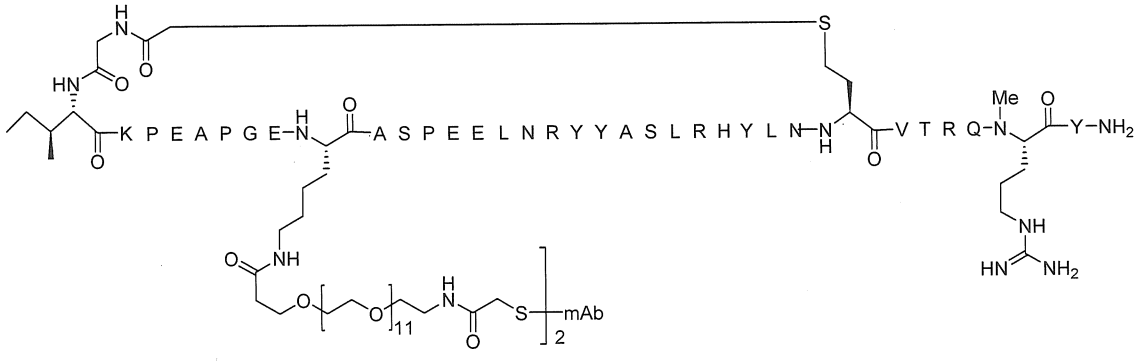
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 121

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(G2-COCH$_2$-hC30), K(PEG12)11, N-Me-R35]-PYY2-36 (Hợp chất 20)

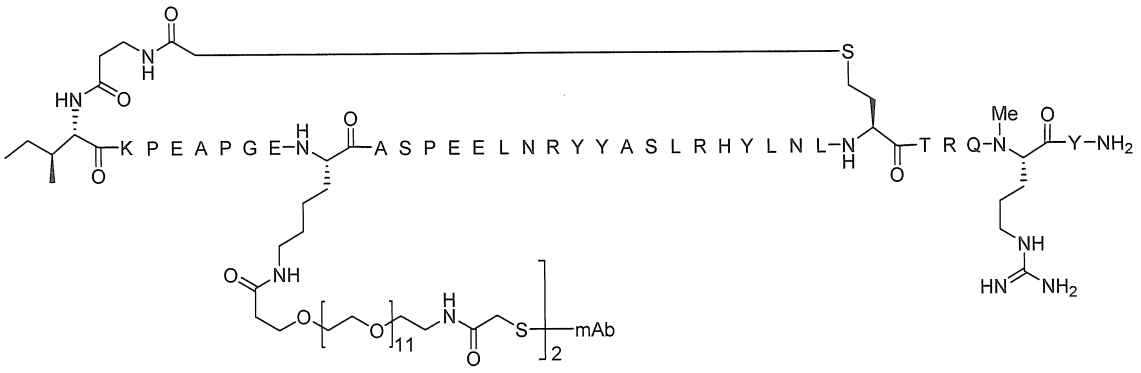
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 122

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(PEG12)11, N-Me-R35]PYY2-36 (Hợp chất 21)

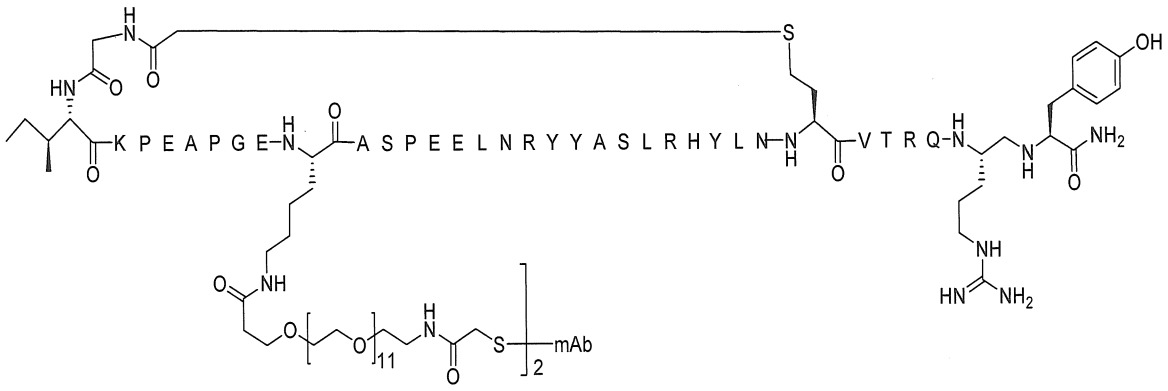
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 123

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(G2-COCH$_2$-hC30), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Hợp chất 22)

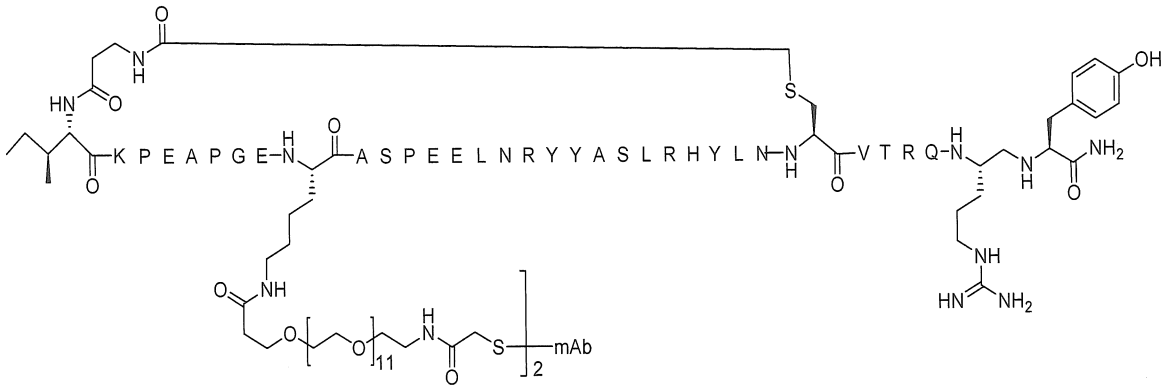
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 124

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(βA2-COCH$_2$-C30), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Hợp chất 23)

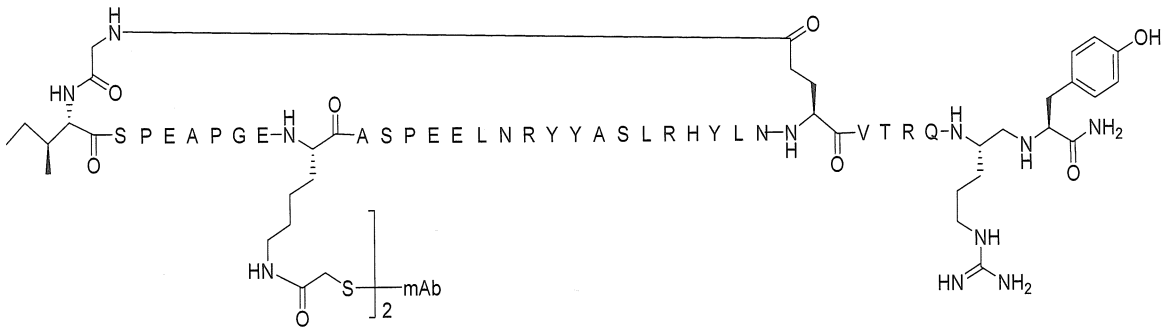
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 125

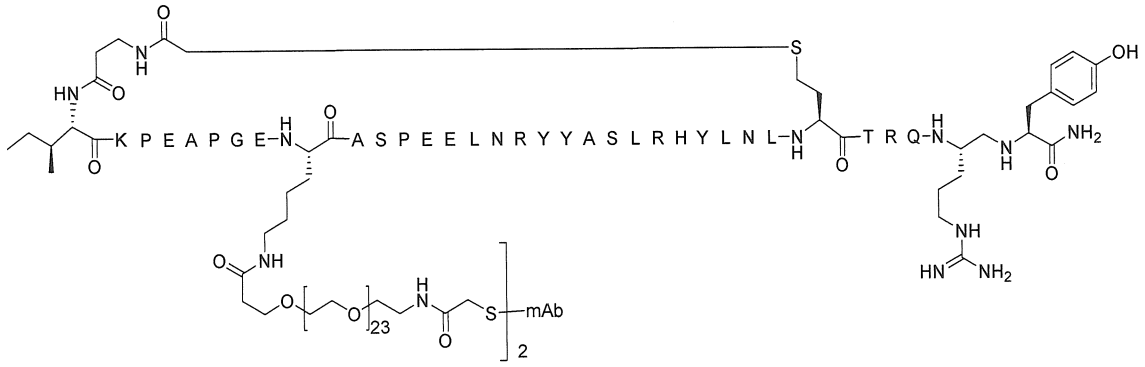
Tên: Liên hợp đồng đime [xyclo-(G2-E30), S4, K11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Hợp chất 24)

Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 126

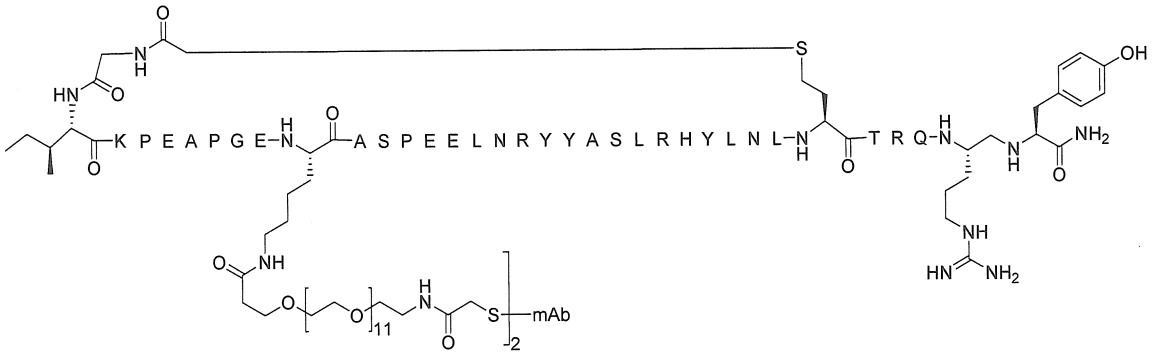
Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K(PEG24)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Hợp chất 25)



SỐ ID TRÌNH TỰ: 127

Tên: Liên hợp đồng đime mAb [xyclo-(G2-Ac-hC31), K(PEG12)11, *psi*-(R35-Y36)]-PYY2-36 (Hợp chất 26)

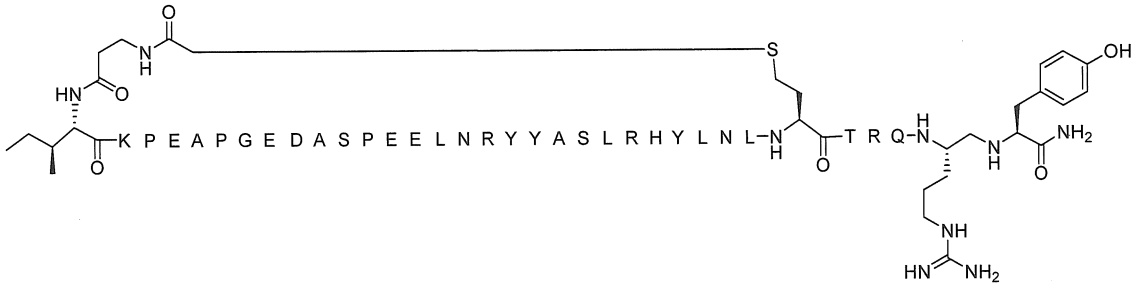
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 147

Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

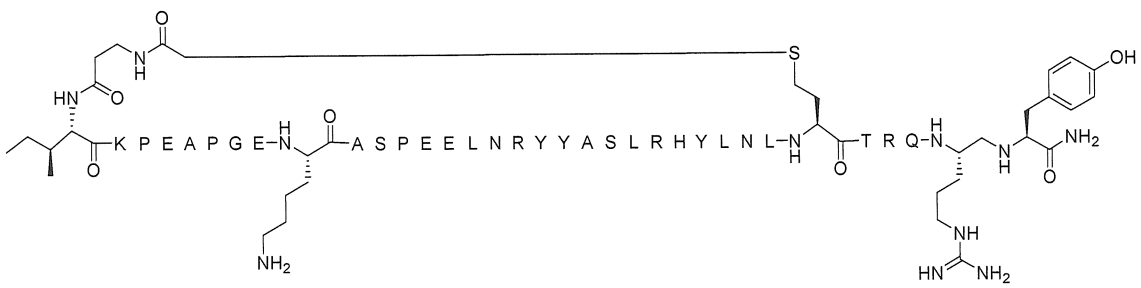
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 148

Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-hC31), K11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

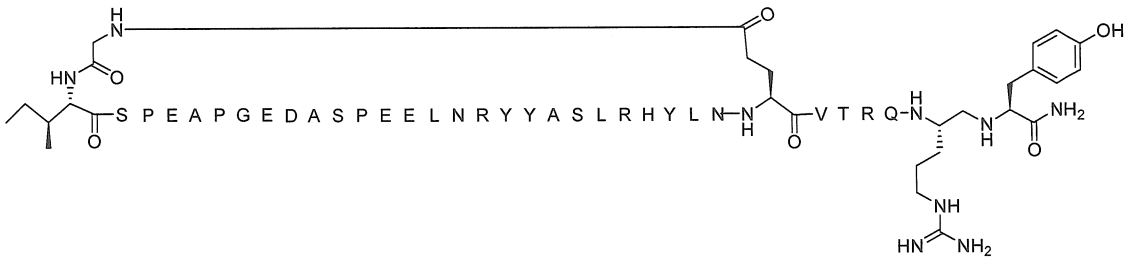
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 149

Tên: [Xyclo-(G2-E30), S4, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

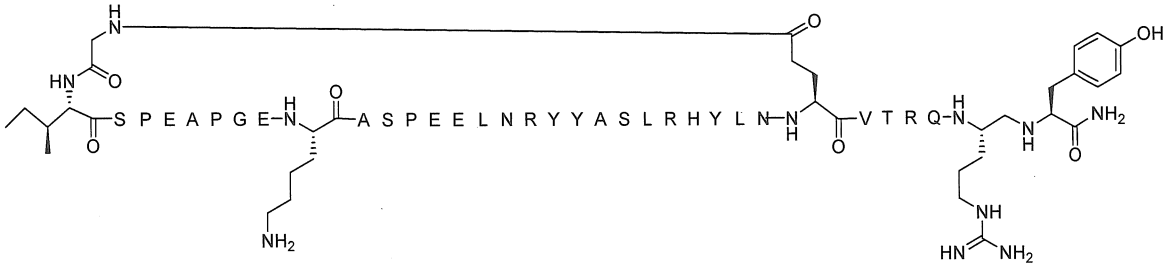
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 150

Tên: [Xyclo-(G2-E30), S4,K11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

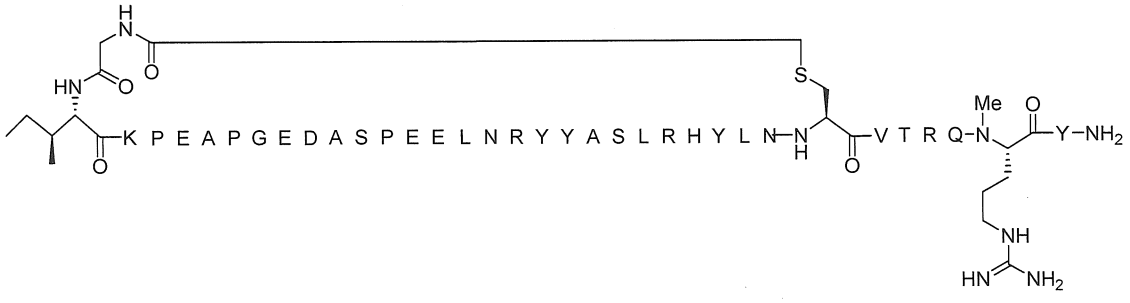
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 151

Tên: [Xyclo-(G2-$COCH_2$-C30), N-Me-R35]-PYY2-36

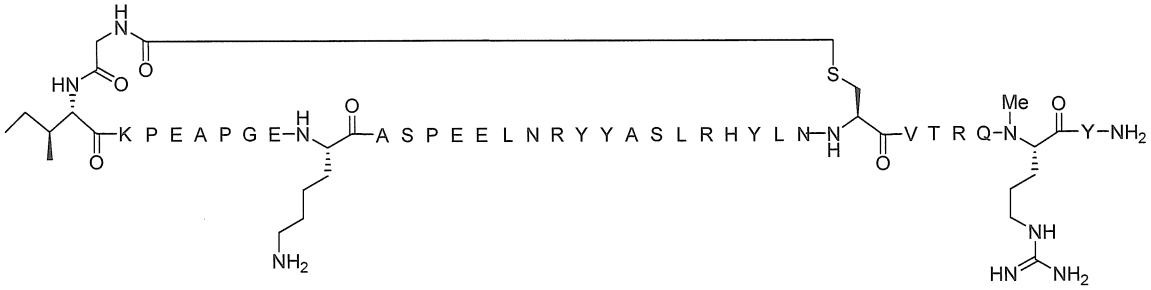
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 152

Tên: [Xyclo-(G2-$COCH_2$-C30), K11, N-Me-R35]-PYY2-36

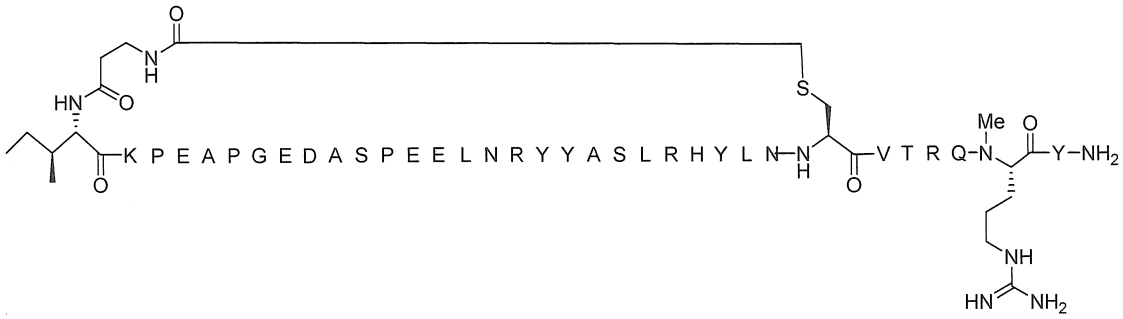
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 153

Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-C30), N-Me-R35]-PYY2-36

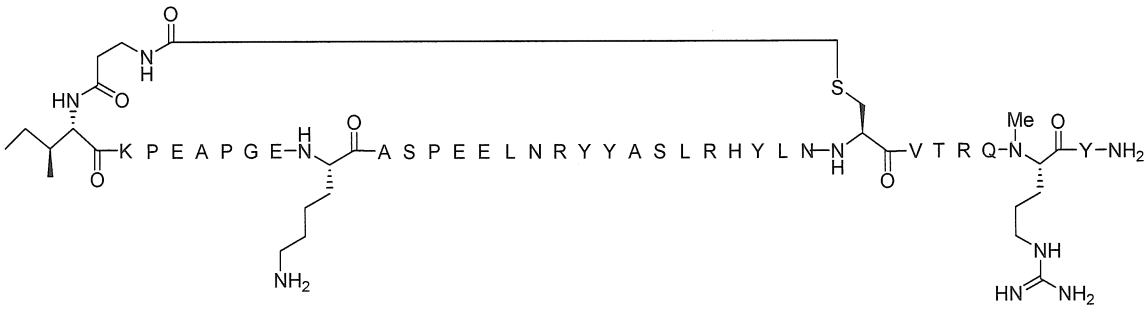
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 154

Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-C30), K11, N-Me-R35]-PYY2-36

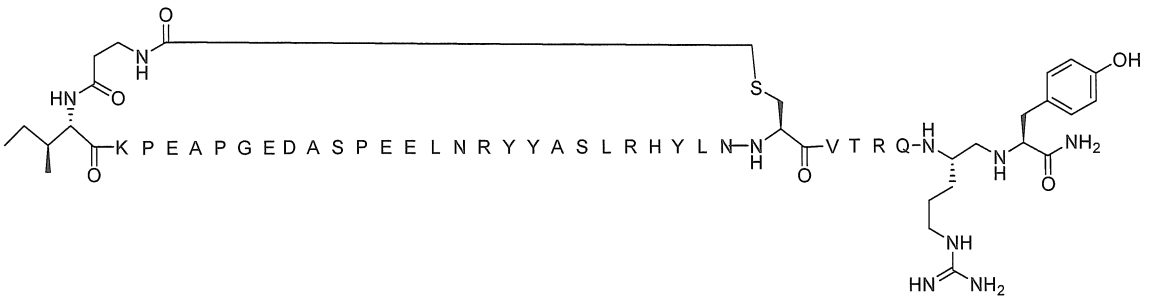
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 155

Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-C30), psi-(R35,Y36)]-PYY2-36

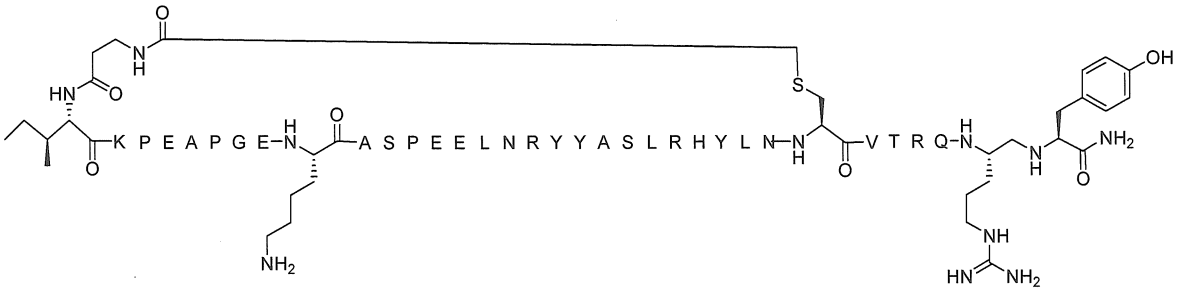
Cấu trúc:



SỐ ID TRÌNH TỰ: 156

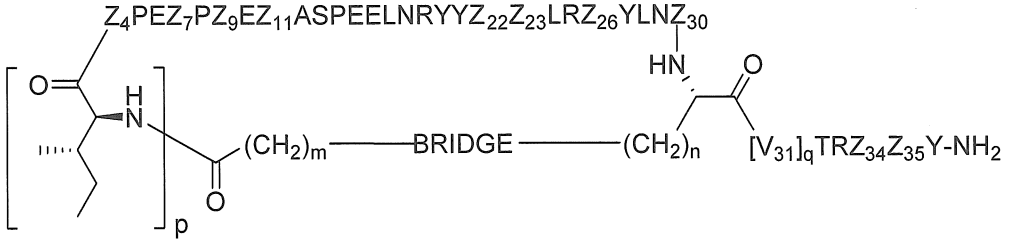
Tên: [Xyclo-(βA2-COCH$_2$-C30), K11, psi-(R35,Y36)]-PYY2-36

Cấu trúc:



YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Thể liên hợp bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được ghép với peptit PYY vòng, trong đó peptit PYY vòng được biểu diễn bởi Công thức I hoặc dẫn xuất hoặc muối dược dụng của nó:



Công thức I

trong đó

p là 0 hoặc 1;

m là 0, 1, 2, 3, 4, hoặc 5;

n là 1, 2, 3, hoặc 4;

q là 0 hoặc 1; miễn là q là 1 chỉ khi không có Z_{30};

CẦU là -Ph-CH_2-S-, -triazolyl-, -NHC(O)CH_2S-, -SCH_2C(O)NH-, -$(OCH_2CH_2)_2$NHC(O)CH_2S, -NHC(O)-, hoặc -CH_2S-;

Z_4 là K, A, E, S, hoặc R;

Z_7 là A hoặc K;

Z_9 là G hoặc K;

Z_{11} là D hoặc K;

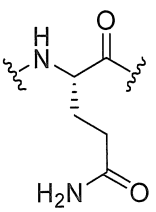
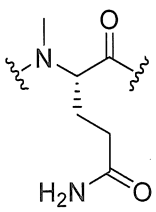
Z_{22} là A hoặc K;

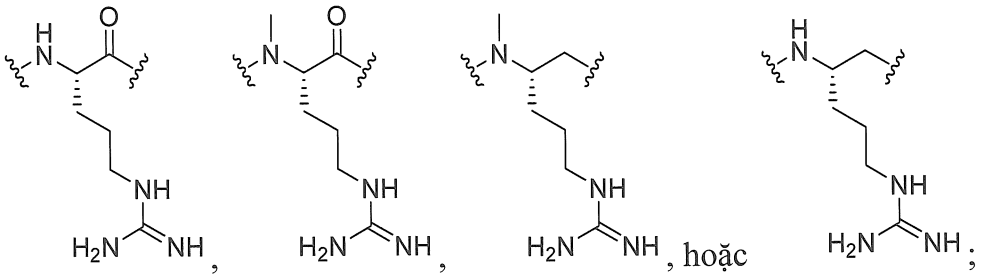
Z_{23} là S hoặc K;

Z_{26} là A hoặc H;

Z_{30} là L, W, không có mặt, hoặc K;

miễn là Z_{30} chỉ không có mặt khi q là 1;

Z_{34} là  hoặc  ;

Z_{35} là 

trong đó dẫn xuất là hợp chất có Công thức I được cải biến bằng một hoặc nhiều quy trình được chọn từ nhóm chỉ bao gồm amit hóa, glycosyl hóa, carbamyl hóa, sulfat hóa, phosphoryl hóa, tạo vòng, liên kết với chất béo, và gắn kết với polyetylen glycol (pegylation).

2. Thể liên hợp theo điểm 1, trong đó peptit PYY vòng là hợp chất có Công thức I hoặc chất dẫn xuất của peptit PYY vòng có công thức I được cải biến bằng một hoặc nhiều quy trình được chọn từ nhóm chỉ bao gồm amit hóa, liên kết với chất béo, gắn kết với polyetylen glycol (pegylation), hoặc muối dược dụng của nó.

3. Thể liên hợp theo điểm 1, trong đó peptit PYY vòng được biểu diễn bởi Công thức I hoặc dẫn xuất hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

p là 0 hoặc 1;

m là 0, 1, 2, 3, 4, hoặc 5;

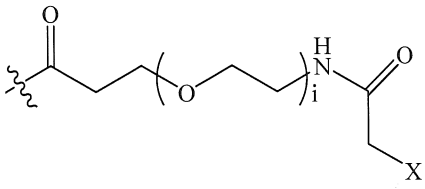
n là 1, 2, 3, hoặc 4;

q là 0 hoặc 1; miễn là q là 1 chỉ khi không có Z_{30};

Cầu là -Ph-CH_2-S-, -triazolyl-, -NHC(O)CH_2S-, -SCH_2C(O)NH_2-, -$(OCH_2CH_2)_2$NHC(O)CH_2S, -NHC(O)-, hoặc -CH_2S-;

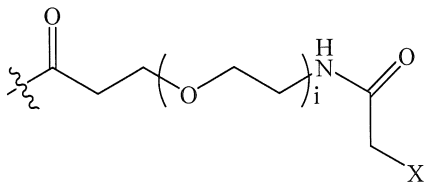
Z_4 là K, A, E, S, hoặc R;

Z_7 là A hoặc K, trong đó chuỗi bên amino của K này được tùy chọn thế với



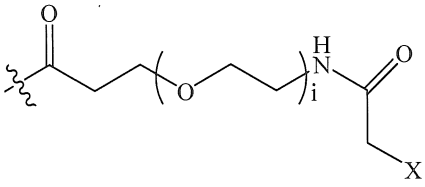
X, trong đó i là số nguyên 0 đến 24, và X = Br, I hoặc Cl, -C(O)CH_2Br, -C(O)CH_2I, hoặc -C(O)CH_2Cl;

Z_9 là G hoặc K, trong đó chuỗi bên amino của K này được tùy chọn thế với



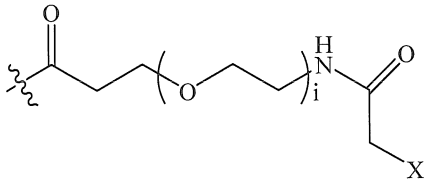
X, trong đó i là số nguyên 0 đến 24, và X = Br, I hoặc Cl, -C(O)CH_2Br, -C(O)CH_2I, hoặc -C(O)CH_2Cl;

Z_{11} là D hoặc K, trong đó chuỗi bên amino của K này được tùy chọn thế với



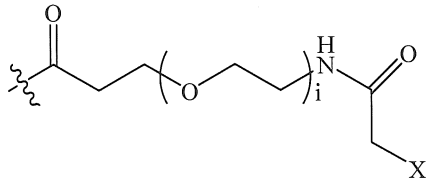
, trong đó i là số nguyên 0 đến 24, và X = Br, I hoặc Cl, -C(O)CH_2Br, -C(O)CH_2I, hoặc -C(O)CH_2Cl;

Z_{22} là A hoặc K, trong đó chuỗi bên amino của K này được tùy chọn thế với



, trong đó i là số nguyên 0 đến 24, và X = Br, I hoặc Cl, -C(O)CH_2Br, -C(O)CH_2I, hoặc -C(O)CH_2Cl;

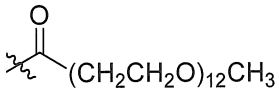
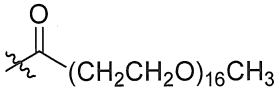
Z_{23} là S hoặc K, trong đó chuỗi bên amino của K này được tùy chọn thế với

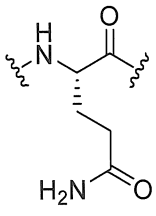
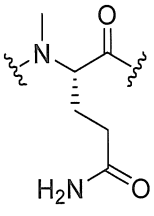


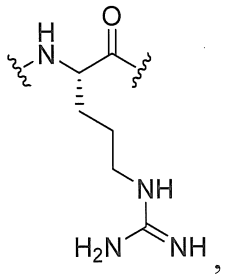
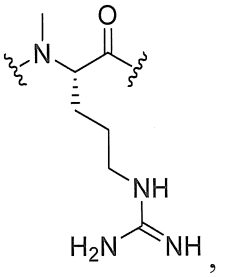
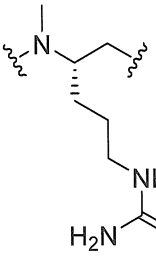
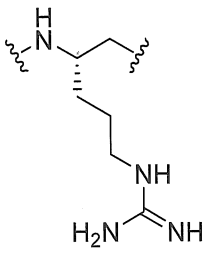
, trong đó i là số nguyên 0 đến 24, và X = Br, I hoặc Cl, -C(O)CH_2Br, -C(O)CH_2I, hoặc -C(O)CH_2Cl;

Z_{26} là A hoặc H;

Z_{30} là L hoặc K, trong đó chuỗi bên amino của K này được thế với

 hoặc  ;

Z_{34} là  hoặc  ; và

Z_{35} là  ,  ,  , hoặc  .

4. Thể liên hợp theo điểm 1, trong đó peptit PYY vòng được biểu diễn bởi Công thức I hoặc dẫn xuất hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

p là 0 hoặc 1;

m là 0, 1, 2, 3, hoặc 5;

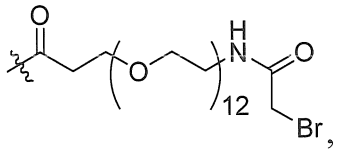
n là 1, 2, hoặc 4;

q là 0 hoặc 1; miễn là q chỉ là 1 khi không có Z_{30};

CẦU là -Ph-CH_2-S-, -triazolyl-, -NHC(O)CH_2S-, -$(OCH_2CH_2)_2$NHC(O)CH_2S, -NHC(O)-, hoặc -CH_2S-;

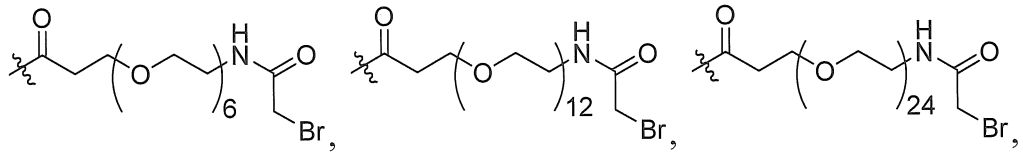
Z_4 là K, A, E, S, hoặc R;

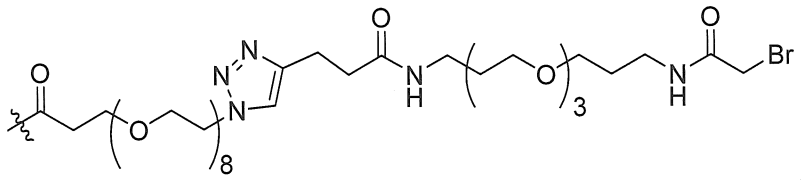
Z_7 là A hoặc K, trong đó chuỗi bên amino của K này được thế với



Z_9 là G hoặc K,

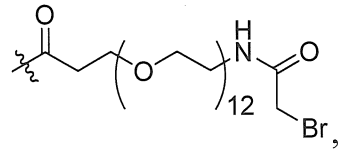
Z_{11} là D hoặc K, trong đó chuỗi bên amino của K này được thế với



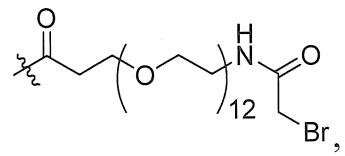


, -C(O)CH_2Br,

Z_{22} là A hoặc K, trong đó chuỗi bên amino của K này được thế với

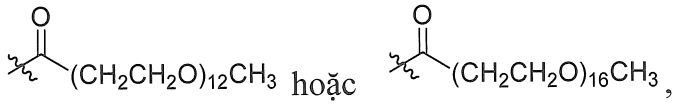


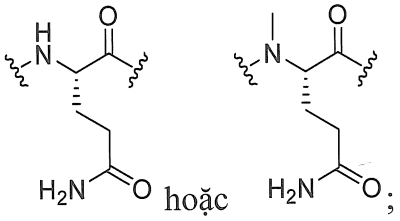
Z_{23} là S hoặc K, trong đó chuỗi bên amino của K này được thế với

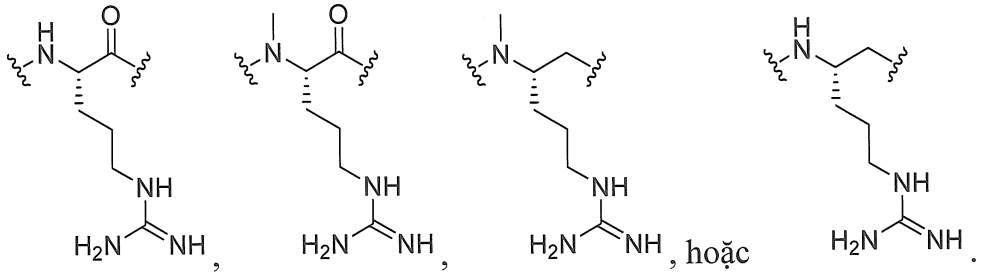


Z_{26} là A hoặc H,

Z_{30} là L hoặc K, trong đó chuỗi bên amino của K này được thế với



Z_{34} là  hoặc ;

Z_{35} là  hoặc .

5. Thể liên hợp theo điểm 1, trong đó peptit PYY vòng được chọn từ nhóm chỉ bao gồm SEQ ID NO:1, 73-100, và 147-156, hoặc muối dược dụng của nó.

6. Thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong các điểm 1-5, trong đó kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được liên kết cộng hóa trị với peptit PYY vòng ở gốc lysin của peptit PYY vòng thông qua mối liên kết; tùy chọn trong đó mối liên kết bao gồm nhóm được chọn từ nhóm chỉ bao gồm polyetylen glycol (PEG)8-triazolyl-CH_2CH_2CO-PEG4, chuỗi PEG của 2-24 đơn vị PEG, chuỗi alkyl chứa 2-10 đơn vị cacbon, $(Gly_4Ser)_j$ trong đó j = 1-4, $(AlaPro)_u$ trong đó u = 1-10, và liên kết.

7. Thể liên hợp theo điểm 6, trong đó chỉ một trong các Z_7, Z_9, Z_{11}, Z_{22} và Z_{23} trong công thức I là lysin, và lysin được liên kết cộng hóa trị với gốc xystein được thiết kế của kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó thông qua mối liên kết.

8. Thể liên hợp bao gồm phân tử theo công thức sau:

cPYY-L]$_2$-mAb

trong đó

cPYY là trình tự peptit PYY vòng được chọn từ nhóm chỉ bao gồm SEQ ID NOs: 102-127 hoặc muối dược dụng của nó;

L là mối liên kết;

mAb là kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được ghép nối với peptit PYY vòng thông qua mối liên kết; và

]$_2$ là 1 hoặc 2 của peptit PYY vòng được liên kết cộng hóa trị với mAb.

9. Thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 1 đến 8, trong đó kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm vùng xác định bổ thể chuỗi nặng 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3, và vùng xác định bổ thể chuỗi nhẹ 1 (LCDR1), LCDR2, và LCDR3, có trình tự polypeptit SEQ ID NO: 141, 142, 143, 144, 145, và 146, tương ứng, tùy chọn trong đó kháng thể đơn dòng được phân lập bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng (VH) có trình tự polypeptit SEQ ID NO:137, và miền biến đổi chuỗi nhẹ (VL) có trình tự polypeptit SEQ ID NO:139.

10. Thể liên hợp theo điểm 9, còn bao gồm phần Fc, tùy chọn bao gồm chuỗi nặng (HC) có trình tự polypeptit SEQ ID NO:138 và chuỗi nhẹ (LC) có trình tự polypeptit SEQ ID NO:140.

11. Thể liên hợp bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được ghép với peptit PYY vòng, trong đó:

kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm vùng xác định bổ thể chuỗi nặng 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3, và vùng xác định bổ thể chuỗi nhẹ 1 (LCDR1), LCDR2, và LCDR3, có trình tự polypeptit SEQ ID NO: 141, 142, 143, 144, 145, và 146, tương ứng, tốt hơn kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng (VH) có trình tự polypeptit SEQ ID NO:137, và miền biến đổi chuỗi nhẹ (VL) có trình tự polypeptit SEQ ID NO:139, và tốt hơn nữa là, kháng thể đơn dòng bao gồm chuỗi nặng (HC) có trình tự polypeptit SEQ ID NO:138 và chuỗi nhẹ (LC) có trình tự polypeptit SEQ ID NO:140;

peptit PYY vòng bao gồm trình tự polypeptit được chọn từ nhóm chỉ bao gồm SEQ ID NOs: 1, 73-100, và 147-156, hoặc muối dược dụng của nó; và

kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được tiếp hợp với peptit PYY vòng ở gốc 7, 9, 11, 22 hoặc 23 của peptit PYY vòng, tốt hơn ở gốc lysin 11 của peptit PYY vòng, trực tiếp hoặc thông qua mối liên kết.

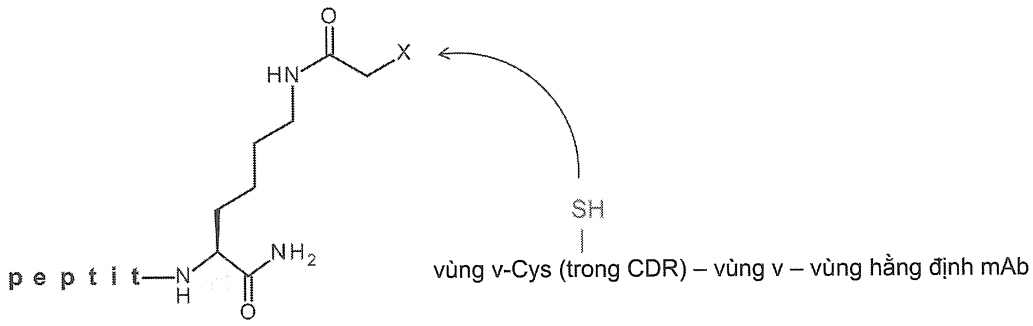
12. Phương pháp tạo thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong các điểm 1-11, bao gồm phản ứng chất có ái lực với điện tử, tốt hơn bromoaxetamit hoặc maleimit, được đưa vào chuỗi bên của peptit PYY vòng, tốt hơn chuỗi bên của gốc lysin của peptit PYY vòng, với nhóm sulfhydryl của gốc xystein của SEQ ID NO:143 của kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, do đó tạo ra liên kết cộng hóa trị giữa peptit PYY vòng và kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó.

13. Dược phẩm bao gồm thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong các điểm 1-11 và chất mang dược dụng của nó.

14. Kit bao gồm thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong các điểm 1-11, tốt hơn còn bao gồm liraglutide và thiết bị tiêm.

15. Phương pháp tạo dược phẩm bao gồm thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong các điểm 1-11, bao gồm kết hợp liên hợp với chất mang dược dụng để thu được dược phẩm.

Hình 1



Hình 2

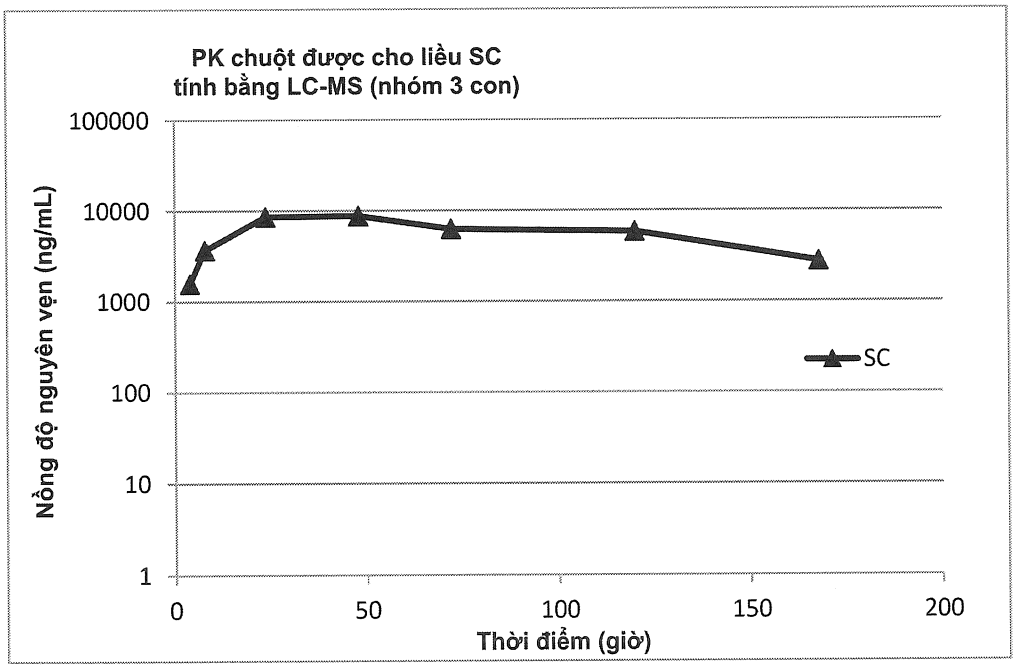
(VH PH9H5 (SỐ ID TRÌNH TỰ: 129

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**G**F**T**F**SS**YAMSWVRQAPGKGLEWVSAISG**S**G**GS**TYYADSV
KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYDG**IY**GELDFWGQGTLVTVSS

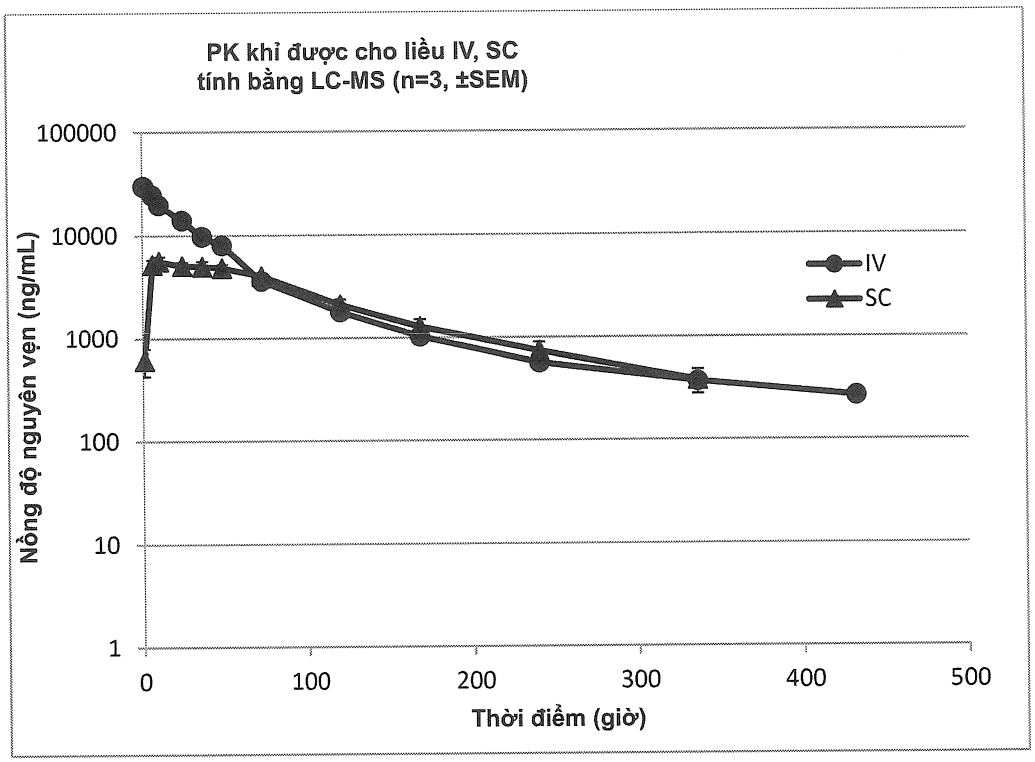
(VL PH9L3 (SỐ ID TRÌNH TỰ: 128

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA**SQS**V**SS**YLAWYQQKPGQAPRLLIY**D**A**S**NRATGIPARFSG
SGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQ**RSNW**PLTFGQGTKVEIK

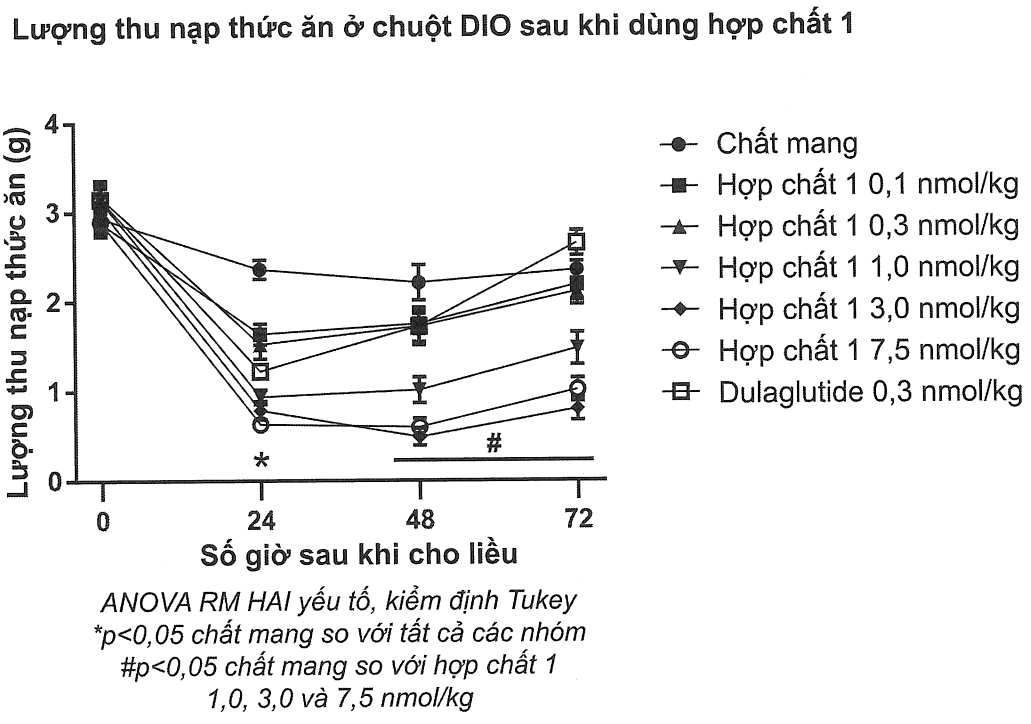
Hình 3



Hình 4



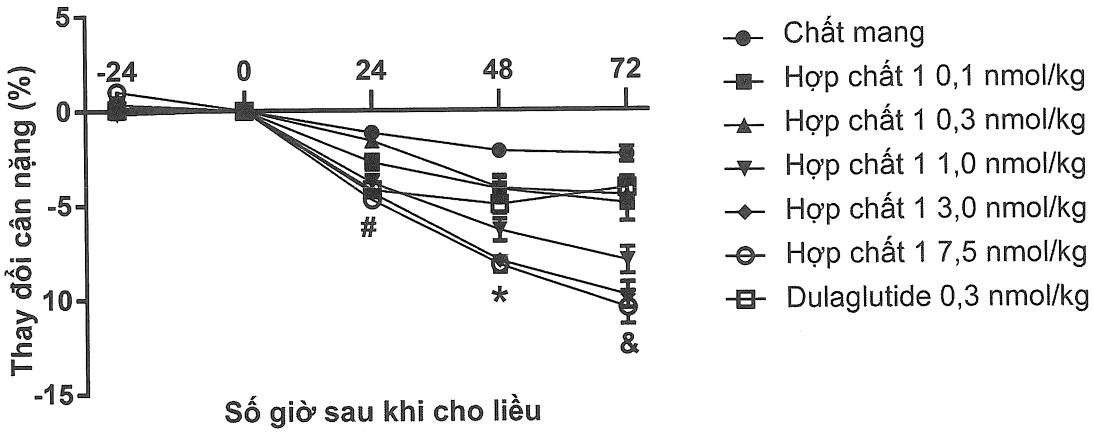
Hình 5



ANOVA RM HAI yếu tố, kiểm định Tukey
**p<0,05 chất mang so với tất cả các nhóm*
#p<0,05 chất mang so với hợp chất 1 1,0, 3,0 và 7,5 nmol/kg

Hình 6

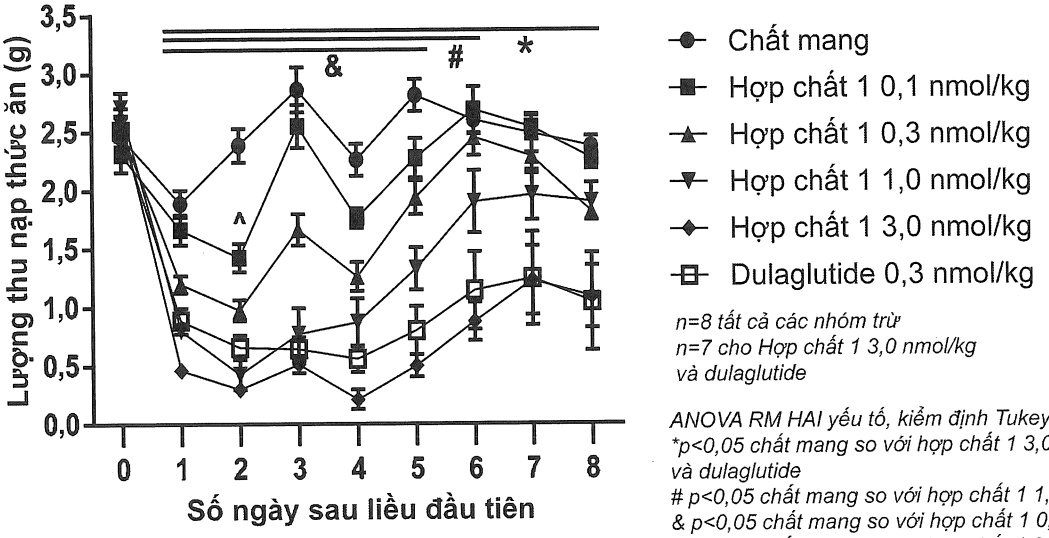
Thay đổi cân nặng cơ thể (BW) ở chuột DIO sau khi dùng hợp chất 1



ANOVA RM HAI yếu tố, kiểm định Tukey
**p<0,05 chất mang so với tất cả các nhóm*
 # p<0,05 chất mang so với hợp chất 1 1,0, 3,0, 7,5 nmol/kg và dulaglutide
& p<0,05 chất mang so với tất cả các nhóm sử dụng hợp chất 1

Hình 7

Lượng thu nạp thức ăn ở chuột DIO sau khi dùng hợp chất 1

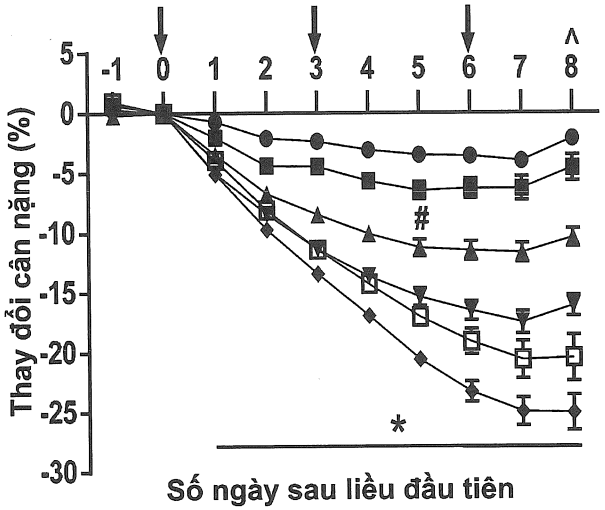


n=8 tất cả các nhóm trừ
n=7 cho Hợp chất 1 3,0 nmol/kg và dulaglutide

ANOVA RM HAI yếu tố, kiểm định Tukey
**p<0,05 chất mang so với hợp chất 1 3,0 nmol/kg và dulaglutide*
 # p<0,05 chất mang so với hợp chất 1 1,0 nmol/kg
& p<0,05 chất mang so với hợp chất 1 0,3 nmol/kg
^ p<0,05 chất mang so với hợp chất 1 0,1 nmol/kg

Hình 8

Thay đổi cân nặng cơ thể (BW) ở chuột DIO sau khi dùng hợp chất 1



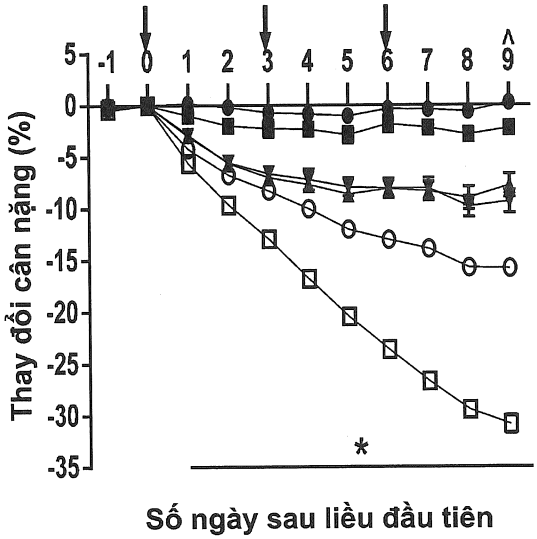
Chất mang
Hợp chất 1 0,1 nmol/kg
Hợp chất 1 0,3 nmol/kg
Hợp chất 1 1,0 nmol/kg
Hợp chất 1 3,0 nmol/kg
Dulaglutide 0,3 nmol/kg

Mũi tên chỉ việc cho liều hợp chất 1 (3 ngày một lần)
Dulaglutide được cho liều mỗi ngày một lần
^ là cân nặng được đo vào buổi sáng trước khi cho nhịn đói

ANOVA RM HAI yếu tố, kiểm định Tukey
**p<0,05 chất mang so với hợp chất 1 0,3, 1,0, 3,0 nmol/kg và dulaglutide*
 # p<0,05 chất mang so với hợp chất 1 0,1 nmol/kg

Hình 9

Thay đổi cân nặng ở chuột DIO

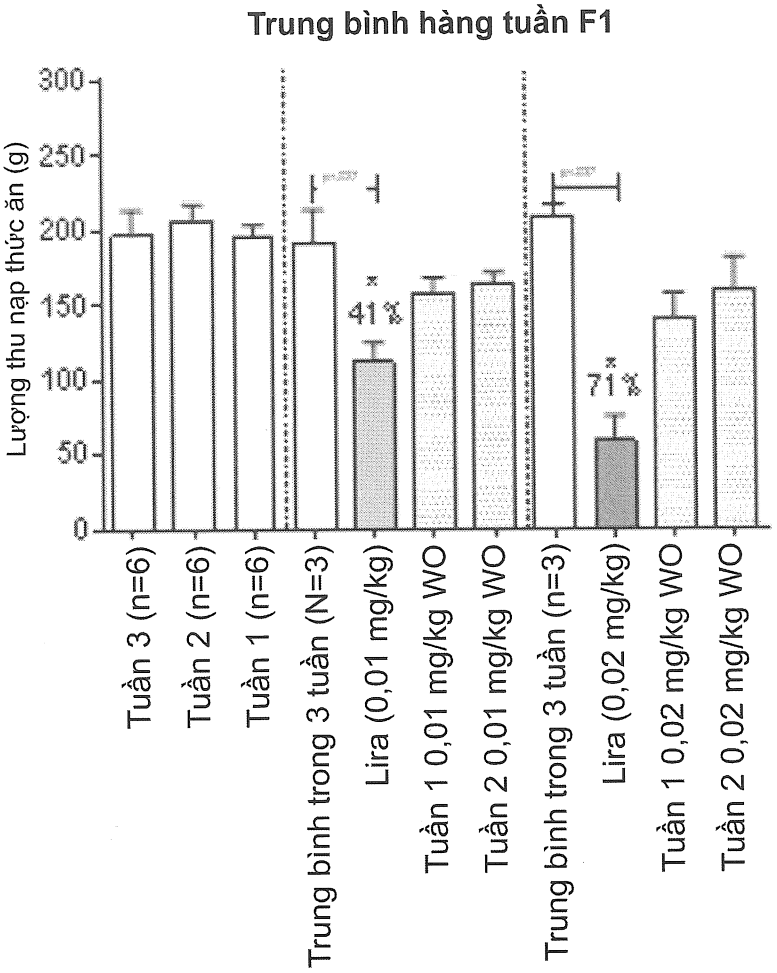


Chất mang
Hợp chất 1 0,1 nmol/kg
Hợp chất 1 1,0 nmol/kg
Liraglutide 10 nmol/kg
Hợp chất 1 0,1 nmol/kg +Lira 10 nmol/kg
Hợp chất 1 1,0 nmol/kg +Lira 10 nmol/kg

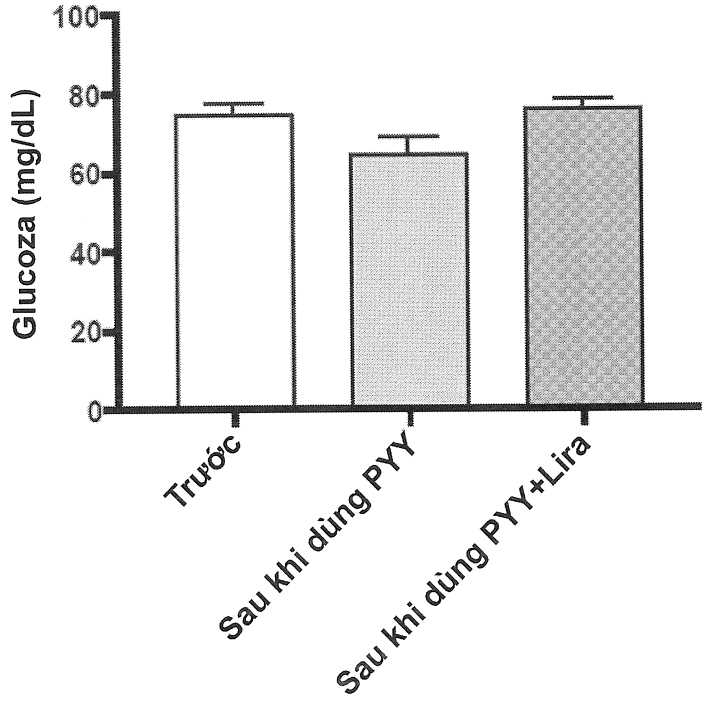
Mũi tên chỉ việc cho liều hợp chất 1 (3 ngày một lần)
Liraglutide được cho liều mỗi ngày một lần
^ là cân nặng được đo vào buổi sáng trước khi cho nhịn đói

ANOVA RM HAI yếu tố, kiểm định Tukey
**p<0,05 chất mang so với tất cả các nhóm trừ hợp chất 1 0,1 nmol/kg*

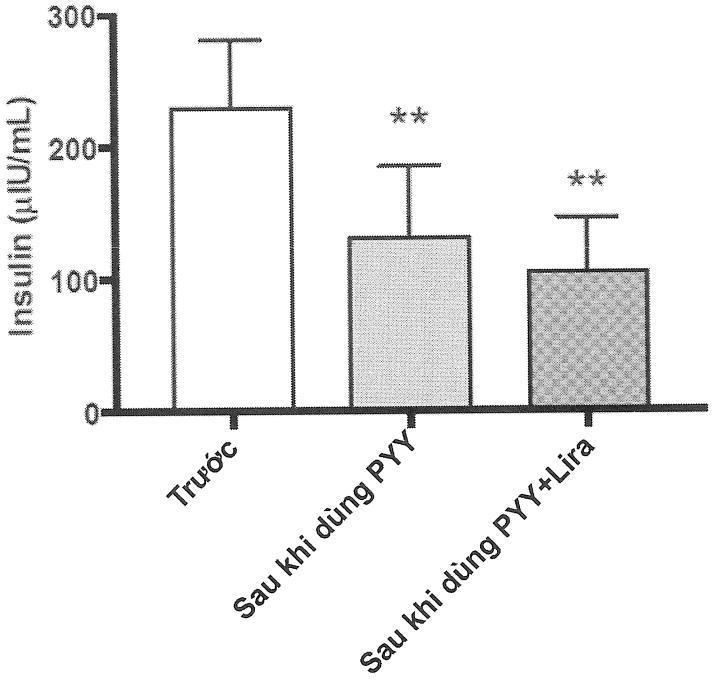
Hình 10



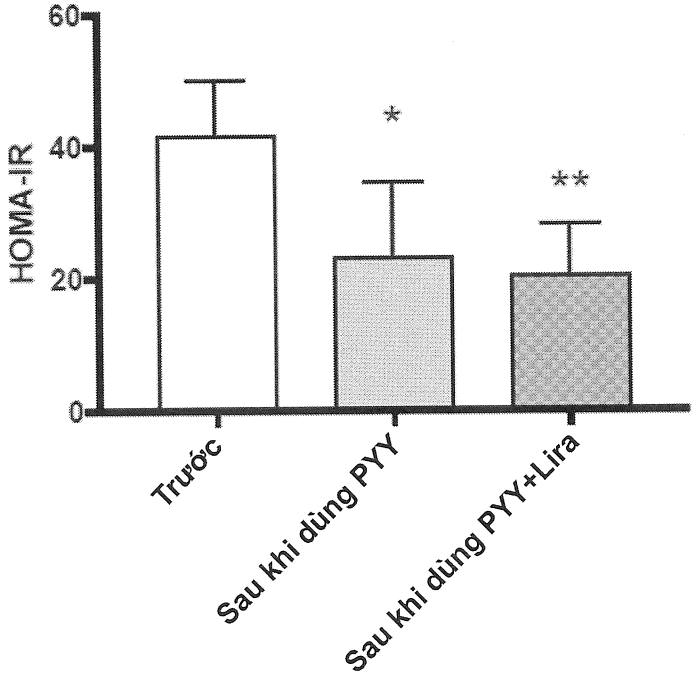
Hình 11A



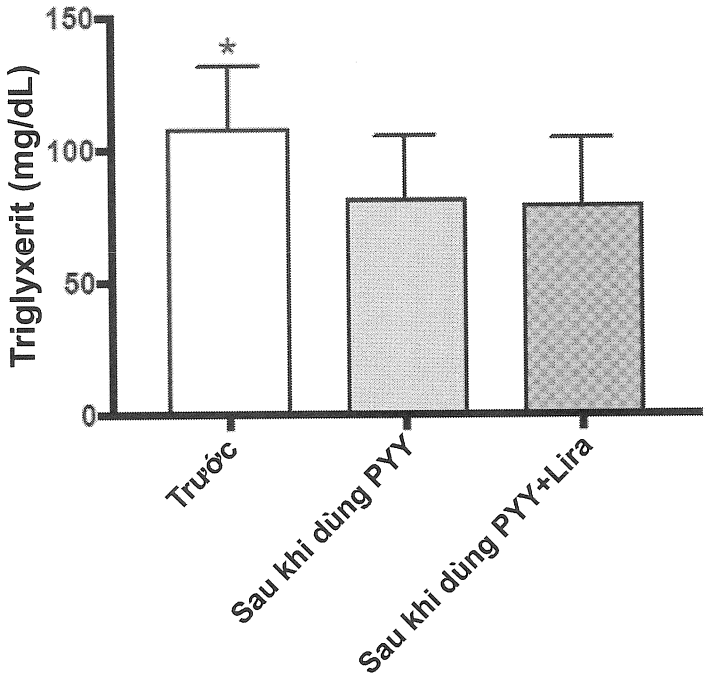
Hình 11B



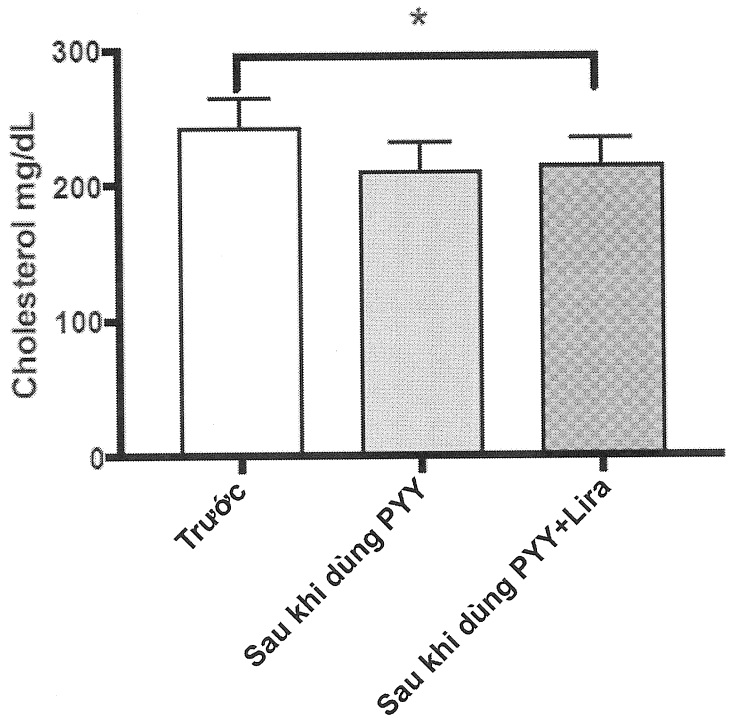
Hình 11C



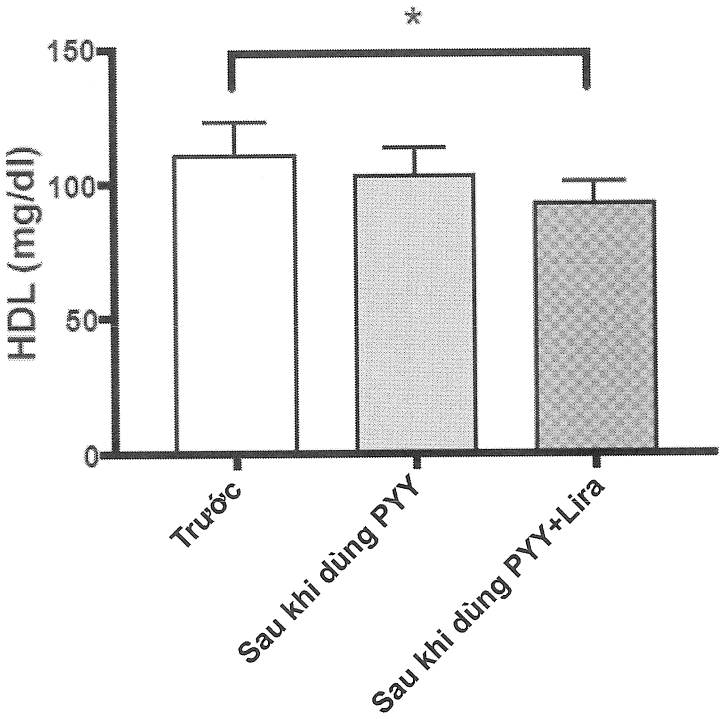
Hình 11D



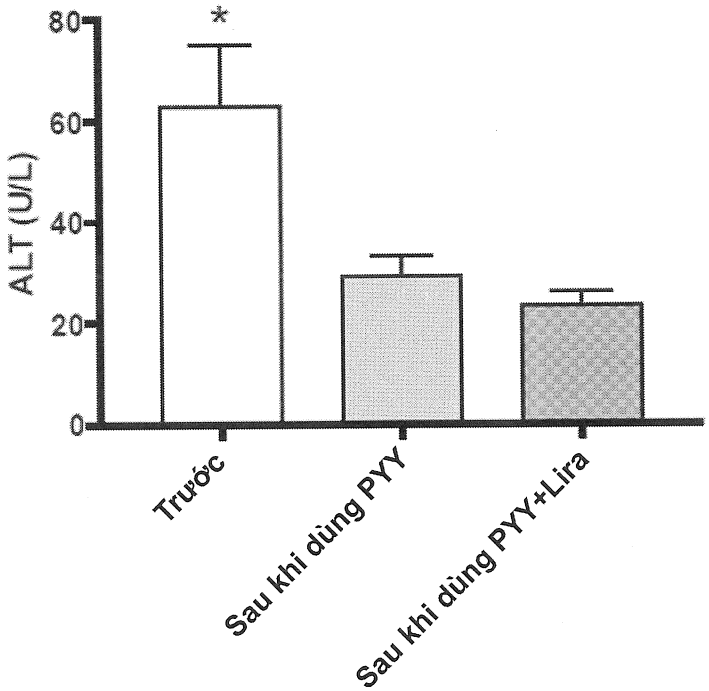
Hình 12A



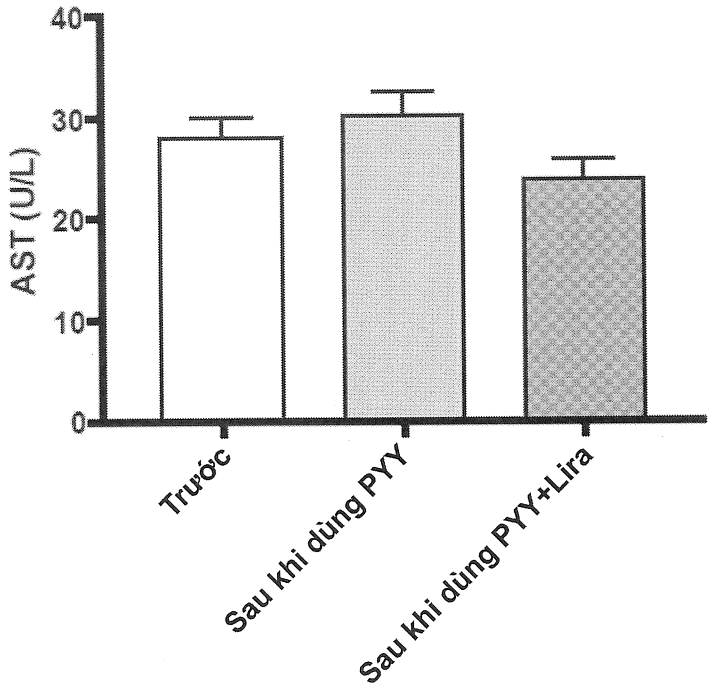
Hình 12B



Hình 12C



Hình 12D



DANH SÁCH LIỆT KÊ TRÌNH TỰ

<110> Janssen Pharmaceutica NV

<120> THỂ LIÊN HỢP BAO GỒM KHÁNG THỂ ĐƠN DÒNG HOẶC MẢNH LIÊN KẾT KHÁNG NGUYÊN CỦA NÓ ĐƯỢC GHÉP VỚI PEPTIT TYROSIN TYROSIN VÒNG, VÀ DƯỢC PHẨM BAO GỒM THỂ LIÊN HỢP NÀY

<130> PRD3436

<150> US62/413,613
<151> 2016-10-27

<150> US62/413,586
<151> 2016-10-27

<160> 156

<170> Phiên bản sáng chế 3.5

<210> 1
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys

<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<400> 1

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 2
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cyse, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<400> 2

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 3
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>

<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<220>
<221> Leu
<222> (29)..(29)
<223> Leu, trong đó Leu là norleuxin được biến đổi hóa học
as described in the specification

<400> 3

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Leu Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 4
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile

<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (9)..(9)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong
bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học
as described in the specification

<400> 4

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 5
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (9)..(9)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong
bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học
as described in the specification

<400> 5

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 6

<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (9)..(9)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong
bản mô tả

<220>
<221> Leu
<222> (29)..(29)
<223> Leu, trong đó Leu là norleuxin được biến đổi hóa học
as described in the specification

<400> 6

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Leu Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 7
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (7)..(7)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong
bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học
as described in the specification

<400> 7

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Lys Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 8
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong
bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học
as described in the specification

<400> 8

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 9
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học as described in the specification

<220>

<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<400> 9

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 10
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<220>
<221> Lys

<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học as described in the specification

<400> 10

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Lys Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 11
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)

<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong
bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học
as described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<400> 11

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Lys Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 12

<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<400> 12

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 13
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong
bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học
được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<400> 13

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 14
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<400> 14

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 15
<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>

<221> Lys
<222> (1)..(1)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (27)..(27)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (28)..(28)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học as described in the specification

<400> 15

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
1 5 10 15

Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
20 25 30

Tyr

<210> 16
<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Lys
<222> (1)..(1)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (27)..(27)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (28)..(28)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 16

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
1 5 10 15

Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
20 25 30

Tyr

<210> 17
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 17

Ile Ala Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 18
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong
bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học
as described in the specification

<400> 18

Ile Glu Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 19
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<400> 19

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 20
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<400> 20

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 21
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong
bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học
as described in the specification

<400> 21

Ile Ala Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg Ala Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 22
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 22

Ile Glu Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg Ala Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 23
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong
bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học
as described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)

<223> Arg được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<400> 23

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 24
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong

bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học as described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học như mô tả trong bản mô tả

<400> 24

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 25
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học như mô tả trong trong
bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học
as described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học như mô tả trong
bản mô tả

<400> 25

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 26
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong sáng chế

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong sáng chế

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học biến đổi được mô tả trong sáng chế

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong sáng chế

<400> 26

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn

1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 27
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 27

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 28
<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Lys
<222> (1)..(1)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (27)..(27)

<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (28)..(28)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (32)..(32)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 28

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
1 5 10 15

Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
20 25 30

Tyr

<210> 29
<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Lys
<222> (1)..(1)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (27)..(27)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (28)..(28)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (32)..(32)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 29

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
1 5 10 15

Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
20 25 30

Tyr

<210> 30

<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Lys
<222> (1)..(1)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (27)..(27)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (28)..(28)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (32)..(32)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 30

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
1 5 10 15

Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
20 25 30

Tyr

<210> 31
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 31

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 32
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)

<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 32

Ile Ala Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg Ala Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 33
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Gln
<222> (32)..(32)
<223> Gln được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 33

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 34

<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Lys
<222> (1)..(1)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (27)..(27)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (28)..(28)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (32)..(32)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 34

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
1 5 10 15

Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
20 25 30

Tyr

<210> 35
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 35

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 36
<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Lys
<222> (1)..(1)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (27)..(27)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (28)..(28)

<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (32)..(32)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 36

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
1 5 10 15

Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
20 25 30

Tyr

<210> 37
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 37

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 38
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 38

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 39
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 39

Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 40
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Leu
<222> (29)..(29)
<223> Leu, trong đó Leu là norleuxin được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg

<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 40

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Leu Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 41
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Leu
<222> (29)..(29)
<223> Leu, trong đó Leu là norleuxin được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 41

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Leu Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 42
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile

<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Leu
<222> (29)..(29)
<223> Leu, trong đó Leu là norleuxin được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 42

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Leu Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 43
<211> 34
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 43

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 44
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (9)..(9)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 44

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 45
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (9)..(9)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học

modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 45

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 46
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>

<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 46

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 47
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (5)..(5)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 47

Ile Lys Pro Glu Lys Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 48
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (20)..(20)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 48

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Lys Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 49
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg

<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 49

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 50
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (21)..(21)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 50

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Lys Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 51
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile

<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 51

Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 52
<211> 34
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (9)..(9)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<400> 52

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 53
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (9)..(9)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 53

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 54
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (9)..(9)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)

<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học
modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 54

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 55
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (21)..(21)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 55

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Lys Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 56
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<400> 56

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 57
<211> 34
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<400> 57

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 58
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 58

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 59
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (20)..(20)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)

<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 59

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Lys Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 60
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (5)..(5)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>

<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 60

Ile Lys Pro Glu Lys Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 61
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)

<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 61

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 62
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 62

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 63
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 63

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 64
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 64

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 65
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys

<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 65

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 66
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 66

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 67
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 67

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 68
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (9)..(9)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (28)..(28)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 68

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 69
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Glu
<222> (30)..(30)
<223> Glu được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg

<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 69

Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Glu Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 70
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Glu
<222> (29)..(29)
<223> Glu được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 70

Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 71
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Glu
<222> (29)..(29)

<223> Glu được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 71

Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 72
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>

<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Glu
<222> (29)..(29)
<223> Glu được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 72

Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 73
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 73

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 74
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 74

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 75
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (9)..(9)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 75

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 76
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys

<222> (29)..(29)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 76

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 77
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (19)..(19)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 77

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Lys Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 78
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Gln
<222> (33)..(33)
<223> Gln được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>

<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 78

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 79
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 79

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 80
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>

<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 80

Ala Ile Arg Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Trp Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 81
<211> 34

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (9)..(9)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 81

Ile Arg Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Trp Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 82
<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Lys
<222> (1)..(1)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (8)..(8)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (28)..(28)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (32)..(32)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 82

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
1 5 10 15

Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln Arg
20 25 30

Tyr

<210> 83
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (9)..(9)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Leu
<222> (29)..(29)
<223> Leu, trong đó Leu là norleuxin được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 83

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Leu Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 84
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys

<222> (9)..(9)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 84

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 85
<211> 36
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (22)..(22)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 85

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Lys Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr
20 25 30

Arg Gln Arg Tyr
35

<210> 86
<211> 36
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (21)..(21)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 86

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Lys Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr
20 25 30

Arg Gln Arg Tyr
35

<210> 87
<211> 36
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (6)..(6)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)

<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 87

Ala Ile Lys Pro Glu Lys Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr
20 25 30

Arg Gln Arg Tyr
35

<210> 88
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>

<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 88

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 89
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 89

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 90
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 90

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 91
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 91

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 92
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg

<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 92

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 93
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 93

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 94
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala

<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 94

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 95
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Glu
<222> (29)..(29)
<223> Glu được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 95

Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr

35

<210> 96
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 96

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu

1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 97
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học
modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 97

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 98
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)

<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 98

Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 99
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>

<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 99

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 100
<211> 35
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 100

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 101
<211> 34
<212> PRT
<213> Người thông minh

<400> 101

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 102
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 1

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 102

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 103
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 2

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 103

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr

35

<210> 104
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 3

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 104

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu

1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 105
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 4

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (9)..(9)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>

<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 105

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 106
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 5

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (29)..(29)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 106

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 107
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 6

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (19)..(19)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 107

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Lys Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 108
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 7

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Gln
<222> (33)..(33)

<223> Gln được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 108

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 109
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 8

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>

<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 109

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 110
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 9

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 110

Ala Ile Arg Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Trp Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 111
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 10

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (9)..(9)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 111

Ile Arg Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Trp Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 112
<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 11

<220>
<221> Lys
<222> (1)..(1)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (8)..(8)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (28)..(28)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (32)..(32)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 112

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
1 5 10 15

Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln Arg
20 25 30

Tyr

<210> 113
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 12

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (9)..(9)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Leu

<222> (29)..(29)
<223> Leu, trong đó Leu là norleuxin được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 113

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Leu Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 114
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 13

<220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 114

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 115
<211> 36
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 14

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (22)..(22)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 115

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Lys Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr
20 25 30

Arg Gln Arg Tyr

35

<210> 116
<211> 36
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 15

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (21)..(21)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 116

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu

1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Lys Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr
20 25 30

Arg Gln Arg Tyr
35

<210> 117
<211> 36
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 16

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (6)..(6)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>

<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 117

Ala Ile Lys Pro Glu Lys Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr
20 25 30

Arg Gln Arg Tyr
35

<210> 118
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 17

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 118

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 119
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 18

<220>
<221> Gly

<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 119

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 120
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 19

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 120

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr

35

<210> 121
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 20

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 121

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu

1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 122
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 21

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>

<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 122

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 123
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 22

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 123

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 124
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 23

<220>

<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 124

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 125
<211> 35
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 24

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Glu
<222> (29)..(29)
<223> Glu được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 125

Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 126
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 25

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 126

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 127
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Liên hợp 26

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học
modification described in the specification

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 127

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 128
<211> 107
<212> PRT
<213> Người thông minh

<400> 128

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 129
<211> 119
<212> PRT
<213> Người thông minh

<400> 129

Glu Val Gln Leu Leu 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 Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Tyr Asp Gly Ile Tyr Gly Glu Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 130
<211> 10
<212> PRT
<213> Người thông minh

<400> 130

Tyr Asp Gly Ile Tyr Gly Glu Leu Asp Phe
1 5 10

<210> 131
<211> 115
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> chuỗi nối IGHV3-23*01 và IGHJ1*01

<400> 131

Glu Val Gln Leu Leu 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 Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Ala Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 132
<211> 98
<212> PRT
<213> Người thông minh

<400> 132

Glu Val Gln Leu Leu 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 Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys

<210> 133
<211> 17
<212> PRT
<213> Người thông minh

<400> 133

Ala Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
1 5 10 15

Ser

<210> 134
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nối IGKV3-11*01 và IGKJ1*01

<400> 134

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 135
<211> 95
<212> PRT
<213> Người thông minh

<400> 135

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro
85 90 95

<210> 136
<211> 12
<212> PRT
<213> Người thông minh

<400> 136

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 137
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH CỦA MSCB97

<400> 137

Glu Val Gln Leu Leu 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 Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Tyr Asp Gly Cys Tyr Gly Glu Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 138
<211> 446
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HC CỦA MSCB97

<400> 138

Glu Val Gln Leu Leu 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 Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Tyr Asp Gly Cys Tyr Gly Glu Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 139
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL CỦA MSCB97

<400> 139

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 140
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> LC CỦA MSCB97

<400> 140

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 141
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HCDR1 của MSCB97

<400> 141

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 142
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HCDR2 của MSCB97

<400> 142

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 143
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HCDR3 của MSCB97

<400> 143

Tyr Asp Gly Cys Tyr Gly Glu Leu Asp Phe
1 5 10

<210> 144
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> LCDR1 của MSCB97

<400> 144

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 145
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> LCDR2 của MSCB97

<400> 145

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 146
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> LCDR3 của MSCB97

<400> 146

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 147
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>

<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 147

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 148
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)

<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, trong đó Cys là homoxystein được biến đổi hóa học mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 148

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 149
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Glu
<222> (29)..(29)
<223> Glu được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 149

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 150
<211> 35

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Glu
<222> (29)..(29)
<223> Glu được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 150

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 151
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 151

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg

20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 152
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 152

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 153
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)

<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 153

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 154
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>

<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 154

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 155
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 155

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 156
<211> 35
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Hợp chất peptit PYY vòng

<220>
<221> Ala

<222> (1)..(1)
<223> Ala được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg được biến đổi hóa học được mô tả trong bản mô tả

<400> 156

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35