



(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)



1-0038631

(51)⁸ C07K 7/64; A61K 38/00; C07K 16/32

(13) B

(21) 1-2018-05194

(22) 20/04/2016

(86) PCT/IB2016/052246 20/04/2016

(87) WO 2017/046658 23/03/2017

(45) 26/02/2024 431

(43) 25/04/2019 373A

(73) HANGZHOU DAC BIOTECH CO, LTD (CN)

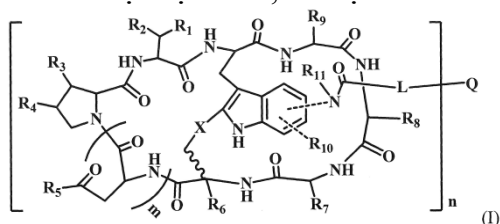
Building 12, Zhongzi Technology Park No. 260 Sixth Street, Heda Hangzhou City, Zhejiang 310018, China

(72) ZHAO, Robert Yongxin (CN); YANG, Qingliang (CN); HUANG, Yuanyuan (CN); GAI, Shun (CN); YE, Hangbo (CN); YANG, Chengyu (CN); GUO, Huihui (CN); ZHOU, Xiaomai (CN); XIE, Hongsheng (CN); TONG, Qianqian (CN); CAO, Minjun (CN); ZHAO, Linyao (CN); JIA, Junxiang (CN); LI, Wenjun (CN); ZUO, Xiaotao (CN); LIN, Chen (CN); XU, Yifang (CN); GUO, Zixiang (CN).

(74) Công ty Luật TNHH WINCO (WINCO LAW FIRM)

(54) HỢP CHẤT CÓ ĐỘC TỔ CỦA NẤM AMANITA, PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến các chất gây độc tế bào, dẫn xuất có độc tố của nấm Amanita có công thức (I), trong đó ~~~, ----, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, X, L, m, n và Q được xác định trong bản mô tả. Sáng chế còn đề cập đến phương pháp điều chế dẫn xuất này và ứng dụng điều trị của các dẫn xuất này trong việc điều trị hướng đích của bệnh ung thư, các rối loạn tự miễn, và bệnh nhiễm khuẩn.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các chất gây độc tế bào, dẫn xuất có độc tố của nấm *Amanita* và sử dụng chúng để hướng đích đặc hiệu quần thể tế bào bằng cách liên kết hóa học các dẫn xuất này với chất gắn kết tế bào.

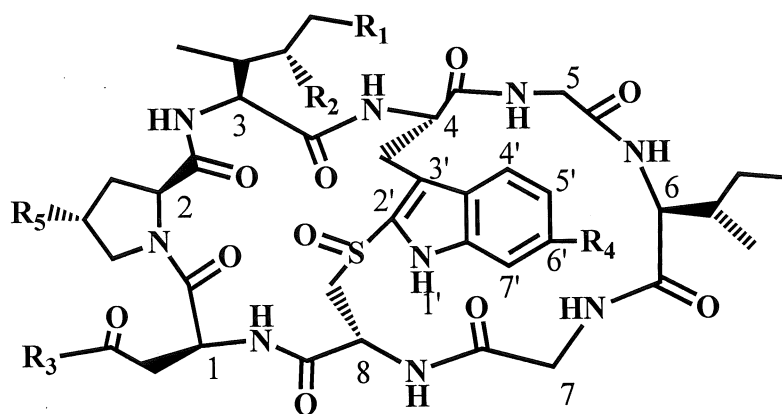
Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Thể liên hợp kháng thể-dược chất (antibody–drug conjugate: ADC), sử dụng khả năng hướng đích của các kháng thể đơn dòng (mAb) để cung cấp các dược chất có độc tính cao đến các tế bào khối u được hướng đích, đã được chứng minh rằng các sản phẩm này khả thi về mặt kỹ thuật, hữu hiệu về mặt điều trị, và có thể thu được sự cấp phép của cơ quan chức năng sau khi sản phẩm của công ty Brentuximab vedotin (Adcetris) của Seattle Genetics/Takeda và sản phẩm Trastuzumab emtansine (Kadcyla) của công ty ImmunoGen/Roche có mặt trên thị trường (Sassoon, I. and Blanc, V. Laurent Ducry (ed.), *Antibody–Drug Conjugates, Methods in Molecular Biology*, vol. 1045, p1-27). Hiện nay, theo trang web: www.clinicaltrials.gov, có trên 50 dược chất ADC trong các thử nghiệm lâm sàng và nhiều công ty dược phẩm và hãng công nghệ sinh học lớn, cũng như nhiều công ty nhỏ mới thành lập có nhiều động lực đầu tư để phát triển thêm công nghệ này. Thật vậy, tính phức tạp của thể liên hợp kháng thể-dược chất với bốn yếu tố chính của nó bao gồm các chất gây độc tế bào, công nghệ nhóm liên kết, đặc tính của kháng thể, và phương pháp liên hợp làm cho lĩnh vực này có nhiều thử thách nhưng cũng có nhiều tiềm năng cho sự đổi mới (Perez, H. L., et al. *Drug Discovery Today*, 2014, 19(7), 869–81). Việc phát triển từ các phối tử hướng đích mới đến các phương pháp liên hợp đặc hiệu vị trí mới, từ nhiều hoạt chất đến việc thay đổi tỷ lệ dược chất-kháng thể, từ các nhóm liên kết chức năng đến phép tính hệ số tỷ lệ đồng nhất, đang là thách thức về quy ước cho quy định để thiết kế và phát triển ADC thế hệ mới (Zhao, R. et al, PCT/IB2015/055051, PCT/IB2015/055264, phần giới thiệu). Tuy nhiên, yếu tố chính quan trọng trong việc tạo ra ADC có hiệu quả cao là các chất gây độc tế bào (Bourchard, H., et al, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2014, 24, 5357–63). Một nhóm các chất gây độc tế bào với hiệu quả

cao có thể được sử dụng đối với ADC là Amanitin (Moldenhauer, G. et al, J Natl Cancer Inst 2012, 104 (8): 622-34; Flygare, J. A. et al, Chem. Biol. Drug. Des. 2013, 81, 113–121; các công bố đơn quốc tế số WO2010/115629, WO2010/115630, WO2012041504, WO2012119787, WO2014/009025, WO2014135282, các công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 20120213805, 20120100161, 20130259880, 20140294865, 20150218220, các patent châu Âu số EP2416805, EP1661584, EP1859811, EP2497499, EP2774624), là các thành phần có độc tính cao của độc tố của nấm Amanita (Vetter, J., Toxicon 1998, 36 (1): 13–24).

Các độc tố của nấm Amanita chủ yếu là các độc tố octa- và heptapeptit dạng vòng của nấm Amanita, chứa liên kết ngang Trp-Cys khác thường được gọi là tryptathionin (Walton, J. D. et al. Biopolymers 2010; 94(5): 659-64). Các thành phần chính của độc tố của nấm Amanita là amatoxin, phalloxin, và virotoxin (Wieland, T., Faulstich, H., CRC Crit. Rev. Biochem. 1978, 5(3):185-260; Vetter, J., Toxicon 1998, 36 (1): 13–24; Wieland, T., and Faulstich, H. 1983. Peptide Toxins from Amanita. p. 585-635. In: Handbook of Natural Toxins, Volume I: Plant and Fungal Toxins. R.F. Keeler and A.T. Tu, Ed. Marcel Dekker, Inc. New York, NY, Wieland, T., Int J. Pept. Protein Res., 1983, 22, 257-76) và các cấu trúc đã biết nói chung của chúng được liệt kê trong các Bảng 1, 2 và 3 tương ứng dưới đây.

Bảng 1. 10 cấu trúc đã biết hiện nay của amatoxin

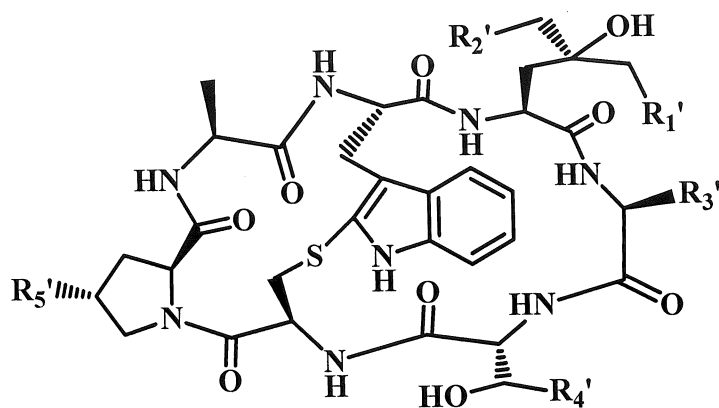


Tên	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
α -Amanitin	OH	OH	NH ₂	OH	OH
β -Amanitin	OH	OH	OH	OH	OH
γ -Amanitin	H	OH	NH ₂	OH	OH
ϵ -Amanitin	H	OH	OH	OH	OH

Amanulin	H	H	NH ₂	OH	OH
Axit amanulinic	H	H	OH	OH	OH
Amaninamit	OH	OH	NH ₂	H	OH
Amanin	OH	OH	OH	H	OH
Proamanulin	H	H	NH ₂	OH	H

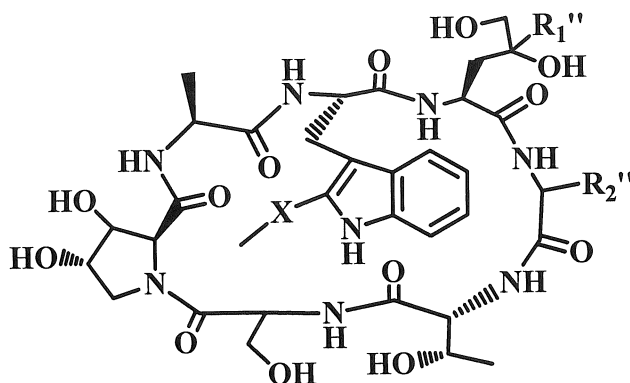
(δ -Amanitin đã được thông báo nhưng cấu trúc hóa học của nó vẫn chưa được xác định)

Bảng 2. Cấu trúc của phalotoxin



Tên	R ₁ '	R ₂ '	R ₃ '	R ₄ '	R ₅ '
phaloidin	OH	H	CH ₃	CH ₃	OH
phaloin	H	H	CH ₃	CH ₃	OH
prophalin	H	H	CH ₃	CH ₃	H
phalisin	OH	OH	CH ₃	CH ₃	OH
phalaxin	H	H	CH(CH ₃) ₂	COOH	OH
phalaxidin	OH	H	CH(CH ₃) ₂	COOH	OH
phalisaxin	OH	OH	CH(CH ₃) ₂	COOH	OH

Bảng 3. Cấu trúc của virotoxin



Tên	R ₁ ''	R ₂ ''	X
Viroidin	CH ₃	CH(CH ₃) ₂	S(O ₂)
Desoxiviroidin	CH ₃	CH(CH ₃) ₂	S(O)
(Ala)viroidin	CH ₃	CH ₃	S(O ₂)
(Ala)desoxiviroidin	CH ₃	CH ₃	S(O)
(Ala)viroisin	CH ₂ OH	CH(CH ₃) ₂	S(O ₂)
Desoxiviroisin	CH ₂ OH	CH(CH ₃) ₂	S(O)

Amatoxin là phân nhóm của ít nhất 10 hợp chất có độc tính được phát hiện có nguồn gốc từ một số loài nấm độc, đáng chú ý nhất là loài *Amanita phalloid* và một số loài nấm khác, là octapeptit hai vòng chứa liên kết ngang tryptathionin nội vòng được tạo ra bằng phương pháp oxy hoá từ tryptophan và xystein (Kaya, E., et al, Toxicon 2013, 76, 225–33).

Amatoxin là chất ức chế hiệu nghiệm và chọn lọc của ARN polymeaza II (Pol II), enzym thiết yếu trong quá trình tổng hợp ARN thông tin (mRNA), viARN (microRNA), và ARN nhân nhỏ (snRNA) (Karlson-Stiber C, Persson H. 2003 "Cytotoxic fungi - an overview", Toxicon 42 (4): 339–49). Do đó, amatoxin tiêu diệt các tế bào bằng cách làm ngừng sự phiên mã gen và quá trình tổng hợp sinh học protein (Brodner, O. G. and Wieland, T. 1976 Biochem.,15(16): 3480–4; Fiume, L., Curr Probl Clin Biochem, 1977, 7: 23-8; Karlson-Stiber C, Persson H. 2003, Toxicon 42(4): 339–49; Chafin, D. R., Guo, H. & Price, D. H. 1995 J. Biol. Chem. 270 (32): 19114–19; Wieland (1983) Int. J. Pept. Protein Res. 22(3): 257-76). Cho đến nay, 10 amatoxin đã biết, có tên là α -Amanitin, β -Amanitin, γ -Amanitin, ϵ -Amanitin, Amanulin, axit Amanulinic, Amaninamit, Amanin, và Proamanulin được tổng hợp dưới dạng các proprotein của 35 axit amin mà từ đó 8 axit amin cuối cùng được phân

giải bằng prolyl oligopeptidaza (Litten, W. 1975 Scientific American 232 (3): 90–101; H. E. Hallen, et al 2007 Proc. Nat. Aca. Sci. USA 104, 19097–101; K. Baumann, et al, 1993 Biochemistry 32 (15): 4043–50; Karlson-Stiber C, Persson H. 2003, Toxicon 42 (4): 339–49; Horgen, P. A. et al. 1978 Arch. Microbio. 118 (3): 317–9). Amatoxin có thể là được tạo ra từ các nấm *Amanita phalloid* thu gom được (Yocum, R. R. 1978 Biochemistry 17(18): 3786-9; Zhang, P. et al, 2005, FEMS Microbiol. Lett. 252(2), 223-8), hoặc từ quá trình lên men bằng cách sử dụng nấm đảm (Muraoka, S. and Shinozawa T., 2000 J. Biosci. Bioeng. 89(1): 73-6, Công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 20100267019) hoặc từ quá trình lên men bằng cách sử dụng nấm *A. fissa* (Guo, X. W., et al, 2006 Wei Sheng Wu Xue Bao 46(3): 373-8), hoặc từ quá trình nuôi cấy nấm *Galerina fasciculata* hoặc *Galerina helvoliceps* (WO/1990/009799, JP11137291). Tuy nhiên, hiệu suất từ việc phân lập và lên men này là rất thấp (môi trường nuôi cấy nhỏ hơn 5mg/l). Một số phương pháp điều chế nửa hóa học hoặc tổng hợp amatoxin và các chất tương tự của chúng đã được thông báo trong ba thập kỷ trước (W. E. Savige, A. Fontana, Chem. Commun. 1976, 600–1; Zanotti, G., et al, Int J Pept Protein Res, 1981. 18(2): 162-8; Wieland, T., et al, Eur. J. Biochem. 1981, 117, 161–4; P. A. Bartlett, et al, Tetrahedron Lett. 1982, 23, 619–22; Zanotti, G., et al., Biochim Biophys Acta, 1986. 870 (3): 454-62; Zanotti, G., et al., Int. J. Peptide Protein Res. 1987, 30, 323–9; Zanotti, G., et al., Int. J. Peptide Protein Res. 1987, 30, 450–9; Zanotti, G., et al., Int J Pept Protein Res, 1988. 32(1): 9-20; G. Zanotti, T. et al, Int. J. Peptide Protein Res. 1989, 34, 222–8; Zanotti, G., et al., Int J Pept Protein Res, 1990. 35(3): 263-70; Mullersman, J. E. and J. F. Preston, 3rd, Int J Pept Protein Res, 1991. 37(6): 544-51; Mullersman, J.E., et al, Int J Pept Protein Res, 1991. 38(5): 409-16; Zanotti, G., et al, Int J Pept Protein Res, 1992. 40(6): 551-8; Schmitt, W. et al, J. Am. Chem. Soc. 1996, 118, 4380–7; Anderson, M.O., et al, J. Org. Chem., 2005, 70(12): 4578-84; J. P. May, et al, J. Org. Chem. 2005, 70, 8424–30; F. Brueckner, P. Cramer, Nat. Struct. Mol. Biol. 2008, 15, 811–8; J. P. May, D. M. Perrin, Chem. Eur. J. 2008, 14, 3404–9; J. P. May, et al, Chem. Eur. J. 2008, 14, 3410–17; Q. Wang, et al, Eur. J. Org. Chem. 2002, 834–9; May, J. P. and D. M. Perrin, Biopolymers, 2007. 88(5): 714-24; May, J.P., et al., Chemistry, 2008. 14(11): 3410-7; S. De Lamo Marin, et al, Eur. J. Org. Chem. 2010, 3985–9; Pousse, G., et al., Org Lett, 2010. 12(16): 3582-5; Luo, H., et al., Chem Biol, 2014. 21(12): 1610-7; Zhao, L., et al.,

Chembiochem, 2015. 16(10): 1420-5). Do cơ chế của độc tính tế bào rất hiệu nghiệm và đặc biệt của chúng, amatoxin đã được sử dụng làm hoạt chất cho các thể liên hợp (Fiume, L., Lancet, 1969. 2 (7625): 853-4; Barbanti-Brodano, G. and L. Fiume, Nat New Biol, 1973. 243(130): 281-3; Bonetti, E., M. et al, Arch Toxicol, 1976. 35(1): p. 69-73; Davis, M. T., Preston, J. F. Science 1981, 213, 1385–1388; Preston, J.F., et al, Arch Biochem Biophys, 1981. 209(1): 63-71; H. Faulstich, et al, Biochemistry 1981, 20, 6498–504; Barak, L.S., et al., Proc Natl Acad Sci U S A, 1981. 78(5): 3034-8; Faulstich, H. and L. Fiume, Methods Enzymol, 1985. 112: 225-37; Zhelev, Z., A. et al, Toxicon, 1987. 25(9): 981-7; Khalacheva, K., et al, Eksp Med Morfol, 1990. 29(3): 26-30; U. Bermbach, H. Faulstich, Biochemistry 1990, 29, 6839–45; Mullersman, J. E. and J. F. Preston, Int. J. Peptide Protein Res. 1991, 37, 544–51; Mullersman, J.E. and J.F. Preston, Biochem Cell Biol, 1991. 69(7): 418-27; J. Anderl, H. Echner, H. Faulstich, Beilstein J. Org. Chem. 2012, 8, 2072–84; Moldenhauer, G., et al, J. Natl. Cancer Inst. 2012, 104, 622–34; A. Moshnikova, et al; Biochemistry 2013, 52, 1171–8; Zhao, L., et al., Chembiochem, 2015. 16(10): 1420-5; Zhou, B., et al., Biosens Bioelectron, 2015. 68: 189-96; WO2014/043403, US20150218220, EP 1661584).

Phalotoxin là heptapeptit có hai vòng, gồm ít nhất 7 hợp chất như được thể hiện trong Bảng 2, được phát hiện có nguồn gốc từ nấm tử thần (*Amanita phalloides*) vào năm 1937 bởi Feodor Lynen, sinh viên và con rể của Heinrich Wieland, và Ulrich Wieland, trường đại học Munich (Enjalbert, F., et al, Toxicon 1993, 31, 803–7). Sau khi sử dụng qua đường trong màng bụng (i.p.), Phalotoxin ức chế sự chuyển hoá actin-F thành actin-G và làm ảnh hưởng đến sự cân bằng động của các dạng này, là các dạng cần thiết đối với chức năng của tế bào (Enjalbert, F., et al., C. R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie / Life Sciences, 1999, 322, 855–62; Wieland, T., 50 Jahre Phalloidin, Naturwissenschaften 1987, 74, 367–73). Có 6 cấu trúc đã biết của phalotoxin, cụ thể là prophaloin, phaloin, phalisin, phalaxitin, phalaxin và phalisaxin như được thể hiện trong bảng 2 (Yocum R.R., Simons M., Lloydia 1977, 40, 178–90; Enjalbert, F., et al., C. R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie / Life Sciences, 1999, 322, 855–62; Schäfer A.J., Faulstich H., Anal. Biochem. 1977, 83, 720–723). Mặc dù có độc tính cao với các tế bào gan, phalotoxin đã được phát hiện là góp phần rất nhỏ vào độc tính của nấm tử thần do chúng không được hấp thụ qua ruột. Trung bình, sáu cấu trúc phalotoxin đã biết có độc tính nhỏ hơn khoảng từ 5 đến 10 lần độc tính của

(α -, β -, γ -, hoặc ϵ -) amanitin (Vetter, J., *Toxicon*, 1998, 36, 13-24). Ngoài ra, phaloidin cũng được tìm thấy trong nấm Blusher ăn được (*Amanita rubescens*) (Litten, W., *Scientific American* 1975, 232, 90-101).

Virotoxin là các hợp chất heptapeptit có một vòng được tạo thành bởi ít nhất năm hợp chất khác nhau: alaviroidin, viroisin, deoxoviroisin, viroidin, và deoxoviroidin (Vetter, J., *Toxicon*, 1998, 36, 13-24) như được thể hiện trong Bảng 3. Cấu trúc và hoạt tính sinh học của virotoxin là tương tự với cấu trúc và hoạt tính sinh học của phalotoxin, do đó điều này gợi ý rằng virotoxin thu được bằng phương pháp sinh tổng hợp từ phalotoxin hoặc có chung con đường tiền chất (Wieland, T., *Int J Pept Protein Res*, 1983, 22, 257-76). Tuy nhiên, khác với phalotoxin, các hợp chất virotoxin là peptit có một vòng và chứa D-serin thay vì L-xystein, cũng như hai axit amin khác thường: 2,3-trans-3,4-dihydroxy-L-prolin và 2'-(metylsulfonyl)-L-tryptophan (Buku, A. et al, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1980, 77(5), 2370-1). Nghiên cứu phổ NMR cho thấy rằng cấu hình D của serin là thành phần cấu trúc duy trì cấu trúc tương tự phaloidin, trong khi nhóm hydroxy không góp phần vào tính ổn định cấu hình riêng nhưng nó cũng tiếp xúc với bề mặt actin (Zanotti, G., et al, *Biochemistry*. 1999, 38(33):10723-9). Ở cấp độ phân tử, các hợp chất virotoxin có đặc tính tương tự với các hợp chất phalotoxin, ví dụ, ái lực của viroisin rất giống với ái lực của phaloidin, với hằng số phân ly cân bằng biểu kiến K_d khoảng 2×10^{-8} M (Faulstich, H., et al, *Biochemistry*, 1980, 19, 3334-43). Tuy nhiên, tính linh hoạt của cấu trúc có một vòng và sự có mặt của hai nhóm hydroxy bổ sung trong các hợp chất virotoxin gợi ý chế độ tương tác khác với actin. Trong khi có bằng chứng rằng các hợp chất phalotoxin có hai vòng có vị trí gắn kết cứng, các hợp chất virotoxin có thể chọn cấu hình riêng có hoạt tính sinh học bằng cơ chế gây thích ứng khi tiếp xúc với actin (Faulstich, H., et al, *Biochemistry*, 1980, 19, 3334-43).

Cho đến nay, đã có một số phương pháp liên hợp các hợp chất amatoxin được bộc lộ. Preston và các đồng tác giả đã sử dụng quá trình diazo hóa hợp chất p-aminobenzoylglyxylglyxin và sau đó kết hợp các nhóm liên kết với α -amanitin ở vị trí 7'C của Trptophan (Preston, J. F. et al, *Arch. Biochem. Biophys.* 1981, 209, 63-71; Davis, M-T. B. and Preston, J. F., *Science*, 1981, 213, 1385-7; Hencin, R. S. and Preston, J. F., *Mol. Pharm.*, 1979, 16, 961-9). Heidelberg Pharma GMBH (các công bố đơn quốc tế số WO2010/115629, WO2010115630, WO2012/041504, các công bố

đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US20120100161, US20120213805) bộc lộ phương pháp liên hợp amatoxin qua nguyên tử oxy dưới dạng liên kết ete với nguyên tử 6'C của axit amin 4, hoặc qua nguyên tử oxy dưới dạng liên kết este hoặc carbomat với nguyên tử 8C của axit amin 3, hoặc qua nguyên tử nitơ dưới dạng liên kết amit với nguyên tử 7C của axit amin 1. Heidelberg Pharma GMBH (patent châu Âu số EP2774624, các công bố đơn quốc tế số WO2012119787, WO2014/135282, các công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US20140294865, US20160002298) cũng bộc lộ phương pháp liên hợp qua vị trí của nguyên tử 1'N của indol của hợp chất amatoxin. Agensys Inc (công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ US20150218220) bộc lộ rằng nhờ sự hoạt hóa ở vị trí C7' của nhóm indol của α -amanitin bằng chất phản ứng như iot, sau đó kết hợp với chất phản ứng 2°-amino được thể thích hợp để đưa liên kết của nhóm đệm diamin, hoặc đưa nhóm đệm cacbon (liên kết C-C ở vị trí C7 của indol) vào trước liên kết 2°-amino với sự có mặt của formaldehyt.

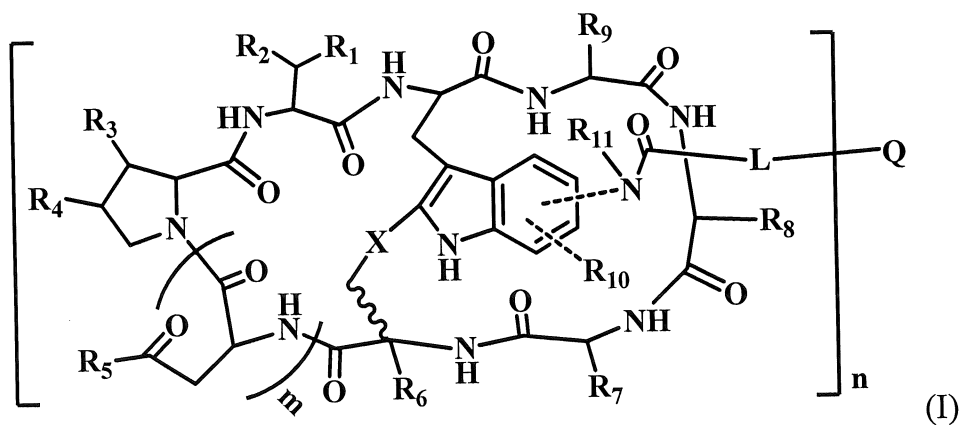
Đã biết rằng các hợp chất là tương đối không độc khi được liên hợp với các chất mang phân tử sinh học có kích thước lớn, như các phân tử kháng thể, và chúng có hoạt tính gây độc tế bào chỉ sau khi chất mang phân tử sinh học này được phân giải hết. Do độc tính của amatoxin, cụ thể là độc tính rõ ràng của chúng đối với các tế bào gan (Zhou, P. et al, World J. Gastroenterology, 2012, 18(5), 435–4; Giannini, A., et al, Clin. Toxicology, 2007. 45(5), 539–42), điều quan trọng nhất là các thể liên hợp amatoxin dùng cho liệu pháp khối u được hướng đích vẫn ổn định ở mức cao sau khi sử dụng trong huyết tương, và khi được giải phóng, amatoxin sẽ không đi ra khỏi các tế bào được hướng đích hoặc làm tổn thương các tế bào gan khi xuất hiện sau khi tương tác nội phân tử trong các tế bào đích.

Trong bản mô tả này, các tác giả sáng chế bộc lộ dẫn xuất có độc tố nấm Amanita mà trước tiên có thể là phân tử gắn kết tế bào được liên hợp qua các liên kết amit ổn định sau khi chỉ nitro hóa, sau đó khử và liên hợp ở đơn vị indol của dẫn xuất độc tố nấm Amanita này. Tiếp theo, nhiều dẫn xuất có độc tố nấm Amanita theo sáng chế này có các đơn vị tiền được chất trên đơn vị indol có thể làm giảm tính hiệu nghiệm ở mức cao *in vitro*, tuy nhiên có thể được biến đổi chậm trở lại thành độc tính tế bào ở mức cao *in vivo* sau khi các đơn vị tiền được chất bổ sung của chúng được loại bỏ bằng các enzym. Do các hợp chất amatoxin đã được biết rõ là chúng có độc tính rất cao với bệnh viêm gan như gây hoại tử trung tâm tiểu thùy và tình trạng thoái

hóa mỡ ở gan, cũng như bệnh thận dạng viêm kẽ ống cấp tính, tất cả các hiện tượng này gây ra hội chứng gan-thận nghiêm trọng (Litten, W. 1975 Scientific American 232: 90–10; Karlson-Stiber C, Persson H. 2003 Toxicon 42 (4): 339–49). Sự chuyển hoá chậm của các tiền dược chất an toàn hơn so với các độc tính gốc của chúng sẽ làm giảm đến mức tối thiểu các độc tính phụ nghiêm trọng trong khi các độc tố này không hướng đích trong quá trình giải phóng. Do đó, các cải tiến này của dẫn xuất độc tố nấm *Amanita* có thể liên hợp có thể có hiệu quả cao với khoảng chỉ số điều trị rộng hơn và độ an toàn cao hơn của thể liên hợp amatoxin đối với các ứng dụng điều trị được hướng đích.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo phương án thứ nhất, sáng chế đề cập đến các chất gây độc tế bào hiệu nghiệm, cụ thể là dẫn xuất của amatoxin, phalotoxin hoặc virotoxin có thể được sử dụng hữu hiệu để ngăn chặn sự tăng sinh tế bào. Cụ thể, sáng chế đề cập đến dẫn xuất có độc tố của nấm *Amanita* mới, tùy ý có thể liên kết hoặc được liên kết với chất gắn kết tế bào để ngăn chặn sự tăng sinh tế bào. Các chất gây độc tế bào mới này và các thể liên hợp của chúng với chất gắn kết tế bào của sáng chế này được thể hiện trong công thức (I) sau đây:



hoặc các muối, hydrat, hoặc muối hydrat hóa được dùng của nó; hoặc các cấu trúc tinh thể đa hình của các hợp chất này; hoặc các chất đồng phân dị cấu quang học, raxemat, chất đồng phân không đối quang hoặc chất đồng phân đối ảnh của chúng.

Trong đó

---- là liên kết đơn để liên kết vị trí cacbon bất kỳ của vòng (indol) thơm;

~~~~ là liên kết đơn tùy ý hoặc liên kết vắng mặt.

R<sub>1</sub> và R<sub>2</sub> độc lập được chọn từ H, OH, CH<sub>2</sub>OH, CH(OH)CH<sub>2</sub>OH,

CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>OH, CH(OH)CH<sub>3</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alkyl, -OR<sub>12</sub> (ete), C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alkenyl, alkynyl, heteroalkyl, -OCOR<sub>12</sub> (este), -OC(=O)OR<sub>12</sub> (cacbonat), -OC(=O)NHR<sub>12</sub> (carbamat); C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> aryl, dị vòng, vòng cacbon, xycloalkyl, heteroxycloalkyl, heteroaralkyl, alkylcacbonyl.

R<sub>3</sub> và R<sub>4</sub> độc lập được chọn từ H, OH, -OR<sub>12</sub> (ete), -OCOR<sub>12</sub> (este), -OCOCH<sub>3</sub> (axetat), -OCOOR<sub>12</sub> (cacbonat), -OC(=O)NHR<sub>12</sub> (carbamat), -OP(O)(OR<sub>12</sub>)(OR<sub>12</sub>') (phosphat), OP(O)(NHR<sub>12</sub>)(NHR<sub>12</sub>') (phosphamit), O-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>, hoặc O-glycosit;

R<sub>5</sub> được chọn từ H, OH, NH<sub>2</sub>, NHOH, NHNH<sub>2</sub>, -OR<sub>12</sub>, -NHR<sub>12</sub>, NHNHR<sub>12</sub>, -NR<sub>12</sub>R<sub>12</sub>', N(H)(R<sub>12</sub>)R<sub>13</sub>CO(Aa)<sub>p</sub>, (axit amin hoặc peptit, trong đó Aa là axit amin hoặc polypeptit, p nằm trong khoảng từ 0 đến 6);

R<sub>6</sub> được chọn từ H, OH, CH<sub>2</sub>OH, CH(OH)CH<sub>2</sub>OH, CH(CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>, CH(CH<sub>3</sub>)OH, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, PrOH, BuOH, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alkyl, -OR<sub>12</sub> (ete), C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alkenyl, alkynyl, heteroalkyl, -OCOR<sub>12</sub> (este); C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> aryl, dị vòng, hoặc vòng cacbon.

R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub> và R<sub>9</sub> độc lập được chọn từ H, OH, CH<sub>3</sub>, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>OH, CH(OH)CH<sub>2</sub>OH, CH<sub>2</sub>CH(OH)CH<sub>2</sub>OH, CH(CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>C(OH)(CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>C(OH)(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>OH), CH<sub>2</sub>C(OH)(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)(CH<sub>2</sub>OH), CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, PrOH, BuOH, CH<sub>2</sub>COOH, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH, CH(OH)COOH, CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alkyl, CH<sub>2</sub>Ar, CH<sub>2</sub>SH, CH<sub>2</sub>SR<sub>12</sub>, CH<sub>2</sub>SSR<sub>12</sub>, CH<sub>2</sub>SSAr, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>, -OR<sub>12</sub> (ete), C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alkenyl, alkynyl, heteroalkyl, -OCOR<sub>12</sub> (este); C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> aryl, dị vòng, hoặc vòng cacbon.

R<sub>10</sub> được chọn từ H, NH<sub>2</sub>, OH, SH, NO<sub>2</sub>, halogen, -NHOH, -N<sub>3</sub> (azido); -CN (xyano); C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alkyl, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> alkenyl, alkynyl, heteroalkyl; C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> aryl, dị vòng, hoặc vòng cacbon; -OR<sub>12</sub> (ete), -OCOR<sub>12</sub> (este), -OCOCH<sub>3</sub> (axetat), -OC(O)OR<sub>12</sub> (cacbonat), -OC(O)CH(R<sub>12</sub>)NHAa (Aa là nhóm axit amin), -NR<sub>12</sub>R<sub>12</sub>' (amin), -NR<sub>12</sub>COR<sub>12</sub>' (amin), -NR<sub>12</sub>NR<sub>12</sub>'NR<sub>12</sub>' (amin); -OCONR<sub>12</sub>R<sub>12</sub>' (carbamat); -NR<sub>12</sub>(C=NH)NR<sub>12</sub>'R<sub>12</sub>' (guanidin); -NR<sub>12</sub>CO(Aa)<sub>p</sub>, (axit amin hoặc peptit, trong đó Aa là axit amin hoặc polypeptit, p nằm trong khoảng từ 0 đến 6); -N(R<sub>12</sub>)CONR<sub>12</sub>'R<sub>12</sub>' (ure); -OCSNHR<sub>12</sub> (thiocarbamat); -SH (thiol); -SR<sub>12</sub> (sulfua); -S(O)R<sub>12</sub> (sulfoxit); -S(O<sub>2</sub>)R<sub>12</sub> (sulfon); -SO<sub>3</sub>, HSO<sub>3</sub>, HSO<sub>2</sub>, hoặc muối của HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>3</sub><sup>2-</sup> hoặc -HSO<sub>2</sub><sup>-</sup> (sulphit); -OSO<sub>3</sub><sup>-</sup>; -N(R<sub>12</sub>)SOOR<sub>12</sub>' (sulfonamit); H<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> hoặc muối của S<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>2-</sup> (metabisulfit); PO<sub>3</sub>SH<sub>3</sub>, PO<sub>2</sub>S<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, POS<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, PS<sub>4</sub>H<sub>2</sub> hoặc muối của PO<sub>3</sub>S<sup>3-</sup>, PO<sub>2</sub>S<sub>2</sub><sup>3-</sup>, POS<sub>3</sub><sup>3-</sup>, PS<sub>4</sub><sup>3-</sup> (mono-, di-, tri-, và tetra-thiophosphat); (R<sub>12</sub>O)<sub>2</sub>POSR<sub>12</sub>' (thiophosphat este); HS<sub>2</sub>O<sub>3</sub> hoặc muối của S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>

(thiosulfat);  $\text{HS}_2\text{O}_4$  hoặc muối của  $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$  (dithionit);  $\text{P}(=\text{S})(\text{OR}_{12})(\text{S})(\text{OH})$  hoặc muối được tạo thành với cation (phosphorodithioat);  $-\text{N}(\text{R}_{12})\text{OR}_{12}'$  (dẫn xuất hydroxylamin);  $\text{R}_{12}\text{C}(=\text{O})\text{NOH}$  hoặc muối được tạo thành với cation (axit hydroxamic);  $(\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-)$ , hoặc các muối của nó (formaldehyt sulfoxylat);  $-\text{N}(\text{R}_{12})\text{COR}_{12}'$  (amit);  $\text{R}_{12}\text{R}_{12}'\text{R}_{12}''\text{NPO}_3\text{H}$  (trialkylphospho-amidat hoặc axit phosphoramidic); hoặc  $\text{ArAr}'\text{Ar}''\text{NPO}_3\text{H}$  (triarylphosphoni);  $\text{OP}(\text{O})(\text{OM}_1)(\text{OM}_2)$ ,  $\text{OCH}_2\text{OP}(\text{O})(\text{OM}_1)(\text{OM}_2)$ ,  $\text{OSO}_3\text{M}_1$ ; O-glycosit (glucosit, galactosit, manosit, glucuronosit, alosit, fructosit, v.v), NH-glycosit, S-glycosit hoặc  $\text{CH}_2$ -glycosit;  $\text{M}_1$  và  $\text{M}_2$  độc lập là H, Na, K, Ca, Mg,  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NR}_1'\text{R}_2'\text{R}_3'$ ;  $\text{R}_1'$ ,  $\text{R}_2'$  và  $\text{R}_3'$  độc lập là H,  $\text{C}_1\sim\text{C}_8$  alkyl; Ar, Ar', và Ar'' là nhóm  $\text{C}_3\sim\text{C}_8$  aryl hoặc nhóm dị thơm.

$\text{R}_{11}$  là H,  $\text{C}_1\sim\text{C}_8$  alkyl;  $\text{C}_2\sim\text{C}_8$  alkenyl, alkynyl, heteroalkyl;  $\text{C}_3\sim\text{C}_8$  aryl, heteroaryl.

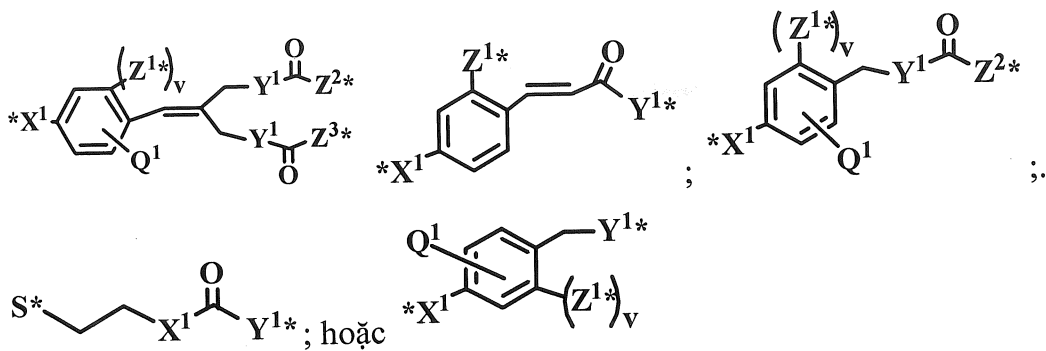
$\text{R}_{12}$ ,  $\text{R}_{12}'$ , và  $\text{R}_{12}''$  độc lập được chọn từ H,  $\text{C}_1\sim\text{C}_8$  alkyl;  $\text{C}_2\sim\text{C}_8$  alkenyl, alkynyl, heteroalkyl;  $\text{C}_3\sim\text{C}_8$  aryl, heteroaryl, dị vòng, hoặc vòng cacbon.

X là S, O, NH, SO,  $\text{SO}_2$ , hoặc  $\text{CH}_2$ .

m bằng 0 hoặc 1; n bằng 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, hoặc 20.

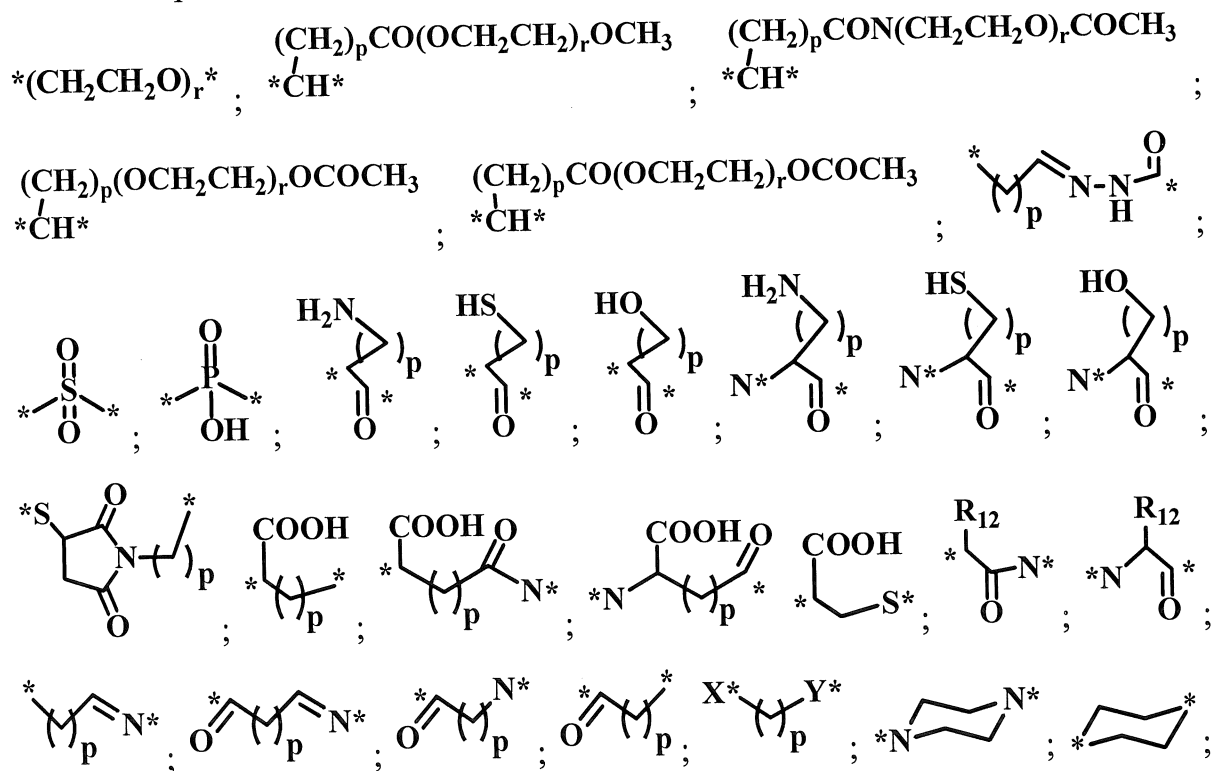
L là nhóm liên kết hoặc cụm liên kết cộng hóa trị của phân tử gắn kết tế bào-nhóm liên kết (Q), hoặc nhóm liên kết có nhóm chức trên nhóm liên kết này để có thể liên kết với chất gắn kết tế bào (CBA). Tốt hơn, nếu L là nhóm liên kết có thể giải phóng, nhóm này có công thức:  $-\text{Ww}-(\text{Aa})\text{r}-\text{Tt}-$ ; hoặc  $-\text{Ww}-(\text{Aa})\text{r}-\text{Tt}-\text{Q}$ ; hoặc  $\text{Q}-\text{Ww}-(\text{Aa})\text{r}-\text{Tt}-$ ; trong đó W là đơn vị Stretcher; w bằng 0 hoặc 1; Aa là đơn vị axit amin chứa các axit amin độc lập; r là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 100. Đơn vị Stretcher W có thể chứa thành phần tự phân hủy hoặc thành phần không tự phân hủy, đơn vị peptidyl, liên kết hydrazon, disulfua, este, oxim, amit, hoặc liên kết thioete. Đơn vị tự phân hủy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các hợp chất thơm tương tự về mặt điện tử với các nhóm para-aminobenzylcarbamoyl (PAB) như dẫn xuất 2-aminoimidazol-5-metanol, chất tương tự PAB dị vòng, beta-glucuronit, và ortho hoặc para-aminobenzylaxetal. Tốt hơn, nếu thành phần nhóm liên kết tự phân hủy có một trong số các cấu trúc sau:

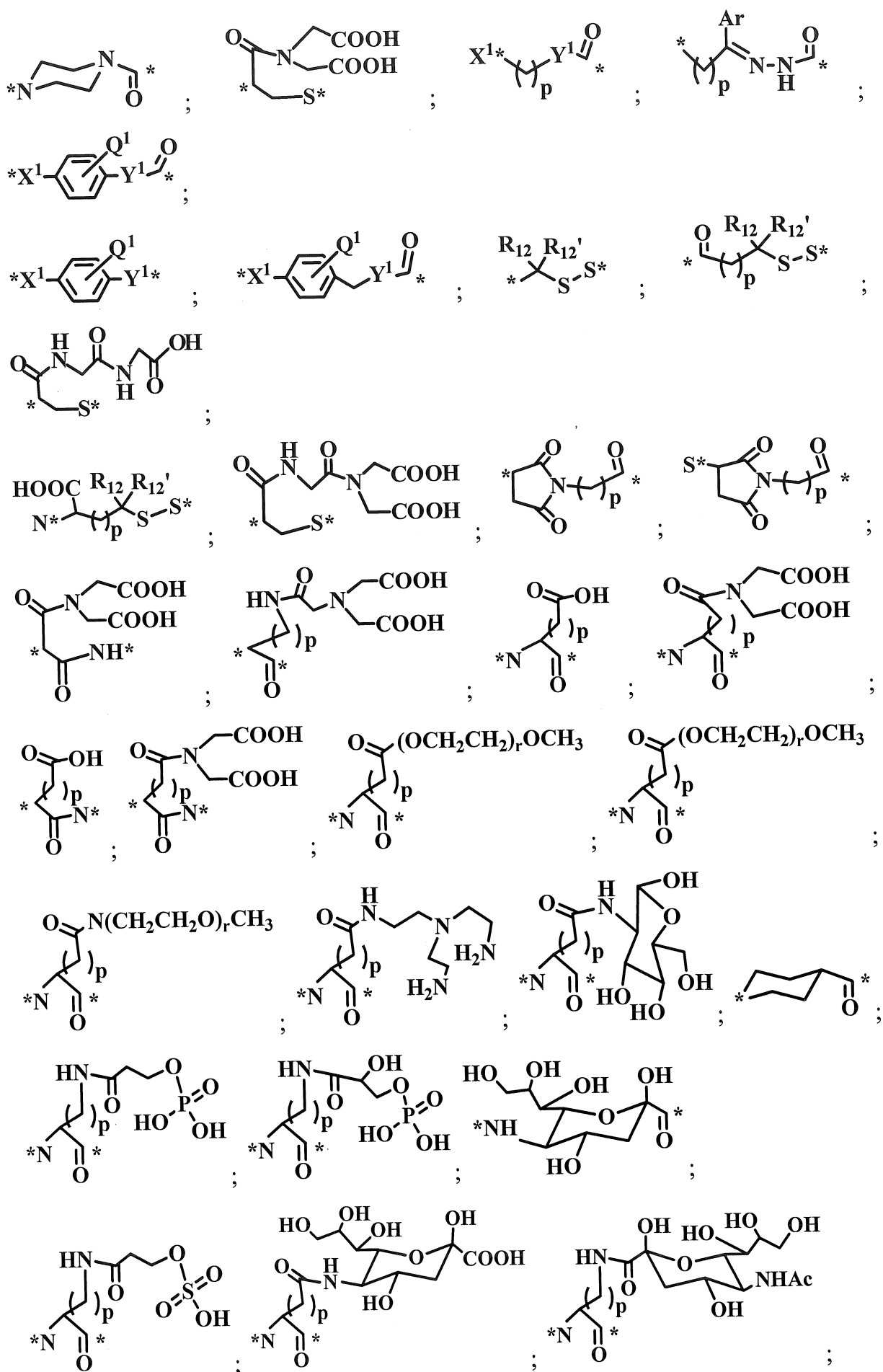


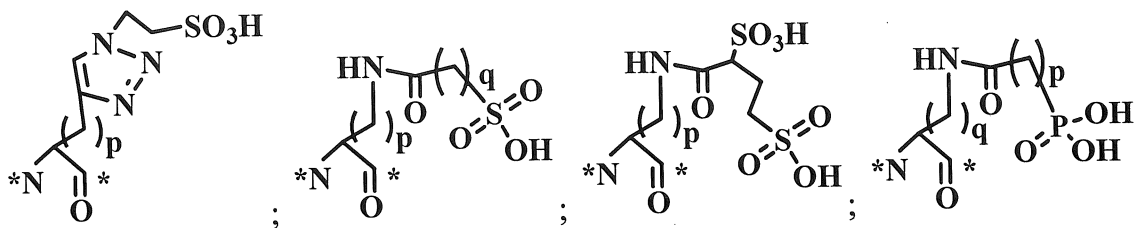


trong đó nguyên tử được đánh dấu (\*) là điểm gắn kết của nhóm đệm bổ sung hoặc đơn vị của nhóm liên kết có thể giải phóng, hoặc chất gây độc tế bào, và/hoặc phân tử gắn kết tế bào (CBA);  $X^1$ ,  $Y^1$ ,  $Z^2$  và  $Z^3$  độc lập là NH, O, hoặc S;  $Z^1$  độc lập là H, NH, O hoặc S; v bằng 0 hoặc 1;  $Q^1$  độc lập là H, OH,  $C_1\text{--}C_6$  alkyl,  $(OCH_2CH_2)_n$ , F, Cl, Br, I,  $OR_{12}$ ,  $SR_{12}$ ,  $NR_{12}R_{12}'$ ,  $N=NR_{12}$ ,  $N=R_{12}$ ,  $NR_{12}R_{12}'$ ,  $NO_2$ ,  $SOR_{12}R_{12}'$ ,  $SO_2R_{12}$ ,  $SO_3R_{12}$ ,  $OSO_3R_{12}$ ,  $PR_{12}R_{12}'$ ,  $POR_{12}R_{12}'$ ,  $PO_2R_{12}R_{12}'$ ,  $OPO(OR_{12})(OR_{12}')$ , hoặc  $OCH_2PO(OR_{12})(OR_{12}')$  trong đó  $R_{12}$  và  $R_{12}'$  là như được xác định trên đây; tốt hơn nếu  $R_{12}$  và  $R_{12}'$  độc lập được chọn từ H,  $C_1\text{--}C_8$  alkyl;  $C_2\text{--}C_8$  alkenyl, alkynyl, heteroalkyl;  $C_3\text{--}C_8$  aryl, dị vòng, vòng cacbon, xycloalkyl, heteroxycloalkyl, heteroaralkyl, alkylcarbonyl; hoặc các muối cation được dùng.

Thành phần nhóm liên kết không tự phân hủy có một trong số các cấu trúc sau:







Trong đó nguyên tử được đánh dấu (\*) là điểm gắn kết của nhóm đệm bổ sung hoặc các nhóm liên kết có thể giải phóng, các chất gây độc tế bào, và/hoặc phân tử gắn kết;  $X^1$ ,  $Y^1$ ,  $Q^1$ ,  $R_{12}$ ,  $R_{12}'$  đã được xác định như trên đây;  $r$  nằm trong khoảng từ 0 đến 100;  $p$  và  $q$  độc lập nằm trong khoảng từ 0 đến 6.

Nhóm đệm (T) là alkyl, alkenyl, alkynyl hoặc aryl mạch thẳng, mạch nhánh hoặc mạch vòng có từ 1 đến 10 nguyên tử cacbon, hoặc T có thể là nhóm đệm polyetylen glycol ( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ );  $t$  bằng 0, hoặc nằm trong khoảng từ 1 đến 100. T cũng có thể được đóng vòng khi thủy phân liên kết amit, các amit này bao gồm các amit axit 4-aminobutyric được thể và không được thể, các hệ vòng [2.2.1] có hai vòng và các hệ vòng [2.2.2] có hai vòng được thể thích hợp, và các amit axit 2-aminophenylpropionic.

Q là phân tử/chất gắn kết tế bào (CBA), hoặc nhóm chức có khả năng liên kết với chất gắn kết tế bào, hoặc nhóm chức có khả năng liên kết với nhóm liên kết được gắn trên chất gắn kết tế bào. Nhóm chức này được chọn từ thiol, amin, hydrazin, alkoxyamino, nhóm thể disulfua, maleimido, nhóm haloaxetyl, axit carboxy, este N-hydroxy succinimit, keton, este, aldehyt, alkynyl, alkenyl, hoặc nhóm thiol hoặc disulfua được bảo vệ, như SAc, SSR<sub>1</sub> hoặc SSAr. Ar là nhóm thơm hoặc nhóm dị thơm.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm điều trị chứa: (1) lượng hữu hiệu của một hoặc nhiều dẫn xuất có độc tố của nấm Amanita tùy ý có thể liên kết hoặc được liên kết với chất gắn kết tế bào, và (2) chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược được dụng, có công thức (I) của sáng chế, để tiêu diệt các tế bào hoặc mô hướng đích chứa các tế bào hướng đích.

### Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện quy trình tổng hợp dipeptit Tr-Hpi-Gly-OH.

Fig.2 thể hiện quy trình tổng hợp pha dung dịch của Ile<sup>3</sup>-S-deoxo-amanitin<sub>1</sub>.

Fig.3 thể hiện quy trình tổng hợp pha dung dịch của Ile<sup>3</sup>-S-deoxo-amanitin<sub>2</sub>.

Fig.4 thể hiện quy trình tổng hợp pha rắn của tiền chất Ile<sup>3</sup>-S-deoxo-amanitin.

Fig.5 thể hiện quy trình tổng hợp các dẫn xuất Ile<sup>3</sup>-S-deoxo-amanitin\_1.

Fig.6 thể hiện quy trình tổng hợp nhóm liên kết\_1 dùng để tổng hợp độc tố của nấm Amanita.

Fig.7 thể hiện quy trình tổng hợp dẫn xuất Ile<sup>3</sup>-S-deoxo-amanitin và thể liên hợp\_2.

Fig.8 thể hiện quy trình tổng hợp nhóm liên kết\_2 dùng để tổng hợp độc tố của nấm Amanita.

Fig.9 thể hiện quy trình tổng hợp dẫn xuất Ile<sup>3</sup>-S-deoxo-amanitin và thể liên hợp\_3.

Fig.10 thể hiện quy trình tổng hợp nhóm liên kết\_3 dùng để tổng hợp độc tố của nấm Amanita.

Fig.11 thể hiện quy trình tổng hợp dẫn xuất Ile<sup>3</sup>-S-deoxo-amanitin và thể liên hợp\_4.

Fig.12 thể hiện quy trình tổng hợp nhóm liên kết\_4 của độc tố của nấm Amanita.

Fig.13 thể hiện quy trình tổng hợp dẫn xuất Ile<sup>3</sup>-S-deoxo-amanitin và thể liên hợp\_5

Fig.14 thể hiện quy trình tổng hợp dẫn xuất Ile<sup>3</sup>-S-deoxo-amanitin và thể liên hợp\_6.

Fig.15 thể hiện quy trình tổng hợp nhóm liên kết\_5 của độc tố của nấm Amanita.

Fig.16 thể hiện quy trình tổng hợp dẫn xuất Ile<sup>3</sup>-S-deoxo-amanitin và thể liên hợp\_7.

Fig.17 thể hiện quy trình tổng hợp dẫn xuất Ile<sup>3</sup>-S-deoxo-amanitin và thể liên hợp\_8.

Fig.18 thể hiện quy trình tổng hợp nhóm liên kết\_6 của độc tố của nấm Amanita.

Fig.19 thể hiện quy trình tổng hợp dẫn xuất Ile<sup>3</sup>-S-deoxo-amanitin và thể liên hợp\_9.

Fig.20 thể hiện quy trình tổng hợp dẫn xuất Ile<sup>3</sup>-S-deoxo-amanitin và thể liên hợp\_10.

Fig.21 thể hiện quy trình tổng hợp thể liên hợp của dẫn xuất amanitin \_1.

Fig.22 thể hiện quy trình tổng hợp thể liên hợp của dẫn xuất amanitin \_2.

Fig.23 thể hiện quy trình tổng hợp thể liên hợp của dẫn xuất amanitin \_3.

Fig.24 thể hiện quy trình tổng hợp thể liên hợp của dẫn xuất amanitin \_4.

Fig.25 thể hiện quy trình tổng hợp thể liên hợp của dẫn xuất phaloidin \_1.

Fig.26 thể hiện quy trình tổng hợp pha dung dịch của amatoxin và dẫn xuất.

Fig.27 thể hiện quy trình tổng hợp pha dung dịch của phalotoxin và dẫn xuất.

Fig.28 thể hiện quy trình tổng hợp pha dung dịch của virotoxin và dẫn xuất.

Fig.29 thể hiện kết quả so sánh hiệu quả kháng u của thể liên hợp của các hợp chất A1, A2, A3, A5, A6, A7, A9, và A10 với T-DM1 bằng cách sử dụng mô hình tế bào khối u dạ dày của người N87 với liều dùng 6 mg/kg, qua đường trong tĩnh mạch (i.v.), tiêm một lần. Kết quả này cho thấy toàn bộ thể liên hợp không làm giảm trọng lượng của chuột.

Fig.29 thể hiện kết quả so sánh hiệu quả kháng u của các thể liên hợp của hợp chất A1, A2, A3, A5, A6, A7, A9, và A10 với T-DM1 bằng cách sử dụng mô hình tế bào khối u dạ dày của người N87 với liều dùng 6 mg/kg, qua đường i.v., tiêm một lần. Các con chuột ở nhóm đối chứng bị giết vào ngày 45. Toàn bộ 8 thể liên hợp của hợp chất (A1, A2, A3, A5, A6, A7, A9, và A10) đều có hoạt tính *in vivo* tốt hơn so với T-DM1.

### Mô tả chi tiết sáng chế

Các định nghĩa:

Thuật ngữ "alkyl" để chỉ nhóm hydrocarbon béo, có thể có mạch thẳng hoặc mạch nhánh, có từ 1 đến 8 nguyên tử cacbon trong mạch hoặc vòng. Thuật ngữ "mạch nhánh" để chỉ một hoặc nhiều nhóm alkyl thấp như metyl, etyl hoặc propyl được gắn với alkyl mạch thẳng. Các nhóm alkyl làm ví dụ bao gồm metyl, etyl, n-propyl, i-propyl, n-butyl, t-butyl, n-pentyl, 3-pentyl, octyl, nonyl, dexyl, xyclopentyl, xyclohexyl, 2,2-dimetylbutyl, 2,3-dimetylbutyl, 2,2-dimetylpentyl, 2,3-dimetylpentyl, 3,3-dimetylpentyl, 2,3,4-trimetylpentyl, 3-metylhexyl, 2,2-dimetylhexyl, 2,4-dimetylhexyl, 2,5-dimetylhexyl, 3,5-dimetylhexyl, 2,4-dimetylpentyl, 2-metylheptyl, 3-metylheptyl, n-heptyl, isoheptyl, n-octyl, và isooctyl. Nhóm C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alkyl có thể không được thể hoặc được thể bằng một hoặc nhiều nhóm bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, -C<sub>1</sub>~C<sub>8</sub> alkyl, -O-(C<sub>1</sub>~C<sub>8</sub> alkyl), -aryl, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH<sub>2</sub>, -C(O)NHR', -C(O)N(R')<sub>2</sub>-NHC(O)R', -S(O)<sub>2</sub>R', -S(O)R', -OH, -halogen (F,

Cl, Br hoặc I),  $-N_3$ ,  $-NH_2$ ,  $-NH(R')$ ,  $-N(R')_2$  và  $-CN$ ; trong đó mỗi nhóm  $R'$  độc lập được chọn từ nhóm  $-C_1\sim C_8$  alkyl và aryl.

Các thuật ngữ "alkyl vòng", "xycloalkyl" và "vòng cacbon có từ 3 đến 8 nguyên tử cacbon" có thể được sử dụng thay thế lẫn nhau. Các thuật ngữ này để chỉ nhân vòng cacbon không thơm, no hoặc không no, có 3-, 4-, 5-, 6-, 7- hoặc 8- cạnh. Các vòng cacbon có từ 3 đến 8 nguyên tử cacbon làm đại diện bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclopentadienyl, xyclohexyl, xyclohexenyl, 1,3-xyclohexadienyl, 1,4-xyclohexadienyl, xycloheptyl, 1,3-xycloheptadienyl, 1,3,5-xycloheptatrienyl, xyclooctyl, và xyclooctadienyl. Nhóm vòng cacbon có từ 3 đến 8 nguyên tử cacbon có thể không được thế hoặc được thế bằng một hoặc nhiều nhóm bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở,  $-C_1\sim C_8$  alkyl,  $-OR_5$ ,  $-aryl$ ,  $-C(O)R_5$ ,  $-OC(O)R_5$ ,  $-C(O)OR_5$ ,  $-C(O)NH_2$ ,  $-C(O)NHR_5$ ,  $-C(O)NR_5R_5$ ,  $-NHC(O)R_5$ ,  $-S(O)_2R_5$ ,  $-S(O)R_5$ ,  $-OH$ ,  $-halogen$ ,  $-N_3$ ,  $-NH_2$ ,  $-NHR_5$ ,  $-NR_5R_5$ , và  $-CN$ ; trong đó  $R_5$  và  $R_5'$  độc lập là H;  $C_1\sim C_8$  alkyl, alkenyl, alkynyl, heteroalkyl, aryl, arylalkyl, hoặc carbonylalkyl; hoặc các muối được dùng.  $R_5$  và  $R_5'$  có thể được thế tiếp bằng ít nhất một nhóm thế được chọn từ  $-N(R_5)(R_5')$ ,  $-CO_2H$ ,  $-SO_3H$ ,  $-OR_5$ ,  $-CO_2R_5$ ,  $-CONR_5$ , và  $-PO_3H$ .

Thuật ngữ " $C_3\sim C_8$  carboxyclo" để chỉ nhóm vòng cacbon có từ 3 đến 8 nguyên tử cacbon đã định nghĩa trên đây, trong đó một trong số các nguyên tử hydro trên vòng cacbon được thay thế bằng liên kết.

Alkenyl để chỉ nhóm hydrocacbon béo chứa liên kết đôi cacbon-cacbon và có thể có mạch thẳng hoặc mạch nhánh, có 2 đến 8 nguyên tử cacbon trong mạch. Liên kết đôi alkenyl có thể có sự định hướng "cis" và "trans", hoặc theo cách khác, sự định hướng "E" và "Z". Các nhóm alkenyl làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, etylenyl hoặc vinyl, propenyl hoặc allyl, n-butenyl, i-butenyl, 3-metylbut-2-enyl, n-pentenyl, hexylenyl, heptenyl, octenyl.

Thuật ngữ "alkynyl" hoặc "alkinyl" để chỉ nhóm hydrocacbon béo chứa liên kết ba cacbon-cacbon và có thể có mạch thẳng hoặc mạch nhánh, có từ 2 đến 8 nguyên tử cacbon trong mạch. Các nhóm alkynyl làm ví dụ bao gồm etynyl, propynyl, n-butylnyl, 2-butylnyl, 3-metylbutynyl, pentynyl, n-pentynyl, hexylnyl, heptynyl, và octynyl.

Thuật ngữ "heteroalkyl" để chỉ nhóm  $C_2\sim C_8$  alkyl trong đó một đến bốn nguyên tử cacbon độc lập được thay thế bằng nguyên tử khác loại từ nhóm gồm O, S và N.

Thuật ngữ “dị vòng” để chỉ nhóm vòng cacbon có từ 3 đến 14 nguyên tử cacbon thơm hoặc không thơm, trong đó một đến bốn nguyên tử cacbon trong vòng độc lập được thay thế bằng nguyên tử khác loại từ nhóm bao gồm O, N, P, S và Se. Các nguyên tử khác loại được ưu tiên là oxy, nitơ và lưu huỳnh. Các dị vòng thích hợp cũng được mô tả trong tài liệu: The Handbook of Chemistry and Physics, 76<sup>th</sup> Edition, CRC Press, Inc., 1995-1996, trang 2-25 đến 2-26, tài liệu này được đưa vào đây để tham khảo. Dị vòng không thơm được ưu tiên bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, pyrrolidinyl, pyrazolidinyl, imidazolidinyl, oxiranyl, tetrahydrofuranyl, dioxolanyl, tetrahydropyranyl, dioxanyl, dioxolanyl, piperidyl, piperazinyl, morpholinyl, pyranyl, imidazolinyl, pyrolinyl, pyrazolinyl, thiazolidinyl, tetrahydrothiopyranyl, dithianyl, thiomorpholinyl, dihydro-pyranyl, tetrahydropyranyl, dihydropyranyl, tetrahydropyridyl, dihydropyridyl, tetrahydropyridinyl, dihydrothiopyranyl, azepanyl, cũng như các hệ ngưng tụ thu được từ quá trình ngưng tụ với nhóm phenyl.

Thuật ngữ "aryl" hoặc Ar để chỉ nhóm thơm hoặc nhóm dị thơm, bao gồm một hoặc vài vòng, chứa từ 3 đến 14 nguyên tử cacbon, tốt hơn là từ 6 đến 10 nguyên tử cacbon. Thuật ngữ nhóm dị thơm để chỉ một hoặc vài nguyên tử cacbon trên nhóm thơm, tốt hơn là 1, 2, 3 hoặc 4 nguyên tử cacbon được thay thế bằng O, N, Si, Se, P hoặc S, tốt hơn là được thay thế bằng O, S, N. Thuật ngữ aryl hoặc Ar cũng để chỉ nhóm thơm, trong đó một hoặc vài nguyên tử H độc lập được thay thế bằng alkyl, F, Cl, Br, I, O R<sub>5</sub>, hoặc SR<sub>5</sub>, N R<sub>5</sub>R<sub>5</sub>', N=NR<sub>5</sub>, N=R<sub>5</sub>, NR<sub>5</sub>R<sub>5</sub>', NO<sub>2</sub>, SOR<sub>5</sub>R<sub>5</sub>, SO<sub>2</sub>R<sub>5</sub>, SO<sub>3</sub>R<sub>5</sub>, OSO<sub>3</sub>R<sub>5</sub>, PR<sub>5</sub>R<sub>5</sub>', POR<sub>5</sub>R<sub>5</sub>', PO<sub>5</sub>R<sub>5</sub>', OPO<sub>3</sub>R<sub>5</sub>R<sub>5</sub>', hoặc PO<sub>3</sub>R<sub>5</sub>R<sub>5</sub>', trong đó R<sub>5</sub> và R<sub>5</sub>' độc lập là H, alkyl, alkenyl, alkynyl, heteroalkyl, aryl, arylalkyl, cacbonyl, hoặc các muối được dung.

Thuật ngữ “heteroaryl” hoặc các dị vòng thơm để chỉ dị vòng, vòng có một, hai hoặc nhiều vòng, thơm có từ 5 đến 14, tốt hơn là 5 đến 10 cạnh. Các ví dụ bao gồm pyrolyl, pyridyl, pyrazolyl, thienyl, pyrimidinyl, pyrazinyl, tetrazolyl, indolyl, quinolinyl, purinyl, imidazolyl, thienyl, thiazolyl, benzothiazolyl, furanyl, benzofuranyl, 1,2,4-thiadiazolyl, isothiazolyl, triazolyl, tetrazolyl, isoquinolyl, benzothieryl, isobenzofuryl, pyrazolyl, carbazolyl, benzimidazolyl, isoxazolyl, pyridyl-N-oxit, cũng như các hệ ngưng tụ thu được từ quá trình ngưng tụ với nhóm phenyl.

Các thuật ngữ "alkyl", "xycloalkyl", “alkenyl”, “alkynyl”, "aryl", "heteroaryl", "dị vòng" và thuật ngữ tương tự cũng để chỉ nhóm "alkylen", "xycloalkylen",

"alkenilen", "alkynilen", "arylen", "heteroarylen", "heteroxyclen" và nhóm tương tự tương ứng được tạo ra bằng cách loại bỏ hai nguyên tử hydro.

Thuật ngữ "nguyên tử halogen" để chỉ nguyên tử flo, clo, brom hoặc iot; tốt hơn nếu là nguyên tử brom và clo.

Thuật ngữ "về mặt dược phẩm" hoặc "dược dụng" để chỉ các đơn vị phân tử và chế phẩm không gây ra phản ứng có hại, phản ứng dị ứng hoặc phản ứng không mong muốn khác khi được sử dụng cho động vật, hoặc người, khi thích hợp.

Thuật ngữ "tá dược dược dụng" bao gồm các chất mang, chất pha loãng, chất phụ trợ hoặc các chất dẫn thuốc, như chất bảo quản hoặc chất chống oxy hoá, chất đệm, chất gây rã, chất thấm ướt, chất nhũ hóa, chất tạo hỗn dịch, dung môi, môi trường phân tán, chất phủ, chất kháng khuẩn và chất chống nấm, chất đẳng trương và chất làm chậm mức độ hấp thu và chất tương tự bất kỳ. Việc sử dụng các môi trường và chất này cho các chất có hoạt tính dược là đã biết rõ trong lĩnh vực này. Ngoại trừ việc môi trường hoặc chất thông thường bất kỳ không tương hợp với hoạt chất, việc sử dụng nó trong các chế phẩm điều trị được dự định. Các hoạt chất bổ sung cũng có thể được đưa vào các chế phẩm này làm chế phẩm điều trị thích hợp.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "các muối dược dụng" để chỉ dẫn xuất của các hợp chất được bộc lộ trong đó hợp chất gốc được cải biến bằng cách tạo ra các muối axit hoặc bazơ của nó. Các muối dược dụng bao gồm các muối không độc thông thường hoặc các muối amoni bậc bốn của hợp chất gốc được tạo ra, ví dụ, từ các axit vô cơ hoặc hữu cơ không độc. Ví dụ, các muối không độc thông thường này bao gồm các muối có nguồn gốc từ các axit vô cơ như axit clohydric, axit bromhydric, axit sulfuric, axit sulfamic, axit phosphoric, axit nitric và axit tương tự; và các muối được điều chế từ các axit hữu cơ như axit axetic, axit propionic, axit succinic, axit tartaric, axit citric, axit metansulfonic, axit benzensulfonic, axit glucuronic, axit glutamic, axit benzoic, axit salicylic, axit toluenulfonic, axit oxalic, axit fumaric, axit maleic, axit lactic và axit tương tự. Các muối cộng khác bao gồm các muối amoni như trometamin, trietanolamin, meglumin, epolamin, v.v., các muối kim loại như natri, kali, canxi, kẽm hoặc magie.

Các muối dược dụng theo sáng chế có thể được tổng hợp từ hợp chất gốc chứa gốc bazơ hoặc axit bằng các phương pháp hóa học thông thường. Nói chung, các muối này có thể được điều chế bằng cách cho dạng axit hoặc bazơ tự do của các hợp chất này phản ứng với lượng theo hệ số tỷ lệ của bazơ hoặc axit thích hợp trong nước hoặc trong



dung môi hữu cơ, hoặc trong hỗn hợp chứa cả hai chất này. Nói chung, môi trường không chứa nước như ete, etyl axetat, etanol, isopropanol, hoặc axetonitril là được ưu tiên. Danh sách các muối thích hợp được tìm thấy trong tài liệu: Remington's Pharmaceutical Sciences, 17<sup>th</sup> ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985, p1418, tài liệu này được đưa vào đây để tham khảo.

Thuật ngữ “hợp chất”, “chất gây độc tế bào”, “hợp chất gây độc tế bào” “dime gây độc tế bào” và “hợp chất dime gây độc tế bào” được sử dụng thay thế lẫn nhau. Chúng được dự định bao gồm hợp chất có cấu trúc hoặc công thức hoặc dẫn xuất bất kỳ của nó đã được bộc lộ trong sáng chế hoặc cấu trúc hoặc công thức hoặc dẫn xuất bất kỳ của nó được đưa vào đây để tham khảo. Thuật ngữ này cũng bao gồm, chất đồng phân lập thể, chất đồng phân dị hình, tautome, solvat, chất chuyển hóa, các muối (ví dụ, các muối được dụng) và tiền dược chất, và các muối tiền dược chất của hợp chất có công thức trong số tất cả các công thức được bộc lộ trong sáng chế. Thuật ngữ này cũng bao gồm các solvat, hydrat, và dạng đa hình bất kỳ của hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất nêu trên. Việc nêu cụ thể “chất đồng phân lập thể”, “chất đồng phân dị hình”, “tautome”, “solvat”, “chất chuyển hóa”, “muối”, “tiền dược chất” “muối tiền dược chất”, “thể liên hợp,” “muối của thể liên hợp”, “solvat”, “hydrat” hoặc “dạng đa hình” theo một số khía cạnh của sáng chế được mô tả trong đơn sáng chế này sẽ không được hiểu là dự định bỏ qua các dạng này theo các khía cạnh khác của sáng chế mà thuật ngữ “hợp chất” được sử dụng mà không cần nêu các dạng khác này.

Thuật ngữ “chất gắn kết tế bào” hoặc “phân tử gắn kết tế bào” có thể là loại đã biết hiện nay, hoặc các loại sẽ được biết, và bao gồm các peptit và không phải peptit. Nói chung, các chất này có thể là các kháng thể (đặc biệt là các kháng thể đơn dòng) hoặc đoạn kháng thể chứa ít nhất một vị trí gắn kết, lymphokin, hormon, yếu tố sinh trưởng, phân tử vận chuyển chất dinh dưỡng (như transferin), hoặc phân tử hoặc chất gắn kết tế bào khác bất kỳ (như các vitamin).

Ví dụ cụ thể hơn của các chất gắn kết tế bào có thể được sử dụng bao gồm:

- các kháng thể đơn dòng (mAb);
- các kháng thể chuỗi đơn;
- các đoạn kháng thể như Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, F<sub>v</sub>, (Parham, J. Immunol. 131, 2895-2902 (1983); Spring et al, J. Immunol. 113, 470-478 (1974); Nisonoff et al, Arch. Biochem. Biophys. 89, 230-244 (1960)), các đoạn được tạo ra bởi ngân hàng

biểu hiện Fab, các kháng thể kháng idiotyp (kháng Id), các vùng quyết định tính bổ trợ (CDR), và các đoạn gắn kết epitop của thành phần bất kỳ trong số các thành phần nêu trên gắn kết đặc hiệu miễn dịch với các kháng nguyên của tế bào ung thư, kháng nguyên của virus hoặc kháng nguyên của vi khuẩn.

- các interferon;
- các peptit; hoặc các protein hoặc peptit được liên hợp;
- các lymphokin như IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6;
- các hormon như insulin, TRH (hormon giải phóng thyrotropin), MSH (hormon kích thích tế bào melanin), hormon steroid, như androgen và estrogen;
- các yếu tố sinh trưởng và các yếu tố kích thích khuần lạc như EGF, TGF $\alpha$ , yếu tố sinh trưởng tương tự insulin (IGF-I, IGF-II) G-CSF, M-CSF và GM-CSF (Burgess, Immunology Today 5, 155-158 (1984)); các vitamin, như folat và
- transferin (O'Keefe et al, J. Biol. Chem. 260, 932-937 (1985)).

Các kháng thể đơn dòng (mAb), chuỗi đơn hoặc đoạn của mAb có thể được tạo ra ở trạng thái đã biết rõ của lĩnh vực công nghệ. Công nghệ này cho phép tạo ra các chất gắn kết tế bào rất chọn lọc ở dạng các kháng thể đơn dòng đặc hiệu. Kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này là kỹ thuật tạo ra các kháng thể đơn dòng bằng cách gây miễn dịch cho chuột nhắt, chuột cống, chuột đồng hoặc động vật có vú khác bất kỳ bằng kháng nguyên quan tâm như tế bào đích nguyên vẹn, các kháng nguyên được phân lập từ tế bào đích, virus toàn phần, virus toàn phần đã bị giảm độc tính, và các protein của virus như các protein vỏ của virus.

Việc lựa chọn các chất gắn kết tế bào thích hợp phụ thuộc vào quần thể tế bào cụ thể cần được hướng đích, nhưng nói chung là các kháng thể đơn dòng được ưu tiên nếu kháng thể thích hợp có thể sử dụng.

Ví dụ, kháng thể đơn dòng là kháng nguyên kháng CD20, được gọi là Rituximab là kháng thể đơn dòng thể khảm (của chuột nhắt/người) và là kháng thể điều trị đầu tiên được cấp phép bởi Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Mỹ để điều trị u lymphô Hodgkin (NHL) thể nang hoặc mức độ thấp, tái phát hoặc dai dẳng (Leonard, J. P. et al., Clin. Canc. Res. 10:5327-5334 (2004)). Kháng thể kháng CD20 khác, được gọi là Ofatumumab, là kháng thể đơn dòng của người hướng đích epitop khác với epitop của rituximab và phần lớn các kháng thể kháng lại CD20 khác. Kháng thể này được Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Mỹ (US FDA) cấp phép để điều

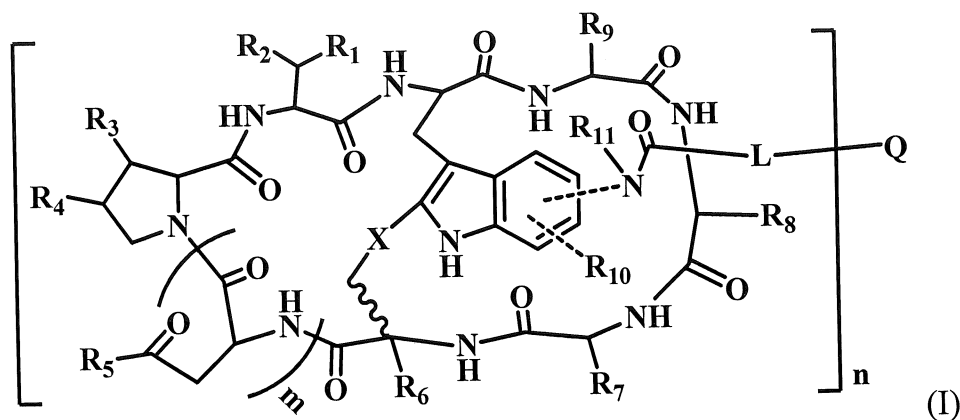
trị bệnh bạch cầu dạng lymphô mạn tính và kháng thể này cũng được chứng minh là có khả năng trong việc điều trị u lymphô Hodgkin thể nang, u lymphô tế bào B lớn lan tỏa, bệnh viêm đa khớp dạng thấp và bệnh xơ cứng rải rác dạng thuyên giảm-tái phát (Coiffier, B. et al Blood 111: 1094–100 (2008); Zhang, B. MAbs 1 (4): 326–31 (2009)). Kháng thể mAb kháng CD20, thể hệ thứ ba, được làm cho giống với kháng thể của người và glyco-được tạo ra bằng kỹ thuật di truyền để điều trị các bệnh ác tính dạng bạch huyết tế bào B, có tên là Afutuzumab (hiện nay được gọi là obinutuzumab) đã được phát triển (Robak, T (2009) Current opinion in investigational drugs (London, England: 2000) 10 (6): 588–96). Obinutuzumab là kháng thể kháng CD20 IgG1 typ II được làm cho giống hoàn toàn với kháng thể của người và nó gắn kết chọn lọc với vùng ngoại bào của kháng nguyên CD20 của người trên các tế bào B ác tính của người. Tương tự, kháng thể đơn dòng B4 kháng kháng nguyên CD19 là IgG<sub>1</sub> của chuột gắn kết với kháng nguyên CD19 trên các tế bào B (Nadler et al, 131 J. Immunol. 244-250 (1983)) và có thể được sử dụng nếu các tế bào đích là các tế bào B hoặc tế bào bị bệnh biểu hiện kháng nguyên CD19 như trong u lymphô Hodgkin hoặc bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô mạn tính. Ngoài ra, các kháng thể kháng CD22 bao gồm RFB4 (Mansfield, E. et al., Blood 90:2020-2026 (1997)), CMC-544 (DiJoseph, J. F., Blood 103:1807-1814 (2004)) và LL2 (Pawlak-Byczkowska, E. J. et al., Cancer Res. 49:4568-4577 (1989)) có thể được sử dụng làm liệu pháp tiềm năng cho các bệnh ung thư tế bào B và bệnh tăng sinh tế bào khác. Kháng thể LL2 (trước đây được gọi là HPB-2) là kháng thể đơn dòng của chuột nhắt IgG2a kháng lại kháng nguyên CD22 (Pawlak-Byczkowska, E. J. et al. (1989), nêu trên đây). Hơn nữa, kháng thể đơn dòng kháng kháng nguyên CD33, có tên là Gemtuzumab là kháng thể đơn dòng đầu tiên được liên hợp với dược chất gây độc tế bào để điều trị bệnh bạch cầu dòng tủy cấp tính (acute myelogenous leukemia: AML) (P. F. Bross et al Clin Cancer Res 7 (6): 1490–6). Kháng thể kháng kháng nguyên CD33 tương tự, có tên là My9-6 là kháng thể IgG<sub>1</sub> của chuột gắn kết đặc hiệu với kháng nguyên CD33 (J.D. Griffin et al 8 Leukemia Res., 521 (1984)) và có thể được sử dụng để hướng đích các tế bào biểu hiện CD33 như trong bệnh bạch cầu dòng tủy cấp tính (AML). Ngoài ra, kháng thể GM-CSF gắn kết với các tế bào tủy có thể được sử dụng làm chất gắn kết tế bào với các tế bào bị bệnh của bệnh bạch cầu dòng tủy cấp tính. Kháng thể IL-2, gắn kết với các tế bào T hoạt hóa, có thể được sử dụng để phòng ngừa tình trạng thải bỏ mô ghép,

để điều trị và phòng ngừa bệnh mô ghép chống lại tác chủ, và để điều trị bệnh bạch cầu tế bào T cấp tính. Kháng thể MSH, gắn kết với tế bào melanin, có thể được sử dụng điều trị u melanin.

Các chất gây độc tế bào mới và thể liên hợp của chúng theo sáng chế

Các dẫn xuất độc tố của nấm Amanita mới theo sáng chế bao gồm một hoặc nhiều dẫn xuất của amatoxin, phalotoxin hoặc virotoxin, tùy ý có thể liên kết hoặc được liên kết với chất gắn kết tế bào bằng nhóm liên kết. Nhóm liên kết này là một phần của gốc hóa học được liên kết cộng hóa trị với dẫn xuất độc tố của nấm Amanita bằng các phương pháp thông thường.

Các dẫn xuất độc tố của nấm Amanita được bộc lộ trong sáng chế có công thức (I) được thể hiện dưới đây:



hoặc các muối, hydrat, hoặc muối hydrat hóa được dùng của chúng; hoặc các cấu trúc tinh thể đa hình của các hợp chất này; hoặc các chất đồng phân dị cấu quang học, raxemat, chất đồng phân không đối quang hoặc chất đồng phân đối ảnh của chúng.

Trong đó

---- là liên kết đơn để liên kết vị trí cacbon bất kỳ của vòng (indol) thơm;

~~~~ là liên kết đơn tùy ý hoặc liên kết vắng mặt.

R_1 và R_2 độc lập được chọn từ H, OH, CH_2OH , $CH(OH)CH_2OH$, $CH(CH_3)CH_2OH$, $CH(OH)CH_3$, C_1 - C_8 alkyl, $-OR_{12}$ (ete), C_2 - C_8 alkenyl, alkynyl, heteroalkyl, $-OCOR_{12}$ (este), $-OC(=O)OR_{12}$ (cacbonat), $-OC(=O)NHR_{12}$ (carbamat); C_3 - C_8 aryl, dị vòng, vòng cacbon, xycloalkyl, heteroxycloalkyl, heteroaralkyl, alkylcacbonyl.

R_3 và R_4 độc lập được chọn từ H, OH, $-OR_{12}$ (ete), $-OCOR_{12}$ (este), $-OCOCH_3$ (axetat), $-OCOOR_{12}$ (cacbonat), $-OC(=O)NHR_{12}$ (carbamat), $-OP(O)(OR_{12})(OR_{12}')$

(phosphat), $OP(O)(NHR_{12})(NHR_{12}')$ (phosphamit), $O-SO_3^-$, hoặc O-glycosit.

R_5 được chọn từ H, OH, NH_2 , $-OR_{12}$, $-NHR_{12}$, $-NR_{12}R_{12}'$, $N(H)(R_{12})R_{13}CO(Aa)_p$, (axit amin hoặc peptit, trong đó Aa là axit amin hoặc polypeptit, p nằm trong khoảng từ 0 đến 6).

R_6 được chọn từ H, OH, CH_2OH , $CH(OH)CH_2OH$, $CH(CH_2OH)_2$, $CH(CH_3)OH$, CH_2CH_2OH , $PrOH$, $BuOH$, $C_1\sim C_8$ alkyl, $-OR_{12}$ (ete), $C_2\sim C_8$ alkenyl, alkynyl, heteroalkyl, $-OCOR_{12}$ (este); $C_3\sim C_8$ aryl, dị vòng, hoặc vòng cacbon.

R_7 , R_8 và R_9 độc lập được chọn từ H, OH, CH_3 , $CH(CH_3)_2$, $CH(CH_3)CH_2CH_3$, CH_2OH , $CH(OH)CH_2OH$, $CH_2CH(OH)CH_2OH$, $CH(CH_2OH)_2$, $CH_2C(OH)(CH_2OH)_2$, $CH_2C(OH)(CH_3)(CH_2OH)$, $CH_2C(OH)(CH(CH_3)_2)(CH_2OH)$, CH_2CH_2OH , $PrOH$, $BuOH$, CH_2COOH , CH_2CH_2COOH , $CH(OH)COOH$, CH_2CONH_2 , $CH_2CH_2CONH_2$, $CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$, $CH_2CH_2CH_2NHC(=NH)NH_2$, $C_1\sim C_8$ alkyl, CH_2Ar , CH_2SH , CH_2SR_{12} , CH_2SSR_{12} , CH_2SSAr , $CH_2CH_2SCH_3$, $-OR_{12}$ (ete), $C_2\sim C_8$ alkenyl, alkynyl, heteroalkyl, $-OCOR_{12}$ (este); $C_3\sim C_8$ aryl, dị vòng, hoặc vòng cacbon.

R_{10} được chọn từ H, NH_2 , OH, SH, NO_2 , halogen, $-NHOH$, $-N_3$ (azido); $-CN$ (xyano); $C_1\sim C_8$ alkyl, $C_2\sim C_8$ alkenyl, alkynyl, heteroalkyl; $C_3\sim C_8$ aryl, dị vòng, hoặc vòng cacbon; $-OR_{12}$ (ete), $-OCOR_{12}$ (este), $-OCOCH_3$ (axetat), $-OC(O)OR_{12}$ (cacbonat), $-OC(O)CH(R_{12})NHAa$ (Aa là nhóm axit amin), $-NR_{12}R_{12}'$ (amin), $-NR_{12}COR_{12}'$ (amin), $-NR_{12}NR_{12}'NR_{12}''$ (amin); $-OCONR_{12}R_{12}'$ (carbamit); $-NR_{12}(C=NH)NR_{12}'R_{12}''$ (guanidin); $-NR_{12}CO(Aa)_p$, (axit amin hoặc peptit, trong đó Aa là axit amin hoặc polypeptit, p nằm trong khoảng từ 0 đến 6); $-N(R_{12})CONR_{12}'R_{12}''$ (ure); $-OCSNHR_{12}$ (thiocarbamat); $-SH$ (thiol); $-SR_{12}$ (sulfua); $-S(O)R_{12}$ (sulfoxit); $-S(O_2)R_{12}$ (sulfon); $-SO_3$, HSO_3 , HSO_2 , hoặc muối của HSO_3^- , SO_3^{2-} hoặc $-HSO_2^-$ (sulphit); $-OSO_3^-$; $-N(R_{12})SOOR_{12}'$ (sulfonamit); $H_2S_2O_5$ hoặc muối của $S_2O_5^{2-}$ (metabisulfit); PO_3SH_3 , $PO_2S_2H_2$, POS_3H_2 , PS_4H_2 hoặc muối của PO_3S^{3-} , $PO_2S_2^{3-}$, POS_3^{3-} , PS_4^{3-} (mono-, di-, tri-, và tetra-thiophosphat); $(R_{12}O)_2POSR_{12}'$ (thiophosphat este); HS_2O_3 hoặc muối của $S_2O_3^{2-}$ (thiosulfat); HS_2O_4 hoặc muối của $S_2O_4^{2-}$ (dithionit); $(P(=S)(OR_{12})(S)(OH))$ hoặc muối được tạo thành với cation (phosphorodithioat); $-N(R_{12})OR_{12}'$ (dẫn xuất hydroxylamin); $R_{12}C(=O)NOH$ hoặc muối được tạo thành với cation (axit hydroxamic); $(HOCH_2SO_2^-)$, hoặc các muối của nó (formaldehyt sulfoxylat); $-N(R_{12})COR_{12}'$ (amit); $R_{12}R_{12}'R_{12}''NPO_3H$ (trialkylphospho-amidat hoặc axit phosphoramidic); hoặc $ArAr'Ar''NPO_3H$ (triarylphosphoni); $OP(O)(OM_1)(OM_2)$, $OCH_2OP(O)(OM_1)(OM_2)$,

OSO₃M₁; O-glycosit (glucosit, galactosit, manosit, glucuronosit, alosit, fructosit, etc), NH-glycosit, S-glycosit hoặc CH₂-glycosit; M₁ và M₂ độc lập là H, Na, K, Ca, Mg, NH₄, NR₁'R₂'R₃'; R₁', R₂' and R₃' độc lập là H, C₁~C₈ alkyl; Ar, Ar', và Ar'' là n C₃-C₈ aryl hoặc nhóm dị thơm.

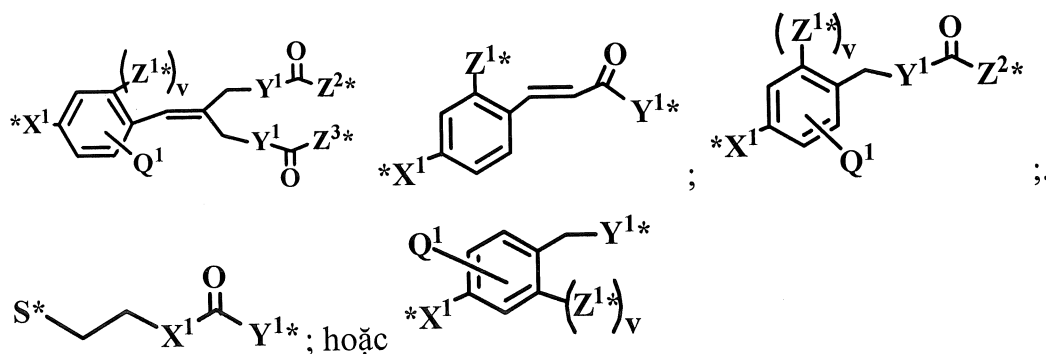
R₁₁ là H, C₁~C₈ alkyl; C₂~C₈ alkenyl, alkynyl, heteroalkyl; C₃~C₈ aryl, heteroaryl.

R₁₂, R₁₂', và R₁₂'' độc lập được chọn từ H, C₁~C₈ alkyl; C₂~C₈ alkenyl, alkynyl, heteroalkyl; C₃~C₈ aryl, heteroaryl, dị vòng, hoặc vòng cacbon.

X là S, O, NH, SO, SO₂, hoặc CH₂.

m bằng 0 hoặc 1; n bằng 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, hoặc 20.

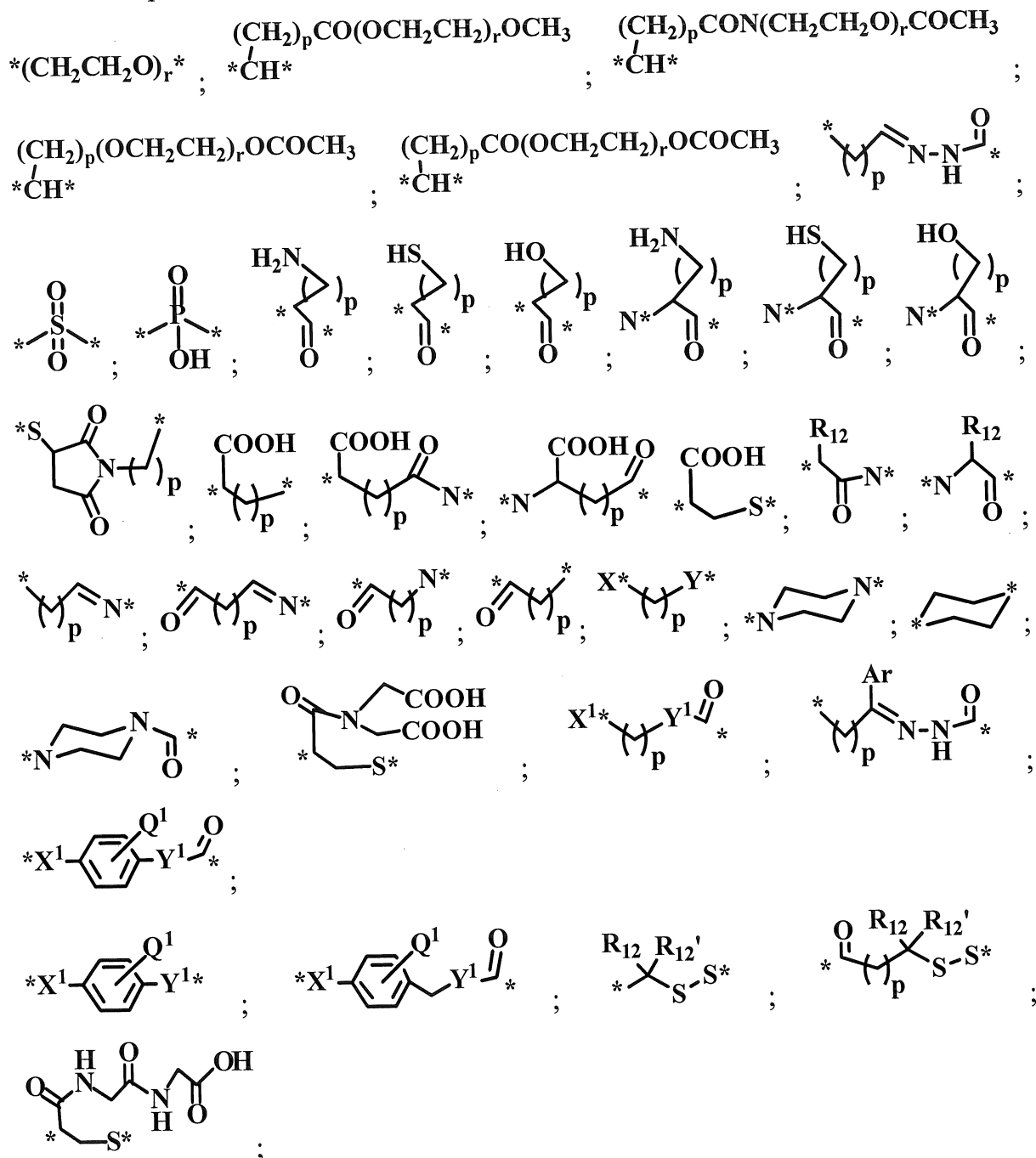
L là nhóm liên kết hoặc cụm liên kết cộng hóa trị của phân tử gắn kết tế bào-nhóm liên kết (Q), hoặc nhóm liên kết có nhóm chức trên nhóm liên kết này để có thể liên kết với chất gắn kết tế bào (CBA). Tốt hơn, nếu L là nhóm liên kết có thể giải phóng, nhóm này có công thức: —Ww—(Aa)r—Tt—; hoặc —Ww—(Aa)r—Tt—Q; hoặc Q—Ww—(Aa)r—Tt—; trong đó W là đơn vị Stretcher; w bằng 0 hoặc 1; Aa là đơn vị axit amin chứa các axit amin độc lập; r là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 100. Đơn vị Stretcher W có thể chứa thành phần tự phân hủy hoặc thành phần không tự phân hủy, đơn vị peptidyl, liên kết hydrazon, disulfua, este, oxime, amit, hoặc liên kết thioete. Đơn vị tự phân hủy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các hợp chất thơm tương tự về mặt điện tử với các nhóm para-aminobenzylcarbonyl (PAB) như dẫn xuất 2-aminoimidazol-5-metanol, chất tương tự PAB dị vòng, beta-glucuronit, và ortho hoặc para-aminobenzylaxetal. Tốt hơn, nếu thành phần nhóm liên kết tự phân hủy có một trong số các cấu trúc sau:

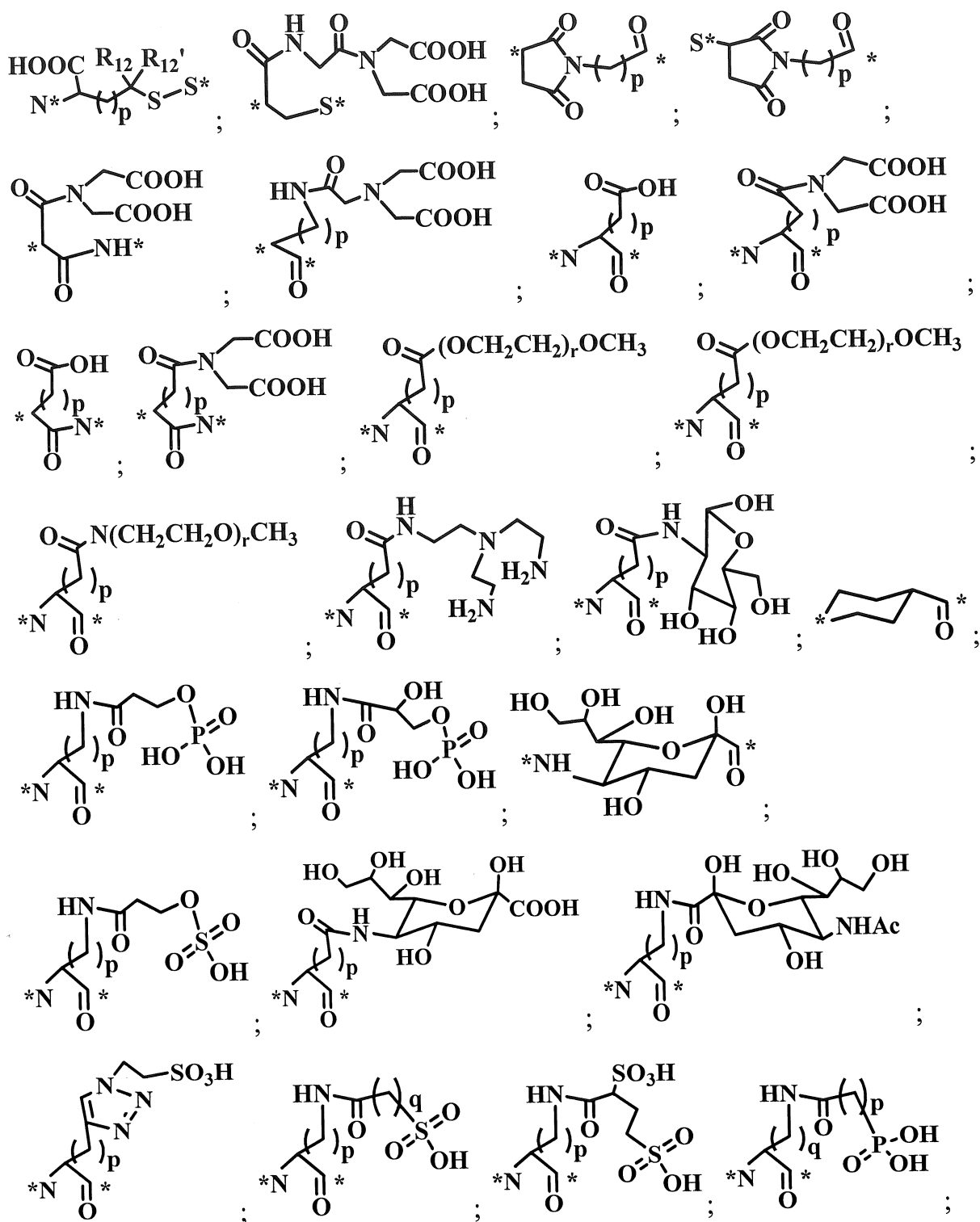


trong đó nguyên tử được đánh dấu (*) là điểm gắn kết của nhóm đệm bổ sung hoặc đơn vị của nhóm liên kết có thể giải phóng, hoặc chất gây độc tế bào, và/hoặc phân tử

gắn kết tế bào (CBA); X^1 , Y^1 , Z^2 và Z^3 độc lập là NH, O, hoặc S; Z^1 độc lập là H, NH, O hoặc S; v bằng 0 hoặc 1; Q^1 độc lập là H, OH, $C_1\sim C_6$ alkyl, $(OCH_2CH_2)_n$, F, Cl, Br, I, OR_{12} , SR_{12} , $NR_{12}R_{12}'$, $N=NR_{12}$, $N=R_{12}$, $NR_{12}R_{12}'$, NO_2 , $SOR_{12}R_{12}'$, SO_2R_{12} , SO_3R_{12} , OSO_3R_{12} , $PR_{12}R_{12}'$, $POR_{12}R_{12}'$, $PO_2R_{12}R_{12}'$, $OPO(OR_{12})(OR_{12}')$, hoặc $OCH_2PO(OR_{12})(OR_{12}')$ trong đó R_{12} và R_{12}' là như được xác định trên đây; tốt hơn là R_{12} và R_{12}' độc lập được chọn từ H, $C_1\sim C_8$ alkyl; $C_2\sim C_8$ alkenyl, alkynyl, heteroalkyl; $C_3\sim C_8$ aryl, dị vòng, vòng cacbon, xycloalkyl, heteroxycloalkyl, heteroaralkyl, alkylcarbonyl; hoặc các muối cation được dùng.

Thành phần nhóm liên kết không tự phân hủy có một trong số các cấu trúc sau:





Trong đó nguyên tử được đánh dấu (*) là điểm gắn kết của nhóm đệm bổ sung hoặc các nhóm liên kết có thể giải phóng, các chất gây độc tế bào, và/hoặc phân tử gắn kết; X^1 , Y^1 , Q^1 , R_{12} , R_{12}' đã được xác định như trên đây; r nằm trong khoảng từ 0 đến 100; p và q độc lập nằm trong khoảng từ 0 đến 6.

Nhóm đệm (T) là alkyl, alkenyl, alkynyl hoặc aryl mạch thẳng, mạch nhánh hoặc mạch vòng có từ 1 đến 10 nguyên tử cacbon, hoặc T có thể là nhóm đệm polyetylen

glycol ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$); t bằng 0, hoặc nằm trong khoảng từ 1 đến 100. T cũng có thể được đóng vòng khi thủy phân liên kết amit, các amit này bao gồm các amit axit 4-aminobutyric được thế và không được thế, hệ vòng có hai vòng [2.2.1] và hệ vòng có hai vòng [2.2.2] được thế thích hợp, và các amit axit 2-aminophenylpropionic.

Nhóm liên kết L cũng có thể được chọn từ nhóm bao gồm: R_{12} , OR_{12} , OR_{12}O , NHR_{12} , NHR_{12}NH , $\text{NR}_{11}\text{R}_{12}$, SR_{12}S , OR_{12}NH , OR_{12}Ar , NHR_{12}Ar , $\text{NR}_{11}\text{R}_{12}\text{NR}_{12}'\text{R}_{12}''$, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p$, $(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{Aa})_r(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$, $-(\text{Aa})_r$, $(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t(\text{Aa})_r$, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{CH}=\text{CH})(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{Aa})_r(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{NR}_{12}\text{CO})(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{Aa})_t(\text{NHCO})(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r$, $(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{OCO})(\text{Aa})_r$, $(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{OCNR}_7)(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{CO})(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{NR}_{11}\text{CO})(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{OCO})(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{OCNR}_7)(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{CO})(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p$ -phenyl-CO-(Aa)_r(CR₁₂'R₁₂'')_q, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p$ -furyl-CO-(Aa)_t(CR₁₂'R₁₂'')_q, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p$ -oxazolyl-CO-(Aa)_r(CR₁₂'R₁₂'')_q, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p$ -thiazolyl-CO-(Aa)_r(CR₁₂'R₁₂'')_q, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p$ -thienyl-CO-(CR₁₂'R₁₂'')_q, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p$ -imidazolyl-CO-(CR₁₂'R₁₂'')_q, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p$ -morpholino-CO-(Aa)_r(CR₁₂'R₁₂'')_q, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p$ -piperazino-CO-(Aa)_r(CR₁₂'R₁₂'')_q, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p$ -N-metyl-piperazin-CO-(Aa)_r(CR₁₂'R₁₂'')_q, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{Aa})_r$ -phenyl-, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{Aa})_r$ -furyl-, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p$ -oxazolyl(Aa)_r, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p$ -thiazolyl-(Aa)_r, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p$ -thienyl-(Aa)_t, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p$ -imidazolyl(Aa)_r, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p$ -morpholino-(Aa)_r, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p$ -piperazino-(Aa)_r, $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p$ -N-metyl-piperazino-(Aa)_r, $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$, $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{Aa})_r(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$, $-\text{K}(\text{Aa})_r(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$, $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r(\text{Aa})_t$, $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{CR}_7=\text{CR}_8)(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{Aa})_r(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$, $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{NR}_7\text{CO})(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$, $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{Aa})_t(\text{NR}_7\text{CO})(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$, $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{OCO})(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$.

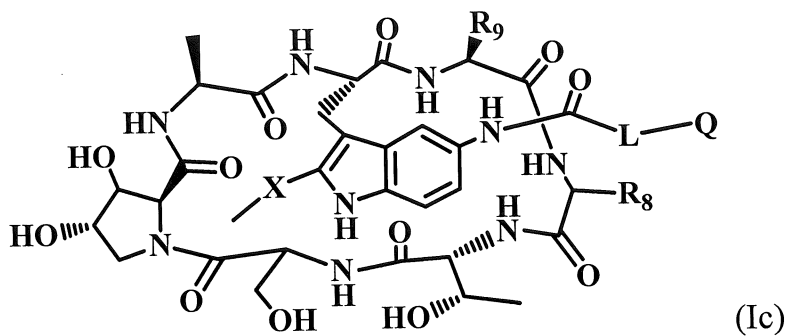
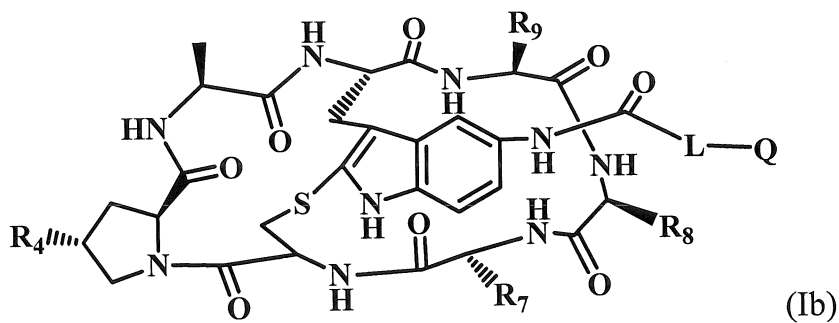
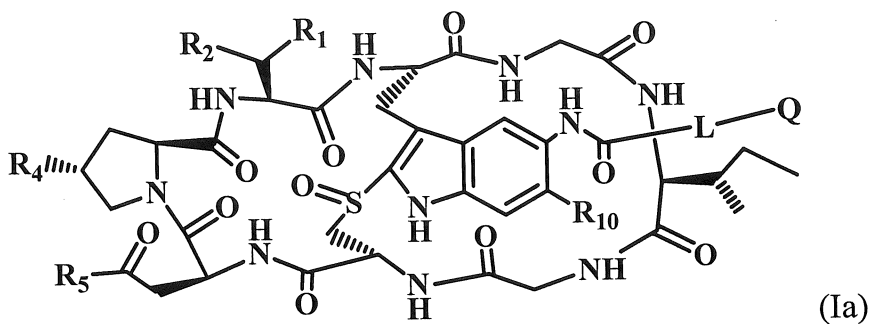
, -K(CR₁₁R₁₂)_p(OCNR₇)(Aa)_r(CR₁₂'R₁₂'')_q(OCH₂CH₂)_t.
 , -K(CR₁₁R₁₂)_p(CO)(Aa)_r(CR₁₂'R₁₂'')_q-(OCH₂CH₂)_t, -K(-
 CR₁₁R₁₂)_p(NR₁₁CO)(Aa)_r(CR₁₂'R₁₂'')_q(OCH₂CH₂)_t, -K(CR₁₁R₁₂)_p(OCO)-
 (Aa)_r(CR₁₂'R₁₂'')_q(OCH₂CH₂)_t, -K(CR₁₁R₁₂)_p(OCNR₇)(Aa)_r(CR₁₂'R₁₂'')_q(OCH₂CH₂)_t,
 -K(CR₁₁R₁₂)_p(CO)(Aa)_r(CR₁₂'R₁₂'')_q(OCH₂CH₂)_rQ, -K(CR₁₁R₁₂)_p-phenyl-CO-
 (Aa)_r(CR₁₂'R₁₂'')_q-, -K(CR₁₁R₁₂)_p-furyl-CO(Aa)_t(CR₁₂'R₁₂'')_q-, -K(CR₁₁R₁₂)_p-
 oxazolyl-CO(Aa)_r(CR₁₂'R₁₂'')_q-, -K(CR₁₁R₁₂)_p-thiazolyl-CO(Aa)_r.
 (CR₁₂'R₁₂'')_q-, -K(CR₁₁R₁₂)_p-thienyl-CO(CR₁₂'R₁₂'')_q-, -K(CR₁₁R₁₂)_p-imidazolyl-CO-
 (CR₁₂'R₁₂'')_q-, -K(CR₁₁R₁₂)_p-morpholino-CO(Aa)_t(CR₁₂'R₁₂'')_q-, -K(CR₁₁R₁₂)_p-
 piperazino-CO-(Aa)_r(CR₁₂'R₁₂'')_q-, -K(CR₁₁R₁₂)_p-N-methylpiperazin-CO(Aa)_r-
 (CR₁₂'R₁₂'')_q-, -K(CR₁₁R₁₂)_p-(Aa)_r-phenyl-, -K(CR₁₁R₁₂)_m-(Aa)_r-furyl-, -K(CR₁₁R₁₂)_p-
 oxazolyl(Aa)_r-, -K(CR₁₁R₁₂)_m-thiazolyl-(Aa)_r-, -K(CR₁₁R₁₂)_p-thienyl-
 (Aa)_r-, -K(CR₁₁R₁₂)_p-imidazolyl(Aa)_r-, -K((CR₁₁R₁₂)_m-
 morpholino-(Aa)_r-, -K(CR₁₁R₁₂)_p-piperazino-(Aa)_t-, -K(CR₁₁R₁₂)_m-N-
 methylpiperazino-(Aa)_r.

Trong đó Aa, r, n, p, q, t, R₇, R₁₁, R₁₂, R₁₂', R₁₂'' là như được xác định trên đây.
 K là NR₁₂, O, S, Se, B, C₃~C₁₀ của Ar hoặc dị vòng.

Q là phân tử gắn kết tế bào (CBA), hoặc nhóm chức có khả năng liên kết với chất gắn kết tế bào, hoặc nhóm chức có khả năng liên kết với nhóm liên kết được gắn trên chất gắn kết tế bào. Nhóm chức này được chọn từ thiol, amin, hydrazin, alkoxyamino, nhóm thể disulfua, maleimido, nhóm haloaxetyl, axit carboxy, este N-hydroxy succinimit, keton, este, aldehyt, alkynyl, alkenyl, hoặc nhóm thiol hoặc disulfua được bảo vệ, như SAc, SSR₁ hoặc SSAr. Ar là nhóm thơm hoặc nhóm dị thơm.

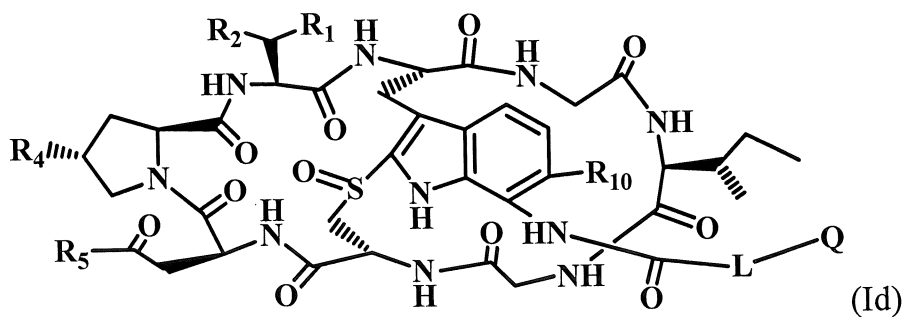
Các hợp chất có công thức chung (I) là chất đồng phân dị hình và chất đồng phân lập thể cũng là một phần của sáng chế.

Theo một số phương án, dẫn xuất độc tố của nấm Amanita được thể hiện bằng các công thức (Ia) (Ib), và (Ic) sau, trong đó nhóm liên kết amit được liên kết với vị trí C-5 của đơn vị indol.



Trong đó “----”, “~~~~”, R_1 , R_2 , R_4 , R_5 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} , L và Q được xác định giống như trong công thức (I).

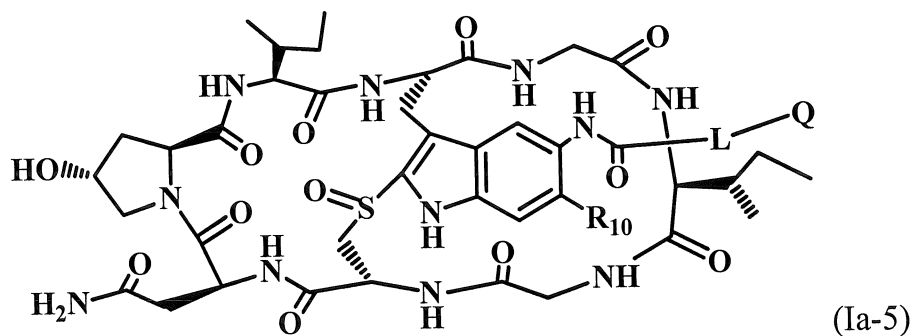
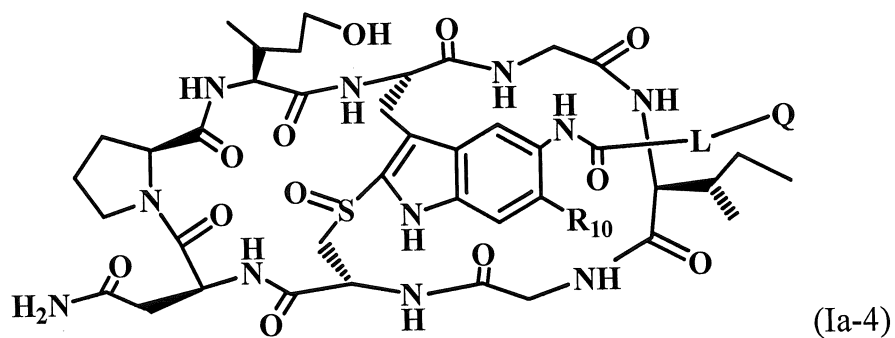
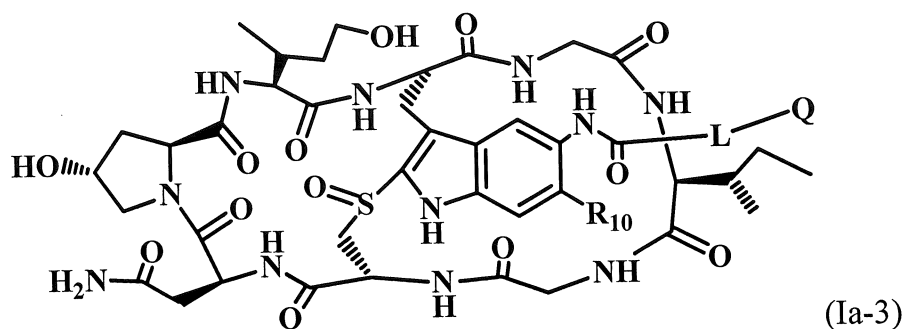
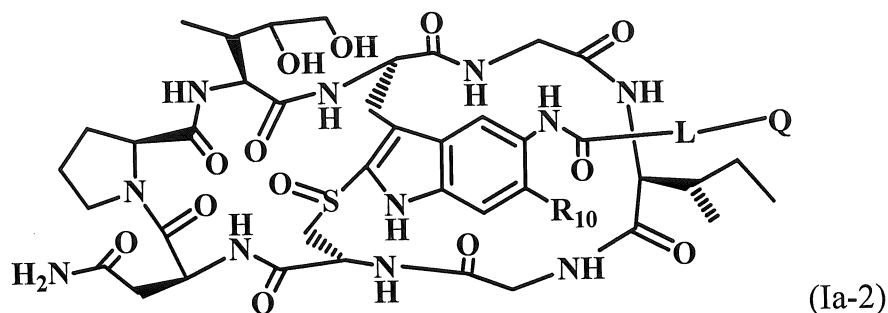
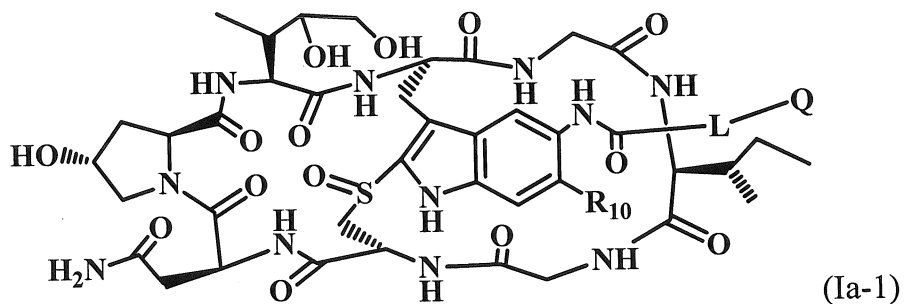
Theo một số phương án, dẫn xuất độc tố của nấm Amanita được thể hiện bằng công thức (Id) sau, trong đó nhóm liên kết amit được liên kết với vị trí C-7 của đơn vị indol.

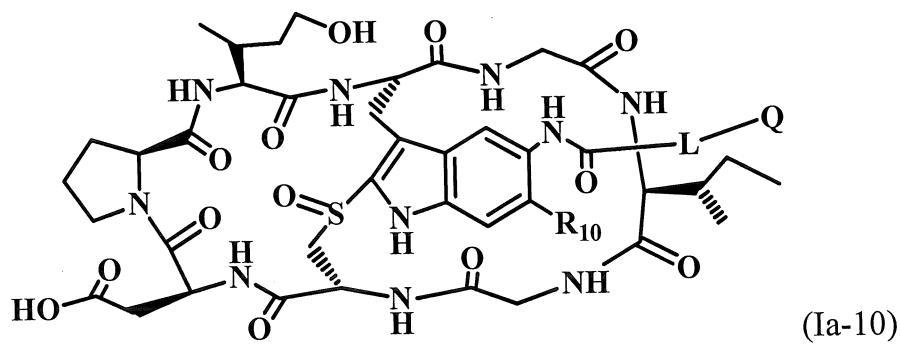
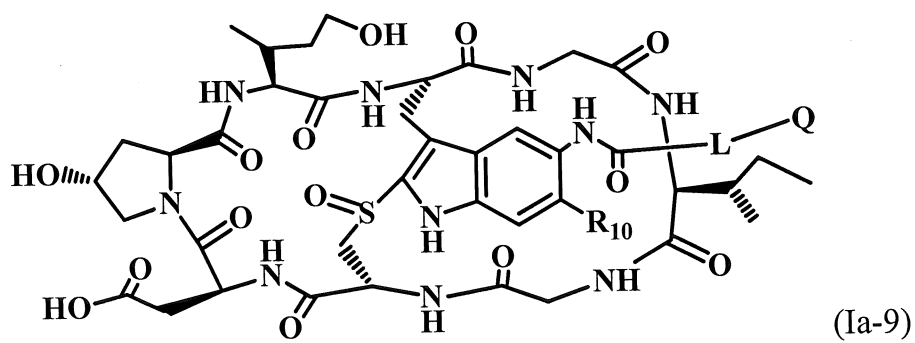
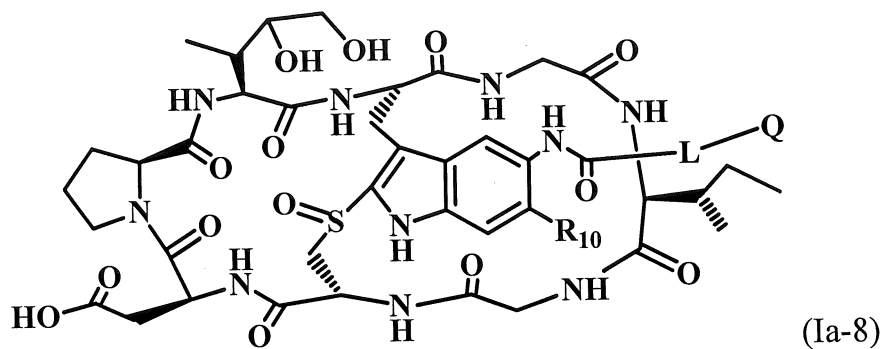
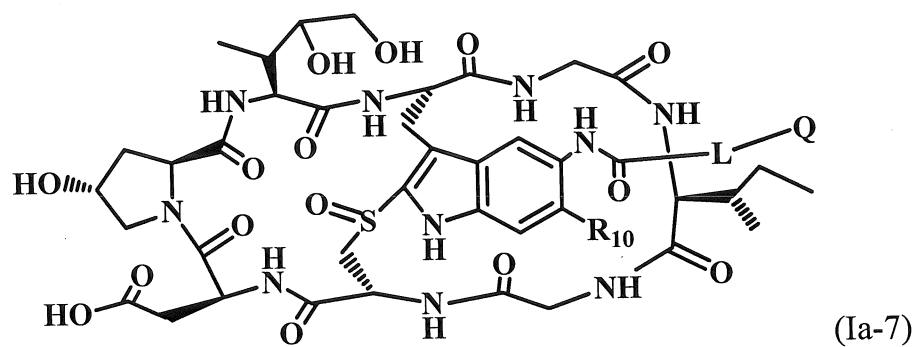
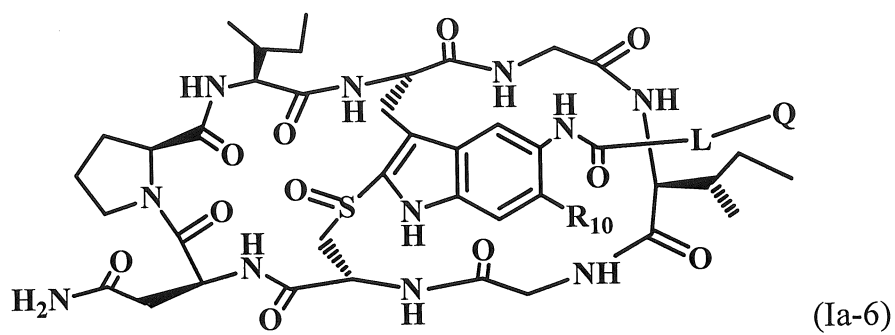


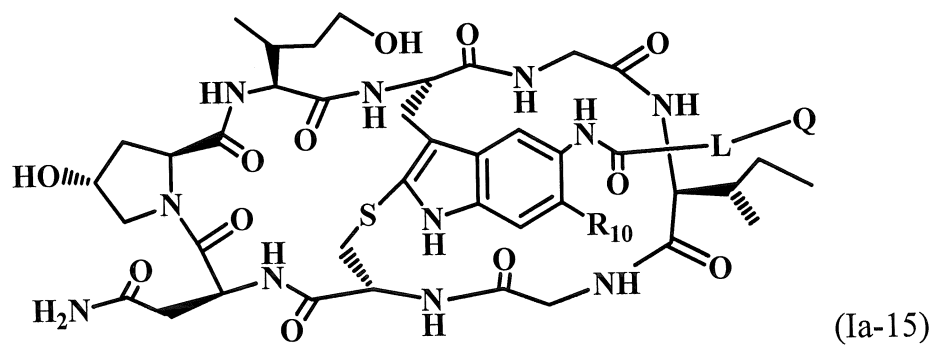
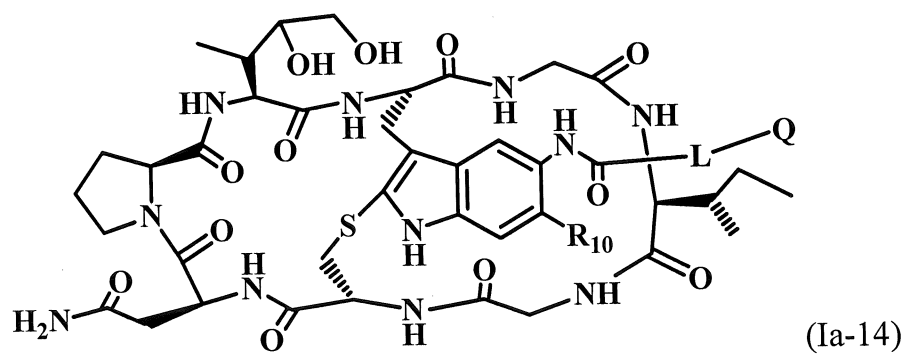
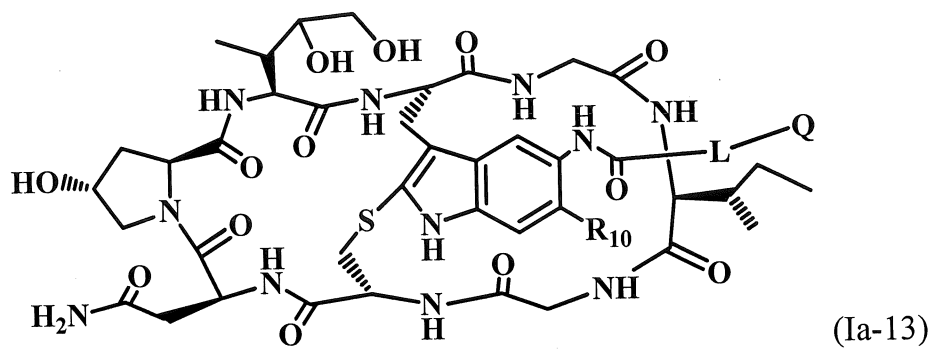
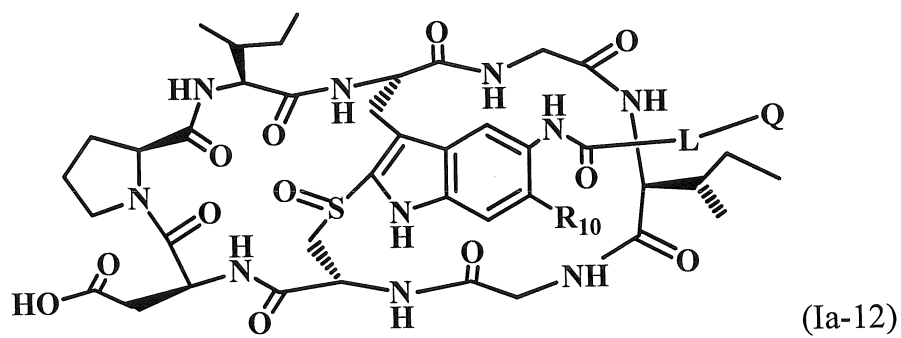
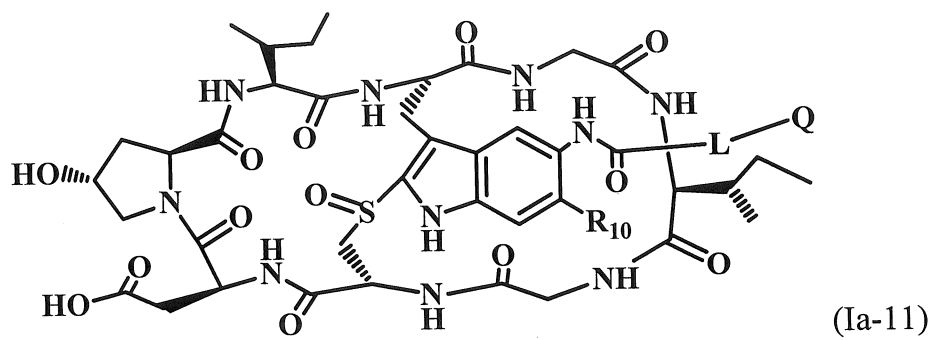
Trong đó R_1 , R_2 , R_4 , R_5 , R_{10} , L và Q được xác định giống như trong công thức (I).

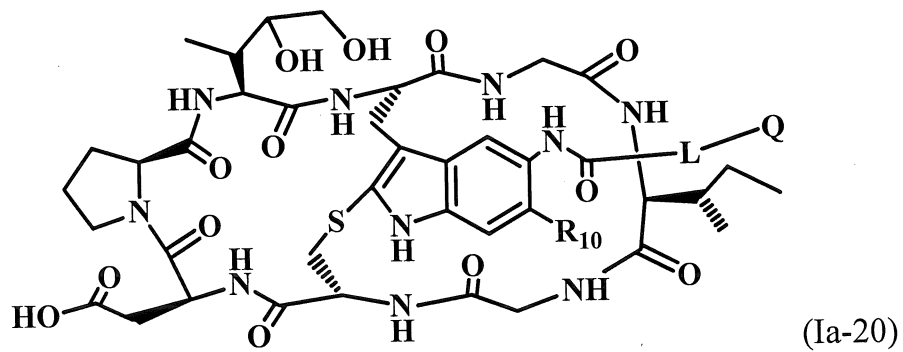
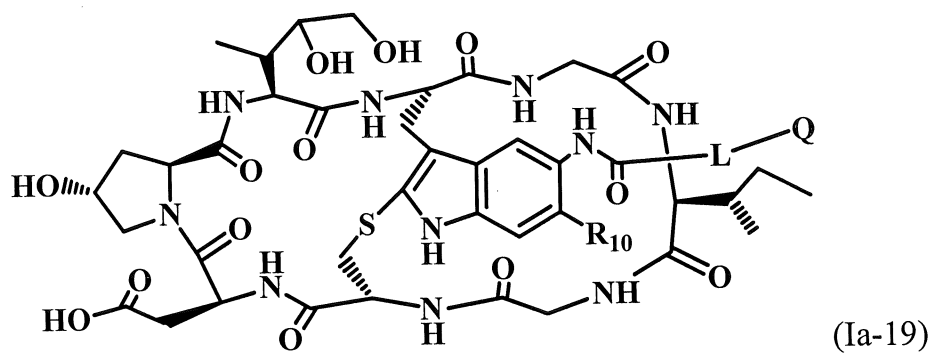
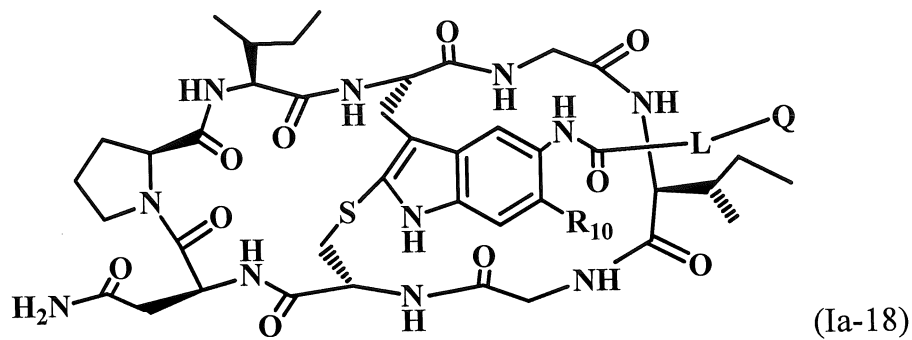
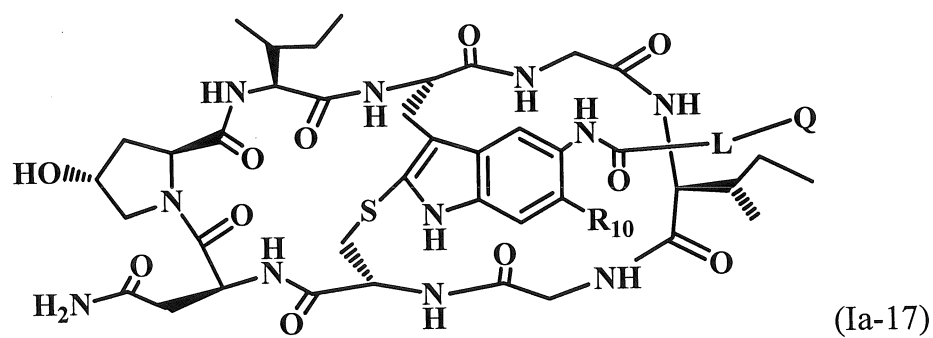
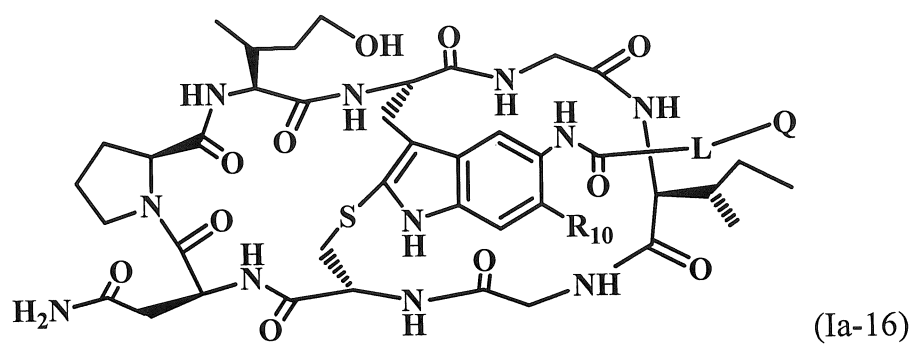
Theo một số phương án, dẫn xuất độc tố của nấm Amanita có công thức (Ia), (Ib), và (Ic) được thể hiện bằng các công thức (Ia-1), (Ia-2), (Ia-3), (Ia-4), (Ia-5), (Ia-

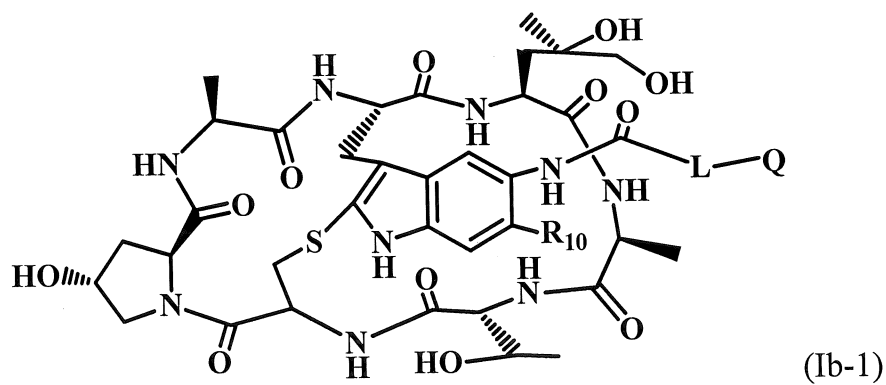
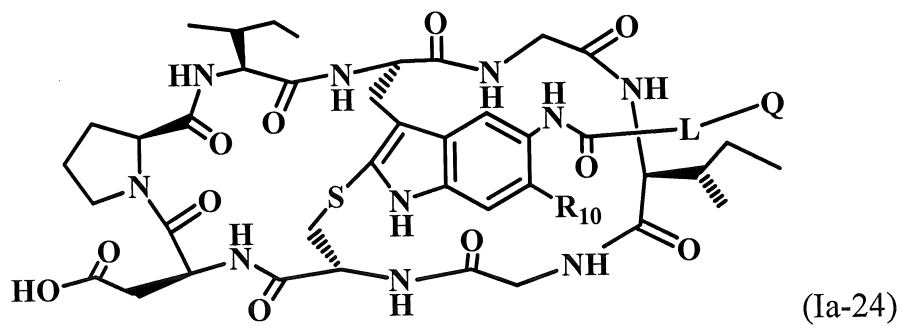
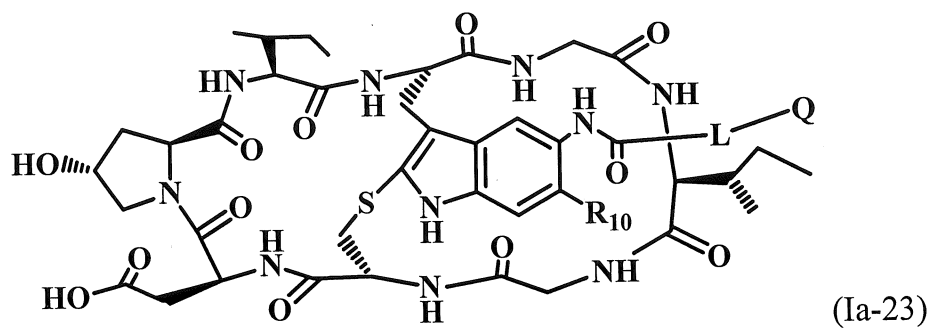
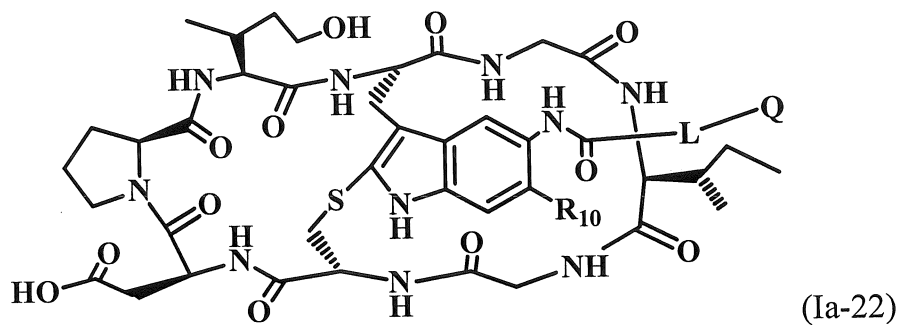
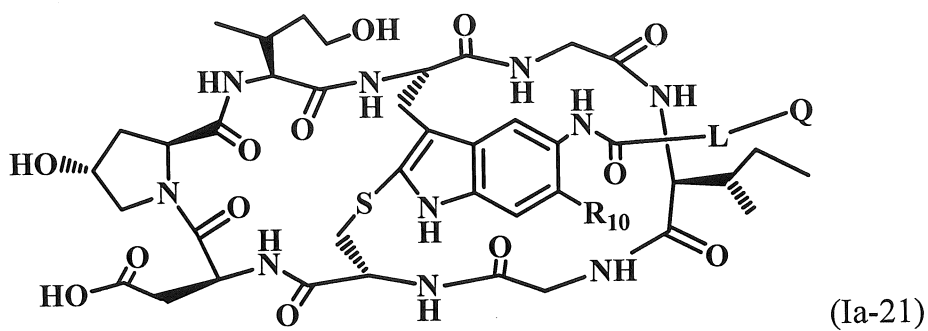
6), (Ia-7), (Ia-8), (Ia-9), (Ia-10), (Ia-11), (Ia-12), (Ia-13), (Ia-14), (Ia-15), (Ia-16), (Ia-17), (Ia-18), (Ia-19), (Ia-20), (Ia-21), (Ia-22), (Ia-23), (Ia-24), (Ib-1), (Ib-2), (Ib-3), (Ib-4), (Ib-5), (Ib-6), (Ib-7), (Ic-1), (Ic-2), (Ic-3), (Ic-4), (Ic-5), và (Ic-6) sau đây:

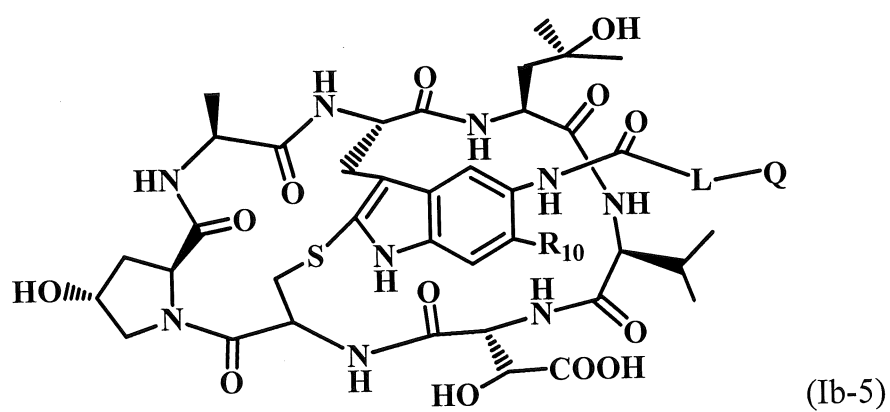
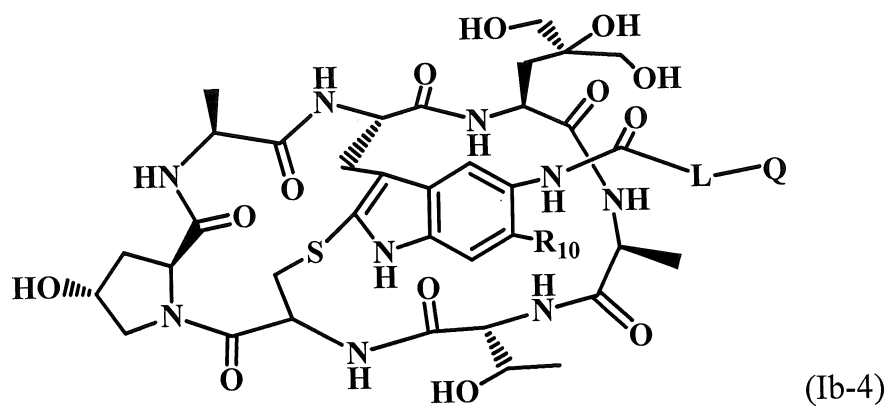
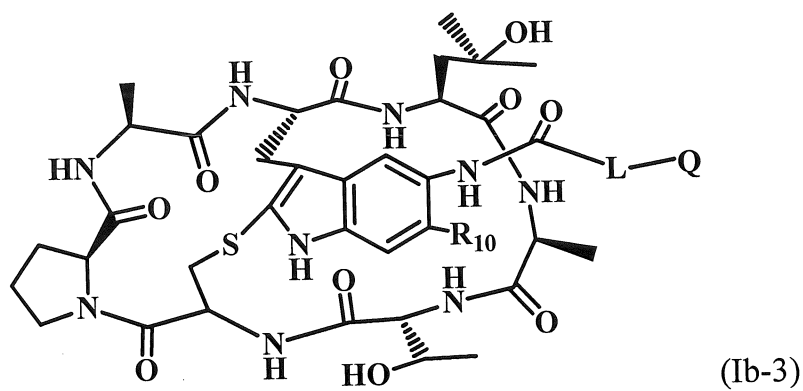
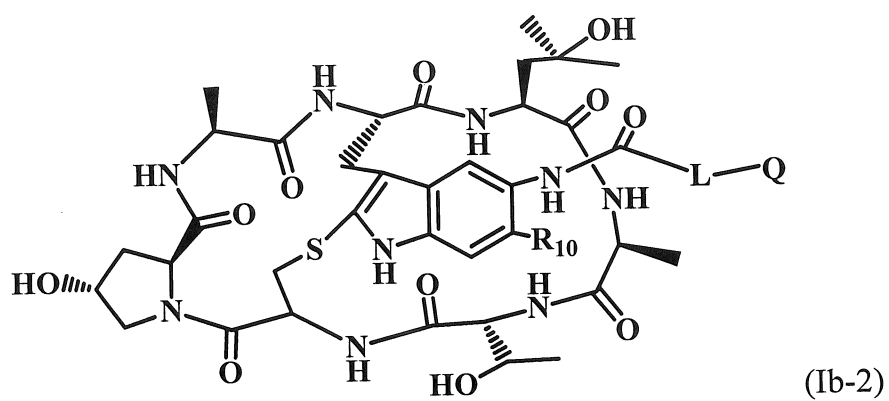


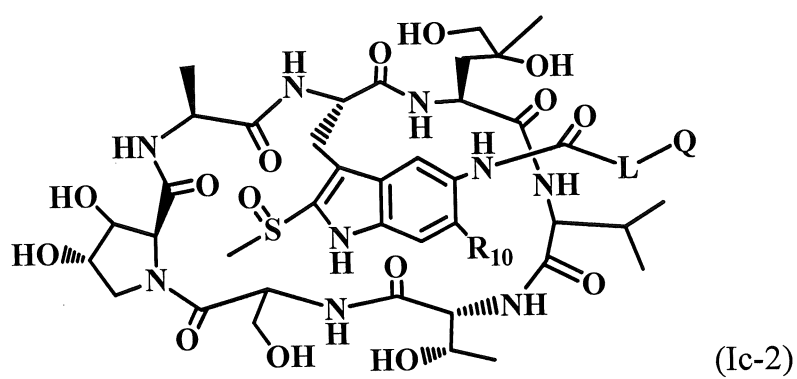
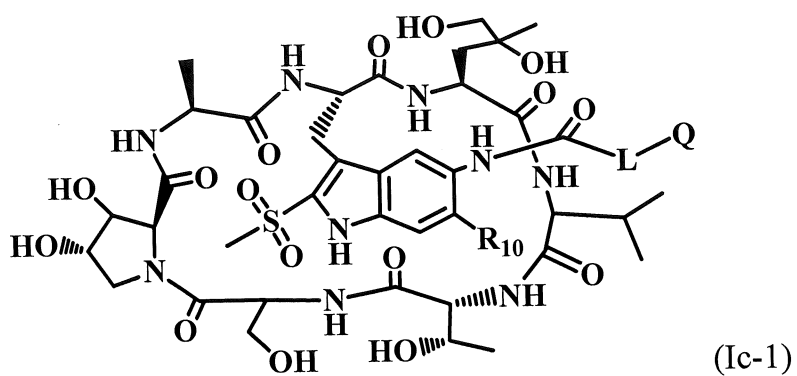
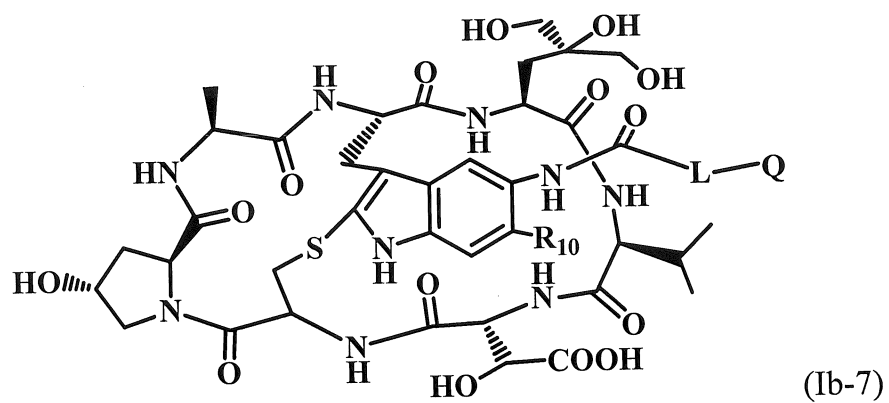
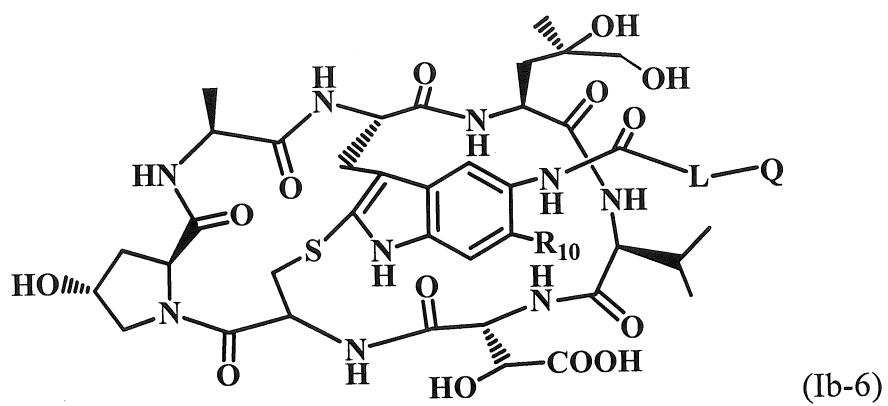


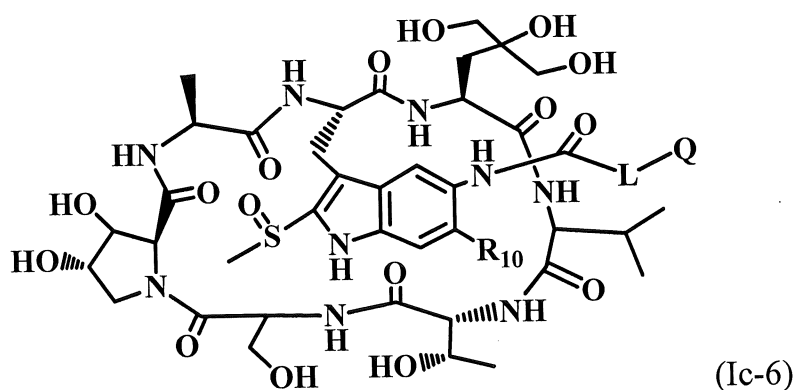
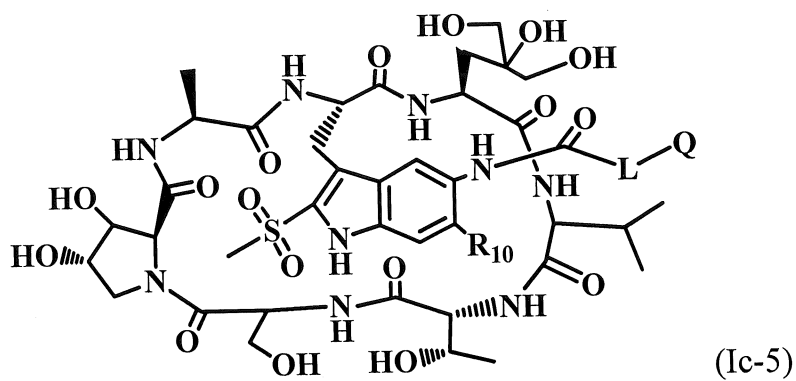
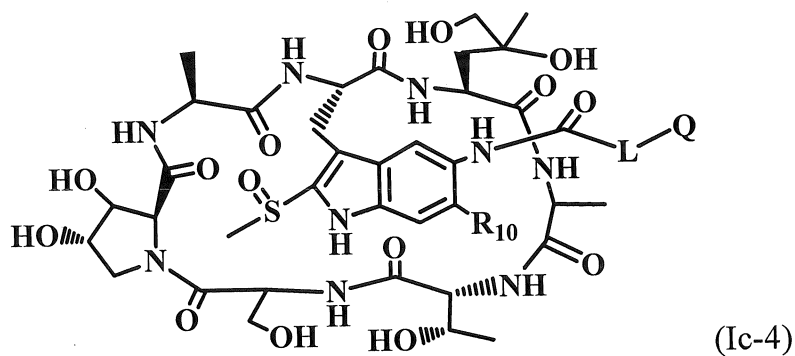
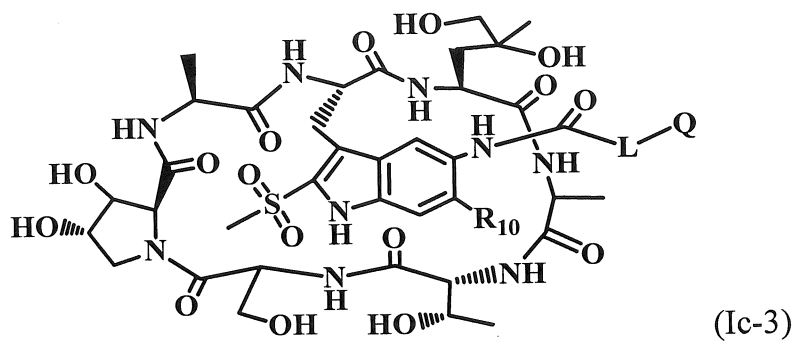






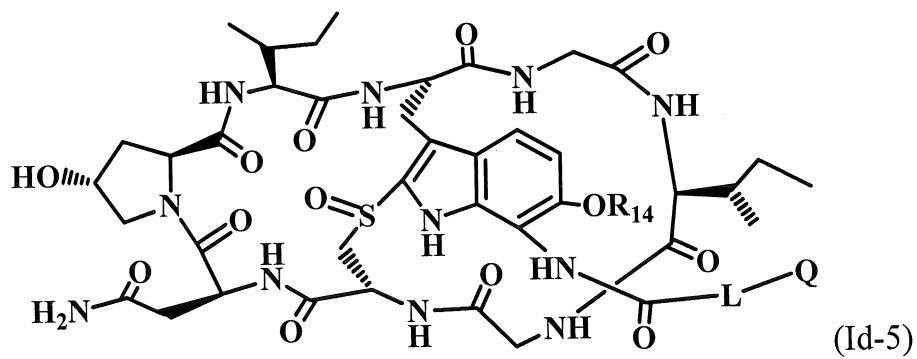
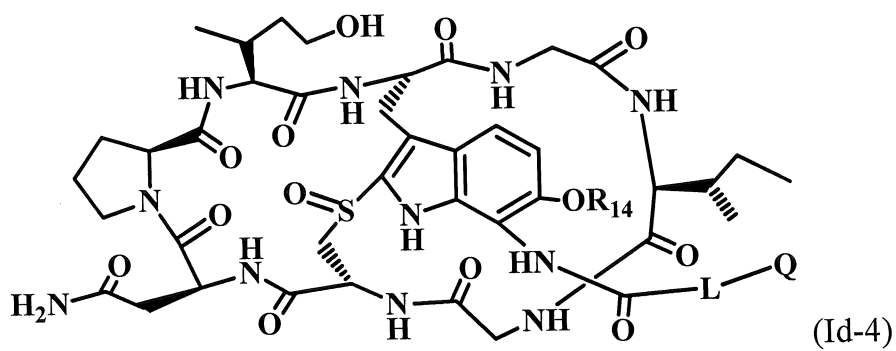
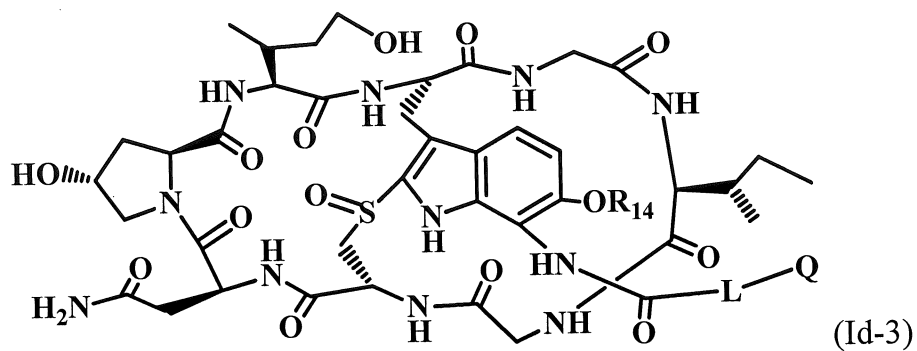
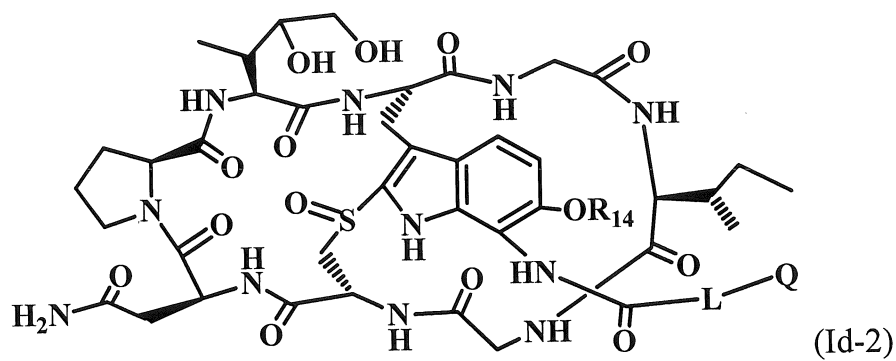
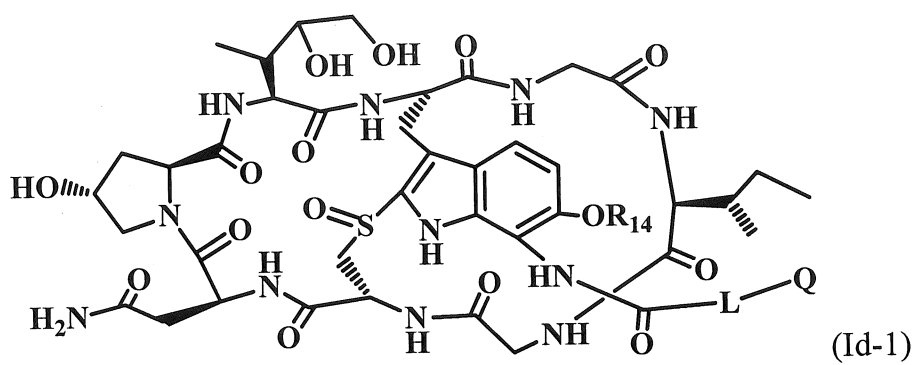


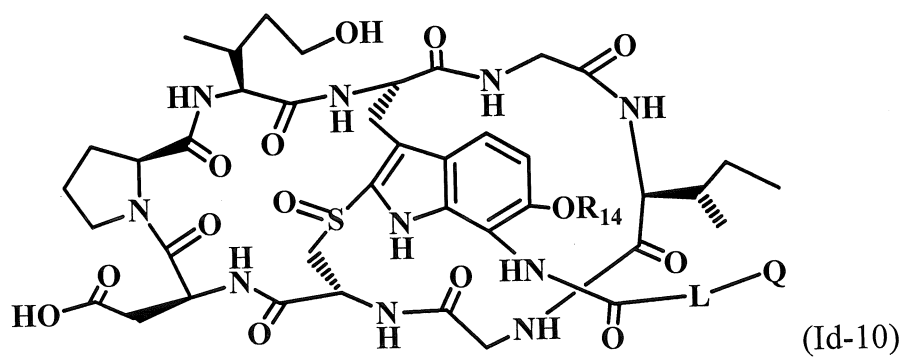
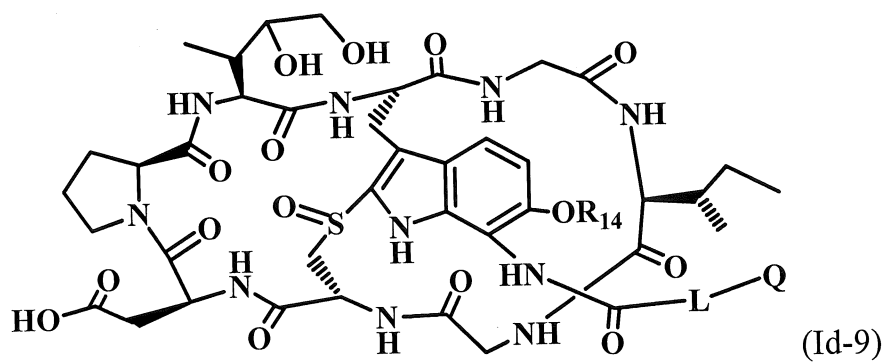
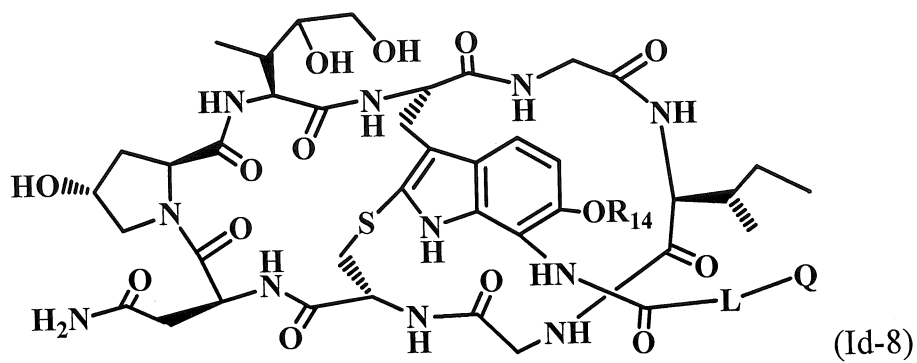
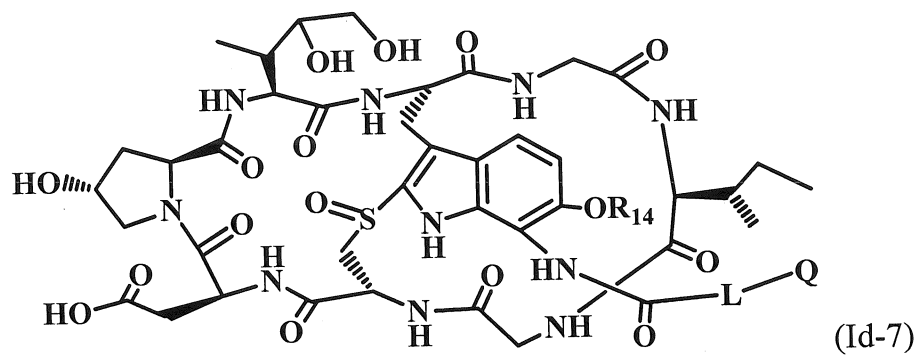
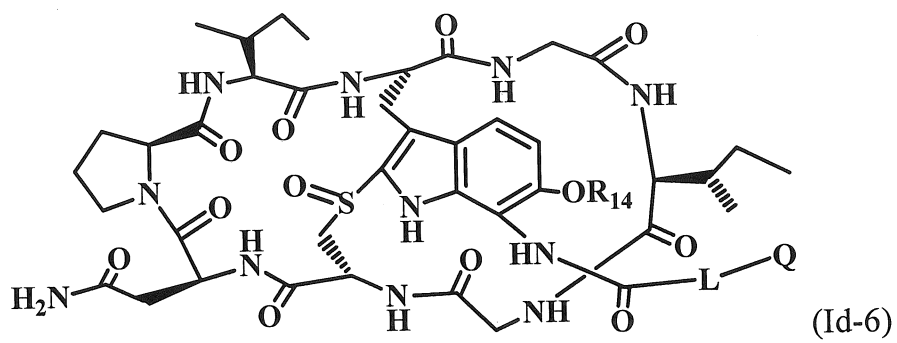


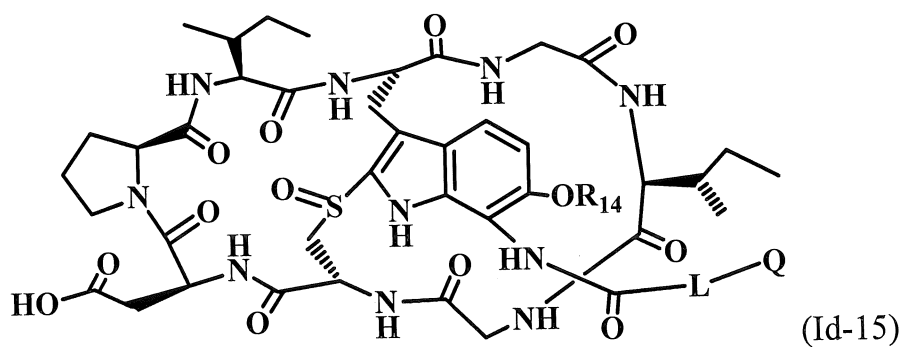
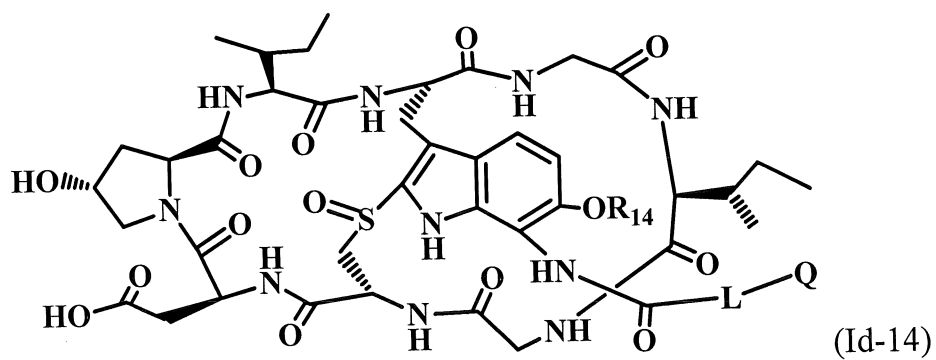
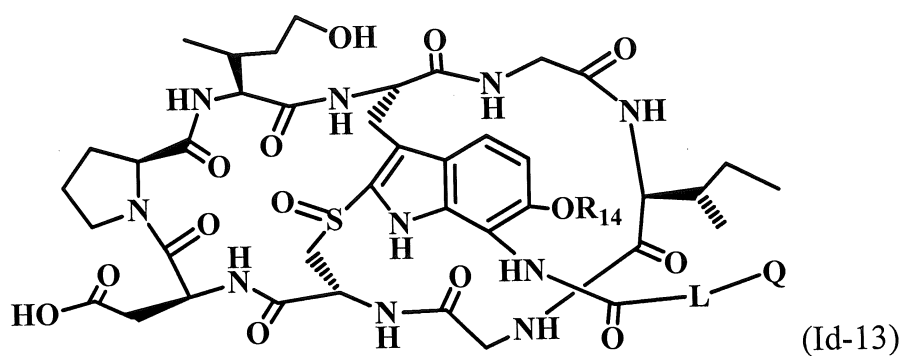
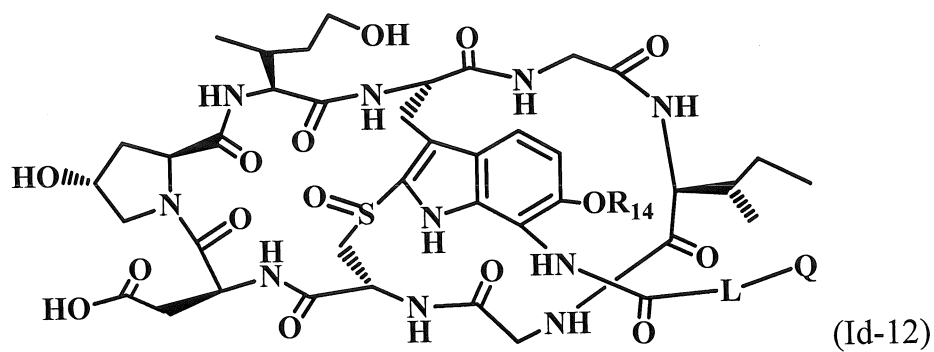
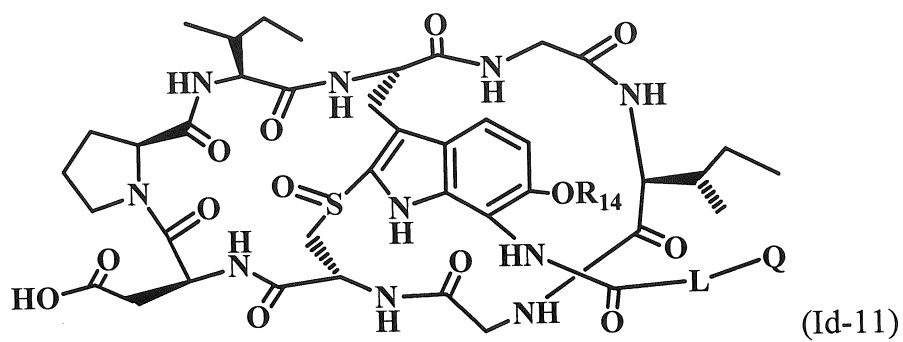


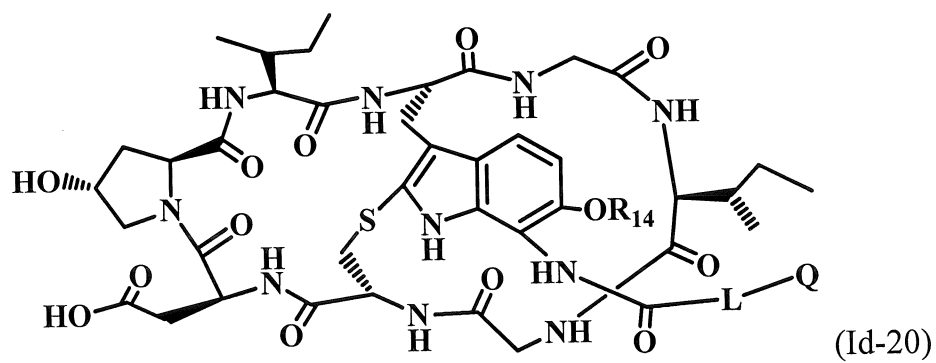
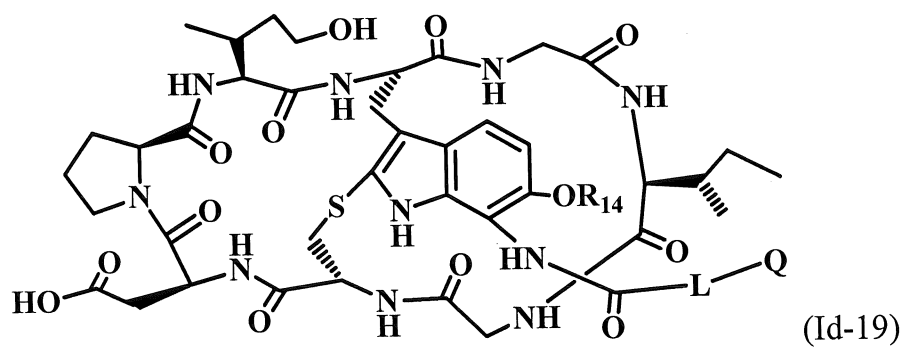
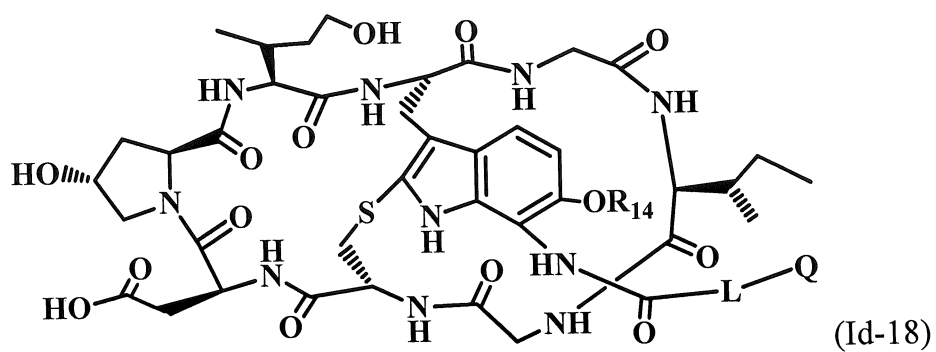
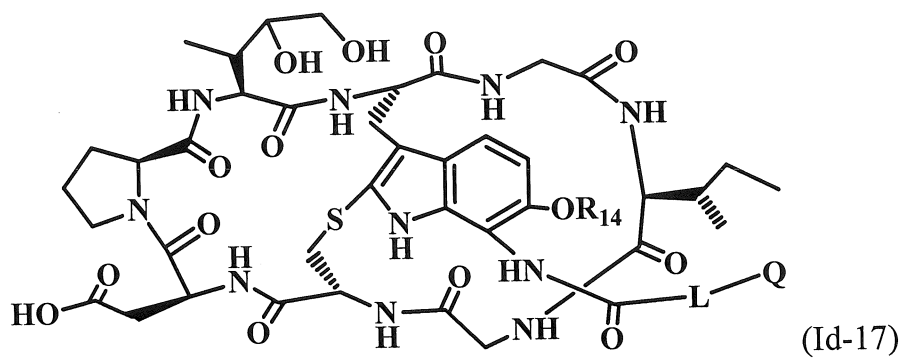
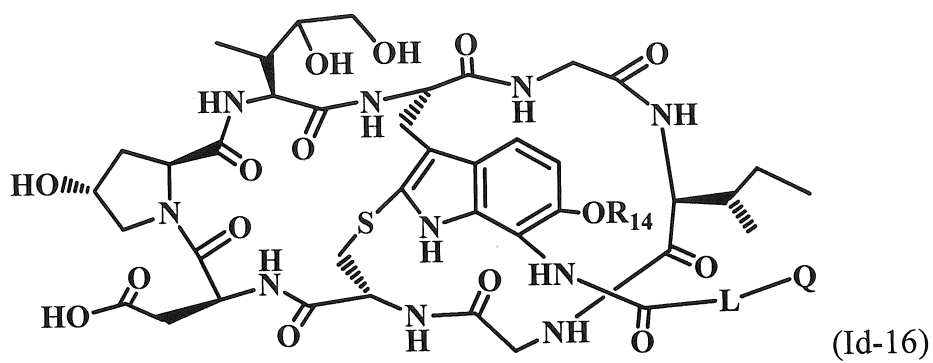
Trong đó R_{10} , L và Q được xác định giống như trong công thức (I).

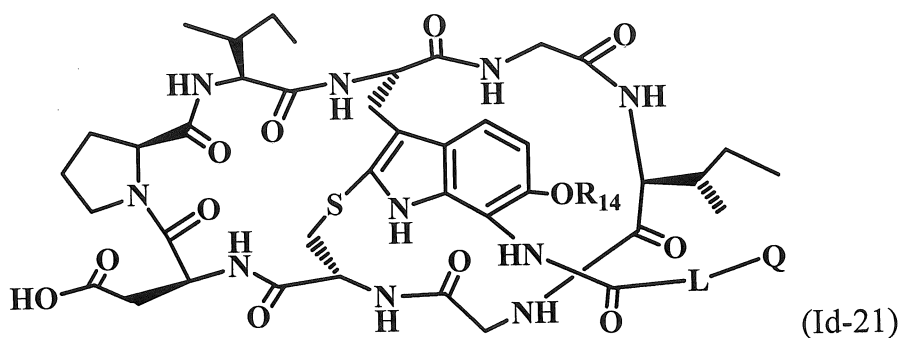
Theo một số phương án, dẫn xuất độc tố của nấm Amanita có công thức (Id) được thể hiện bằng các công thức (Id-1), (Id-2), (Id-3), (Id-4), (Id-5), (Id-6), (Id-7), (Id-8), (Id-9), (Id-10), (Id-11), (Id-12), (Id-13), (Id-14), (Id-15), (Id-16), (Id-17), (Id-18), (Id-19), (Id-20), và (Id-21) sau đây:





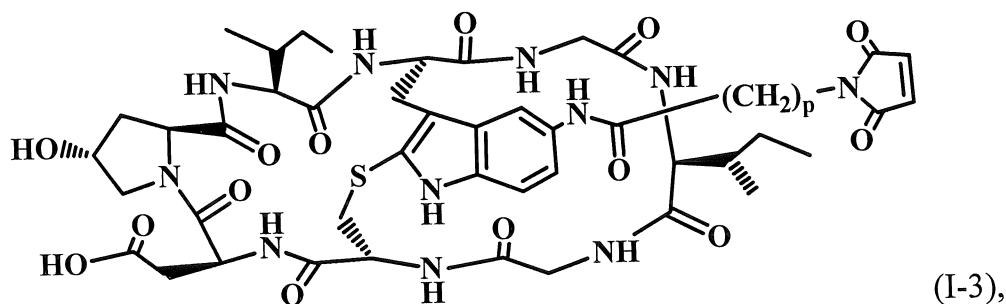
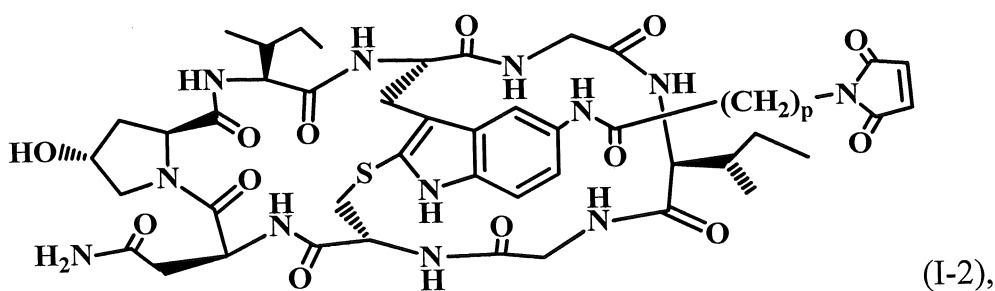
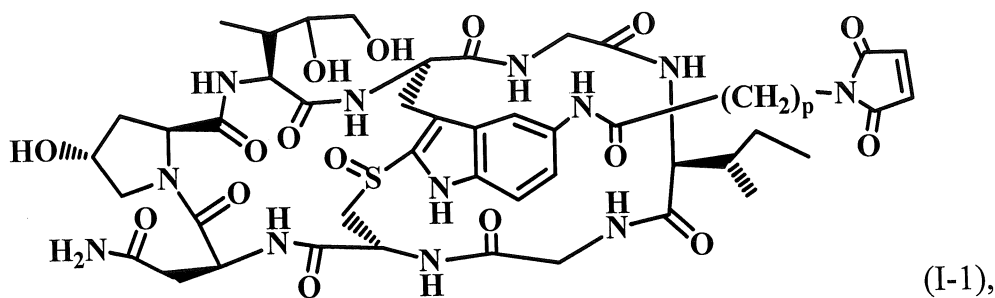


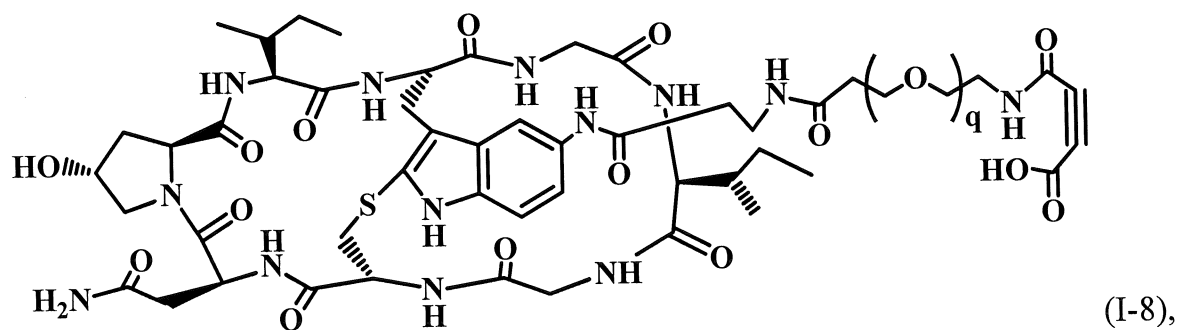
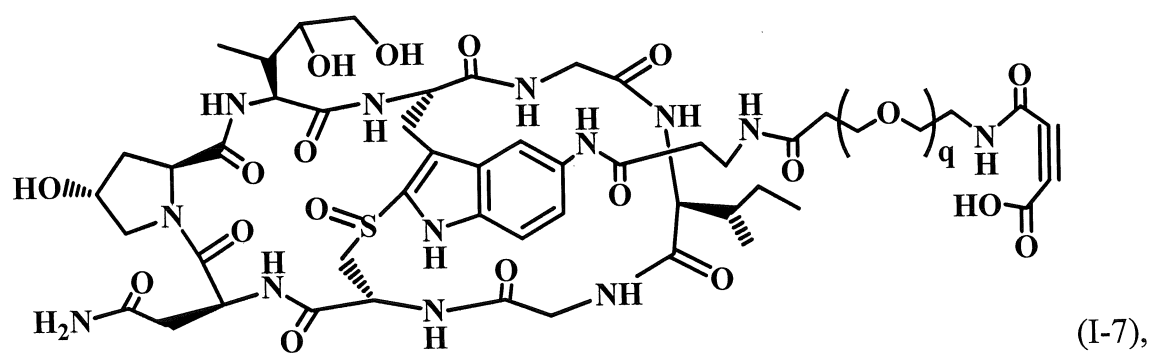
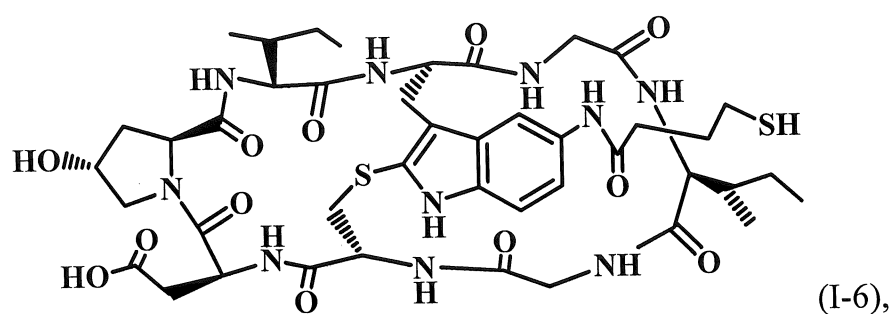
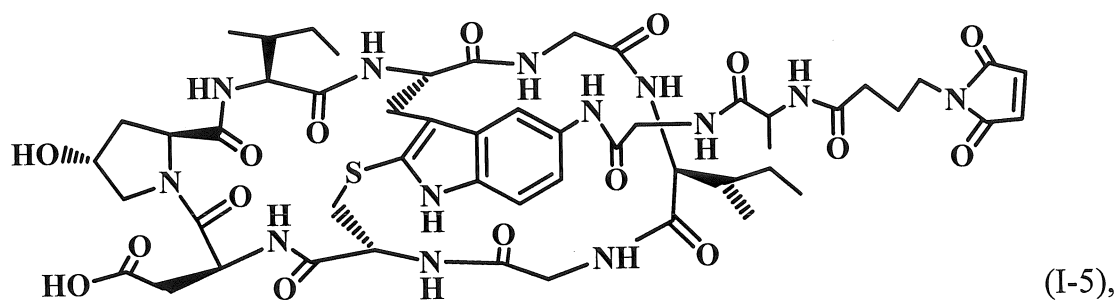
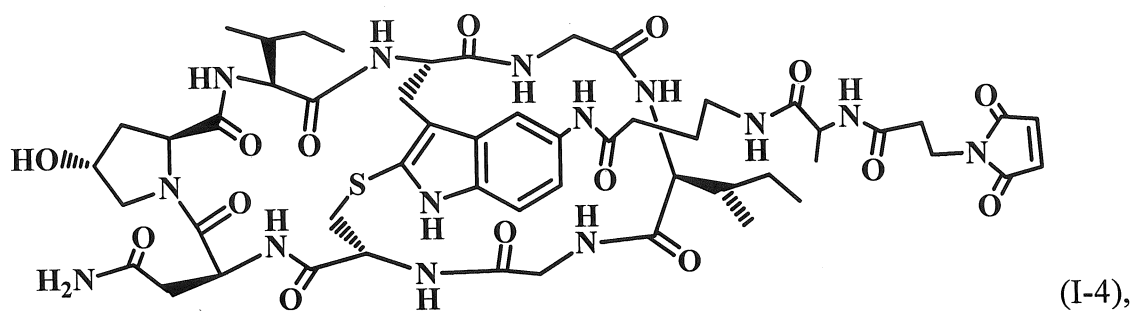


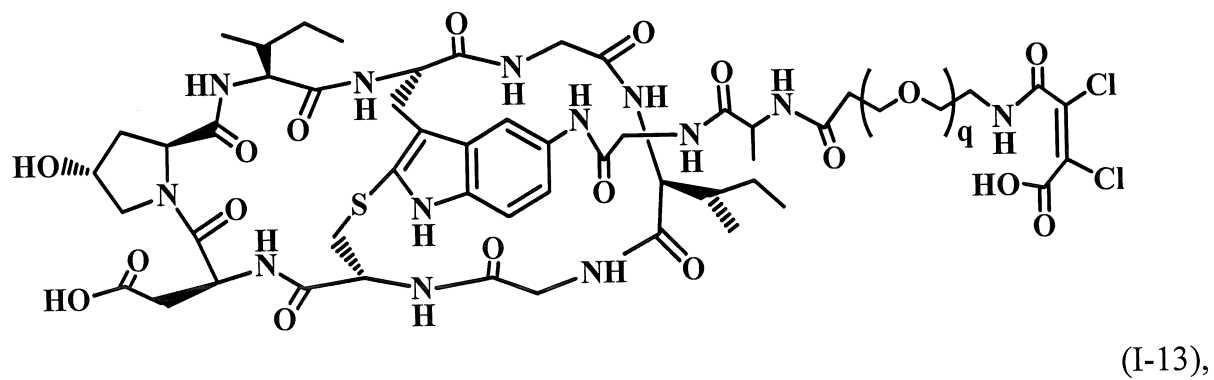
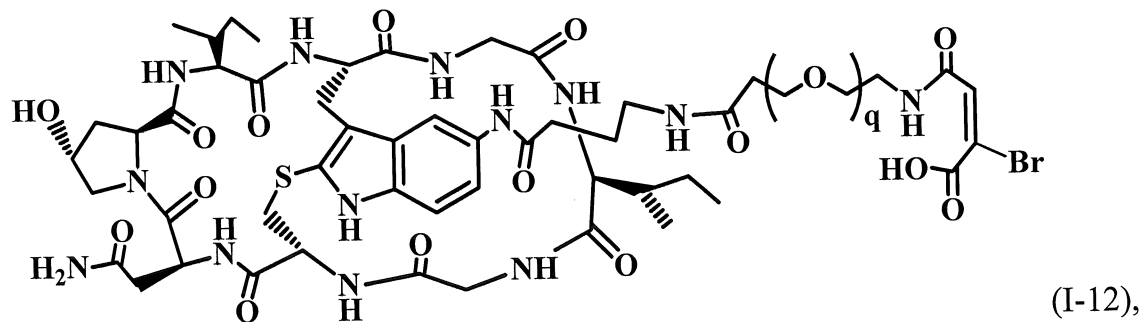
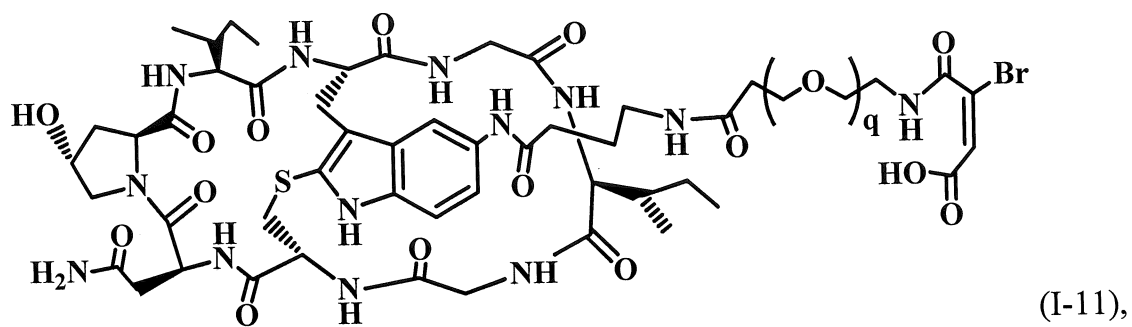
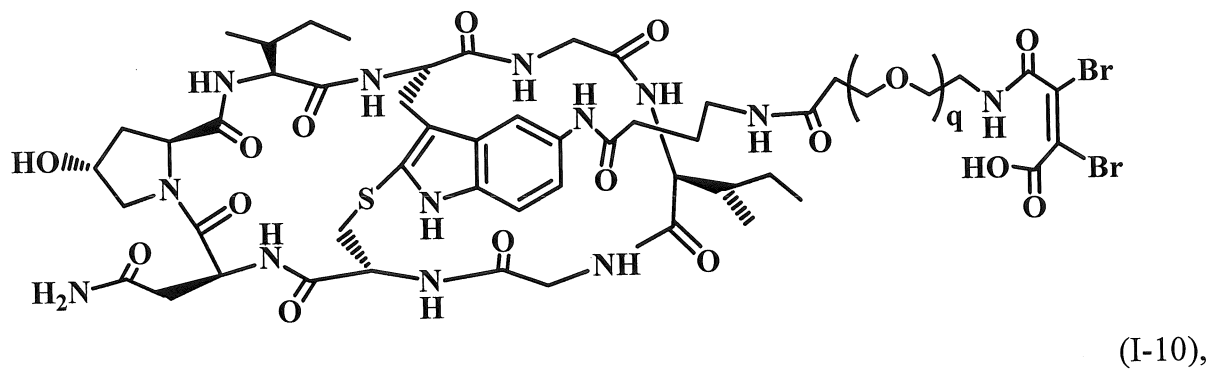
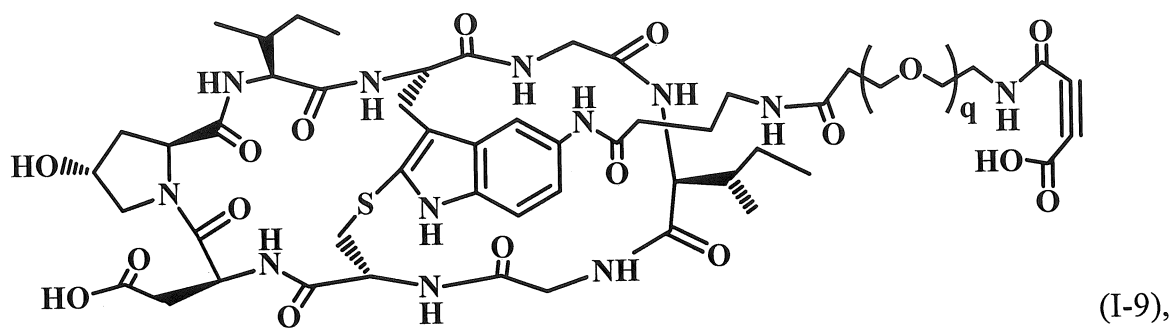


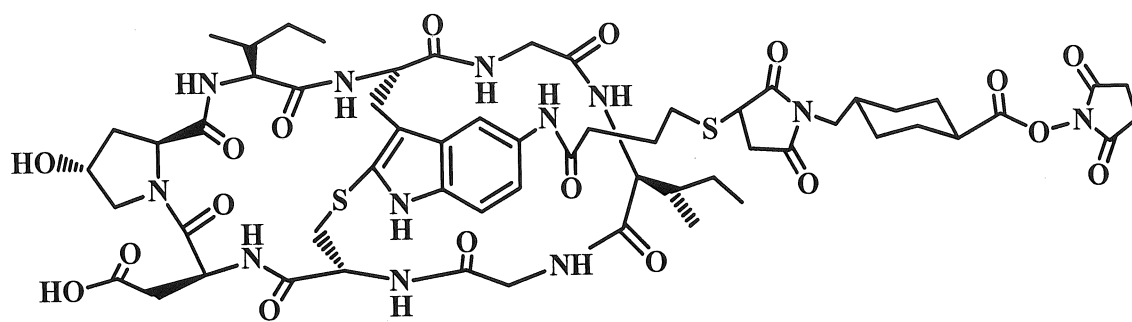
Trong đó R_{14} là H, PO_3^{2-} , SO_3^- , R_{12} , $-COR_{12}$, $-COCH_3$, $-COOR_{12}$, $-CONR_{12}R_{12}'$, $-C(=O)R_{12}NH(Aa)_t$, (axit amin hoặc peptit, trong đó Aa là axit amin hoặc polypeptit, t nằm trong khoảng từ 0 đến 100); $-CSNHR_{12}$ (thiocarbamat); $-SOR_{12}$ (sulfoxit); $-SO_2R_{12}$ (sulfon); $-SO_3^-$, HSO_3 , HSO_2 , hoặc muối của HSO_3^- , SO_3^{2-} hoặc $-HSO_2^-$ (sulphit); $P(O)(OM_1)(OM_2)$, $CH_2OP(O)(OM_1)(OM_2)$, SO_3M_1 ; glycosit (glucosit, galactosit, manosit, glucuronosit, alosit, fructosit, v.v), M_1 và M_2 độc lập là H, Na, K, Ca, Mg, NH_4 , $NR_1'R_2'R_3'$; R_1' , R_2' và R_3' độc lập là H, $C_1 \sim C_8$ alkyl.

Theo các phương án khác, chất gây độc tế bào và thể liên hợp của nó theo sáng chế này có cấu trúc được ưu tiên trong số các cấu trúc sau đây:

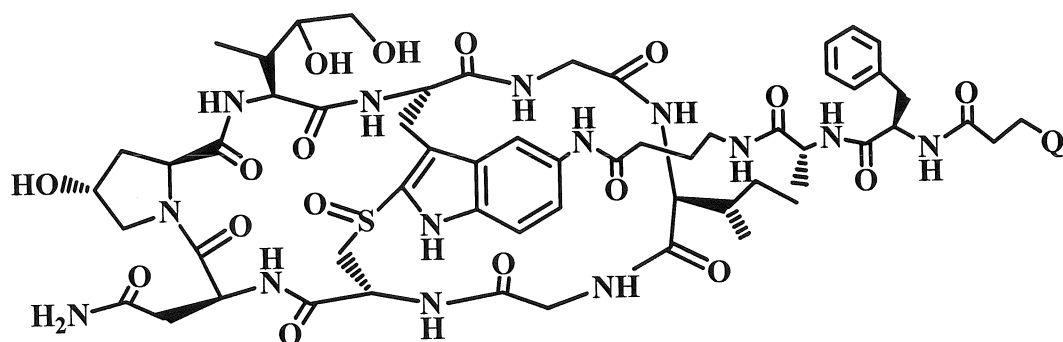




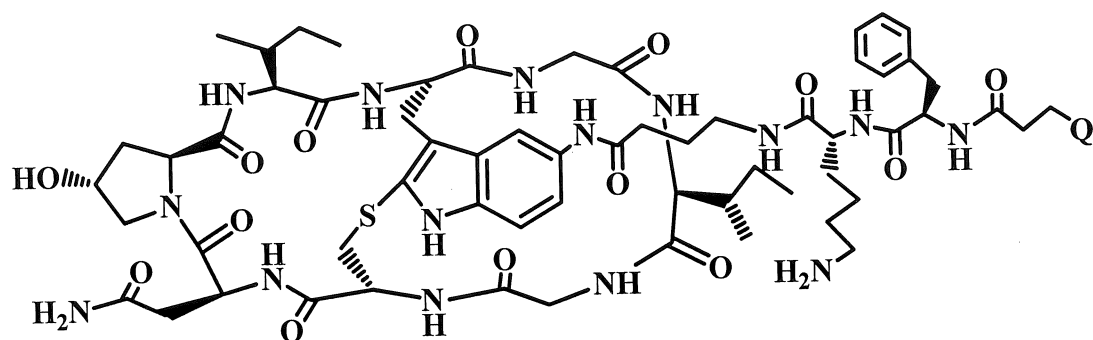




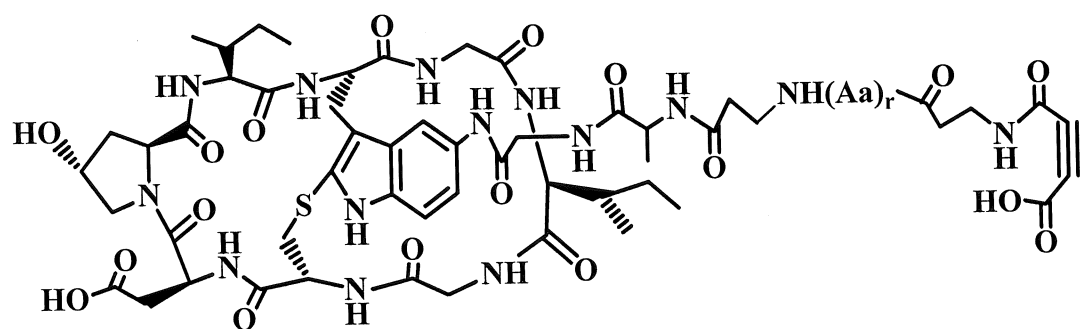
(I-14),



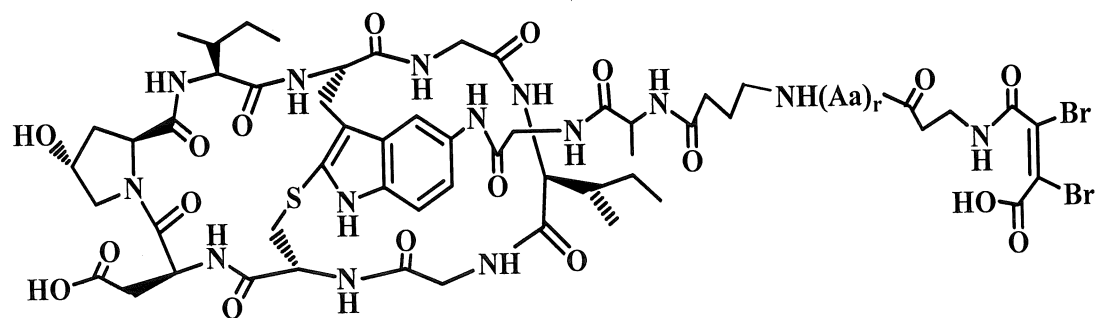
(I-15),



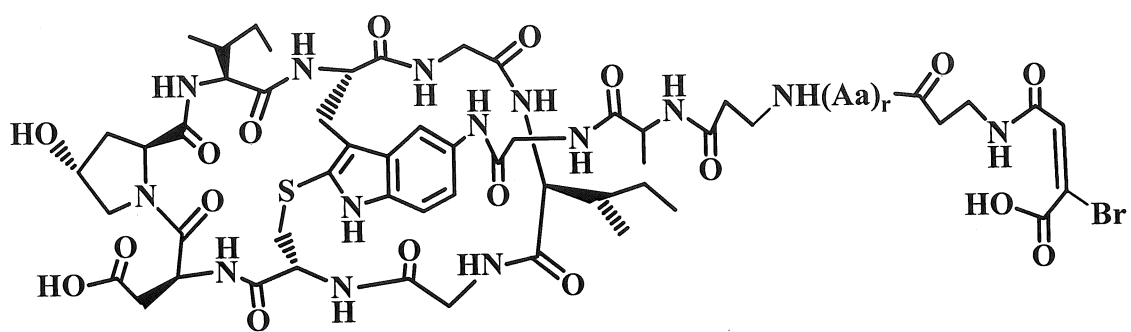
(I-16),



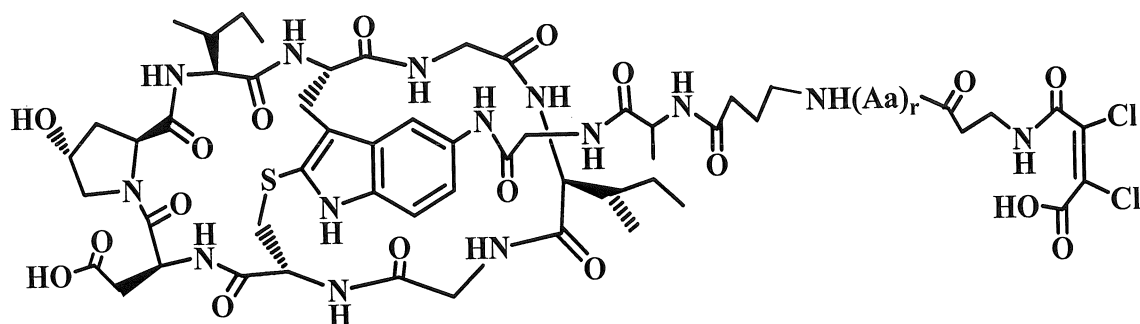
(I-17),



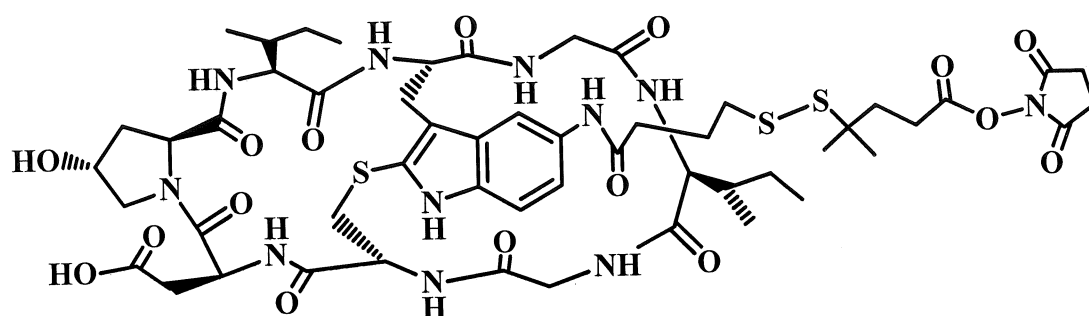
(I-18),



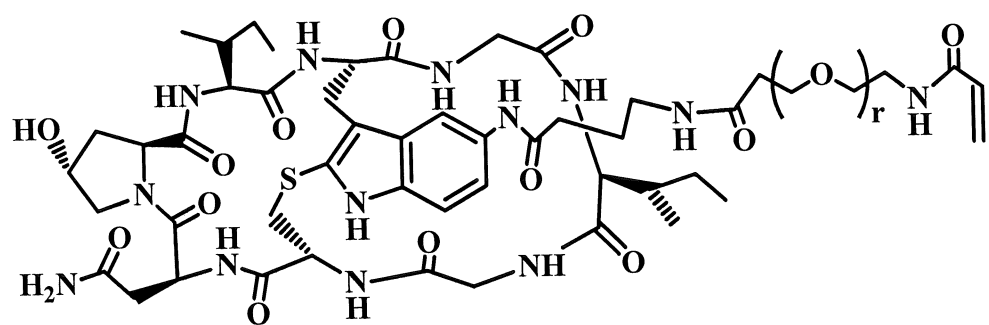
(I-19),



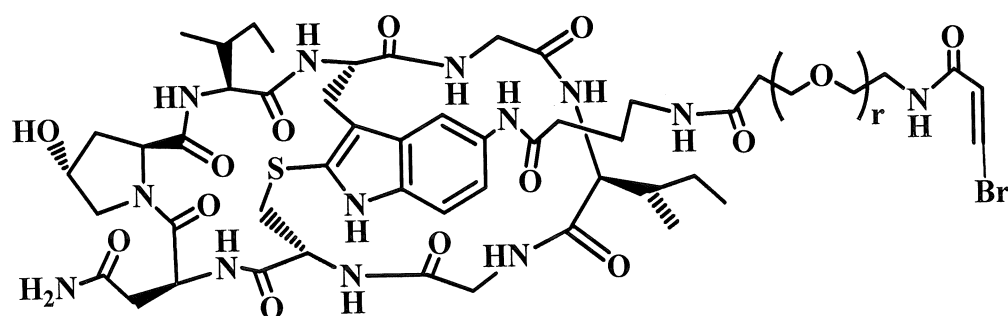
(I-20),



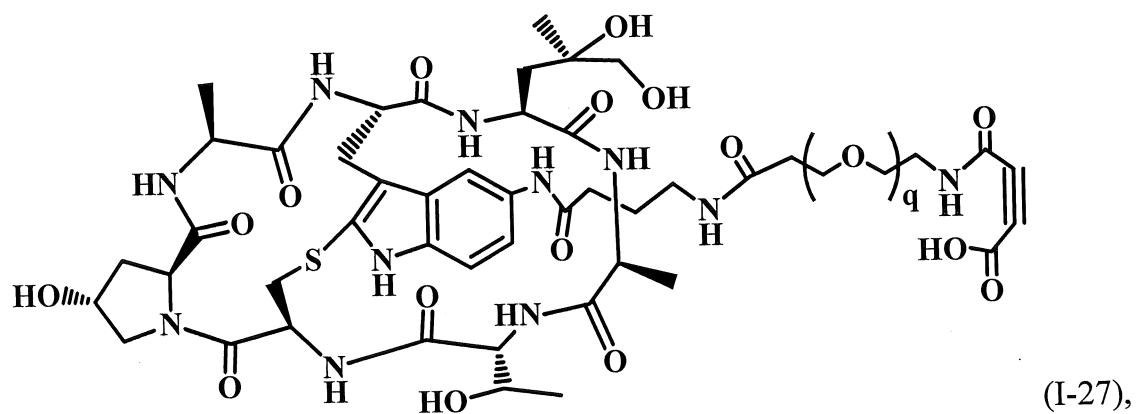
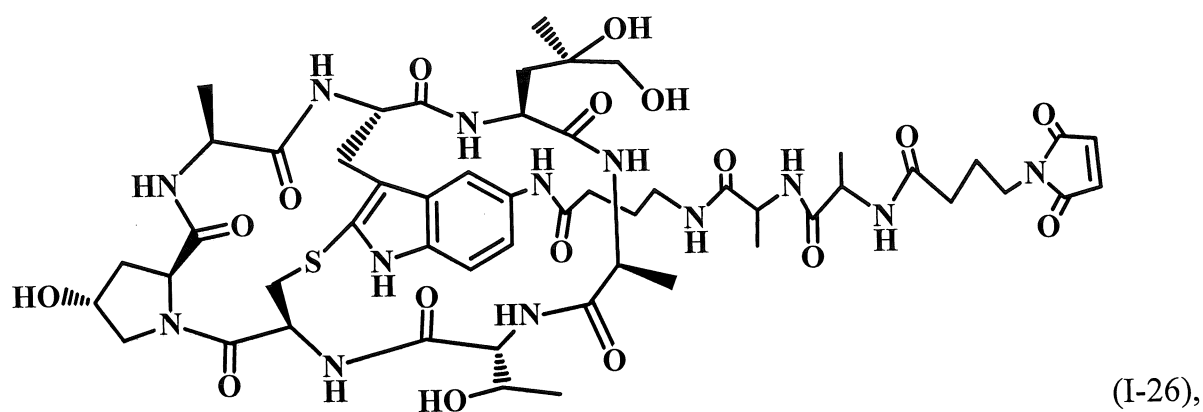
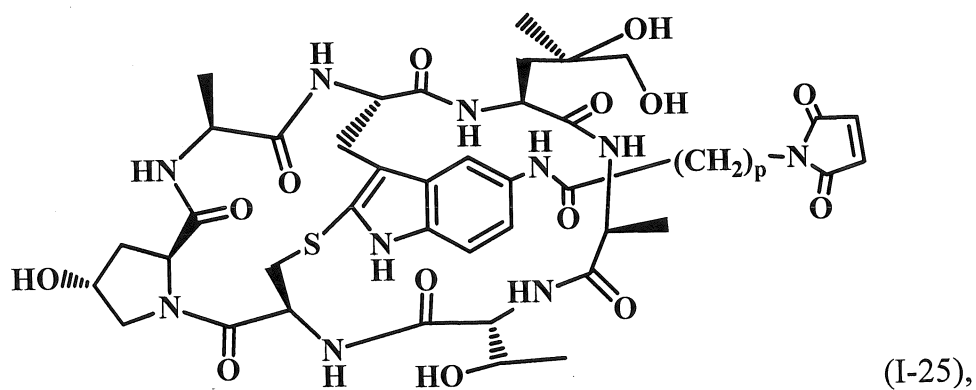
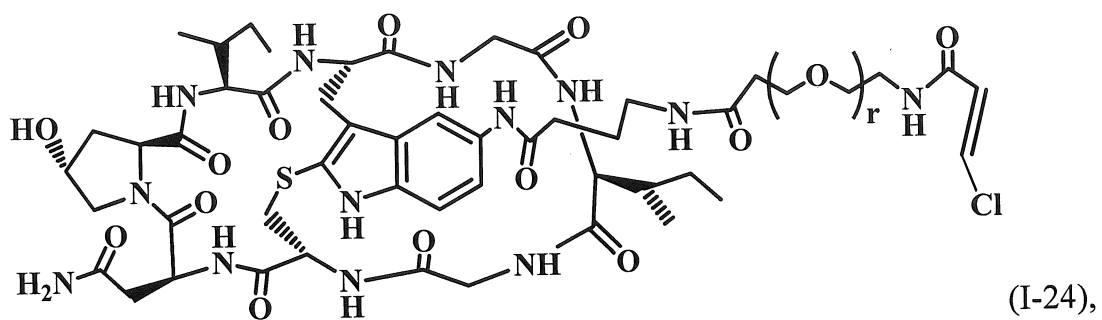
(I-21),

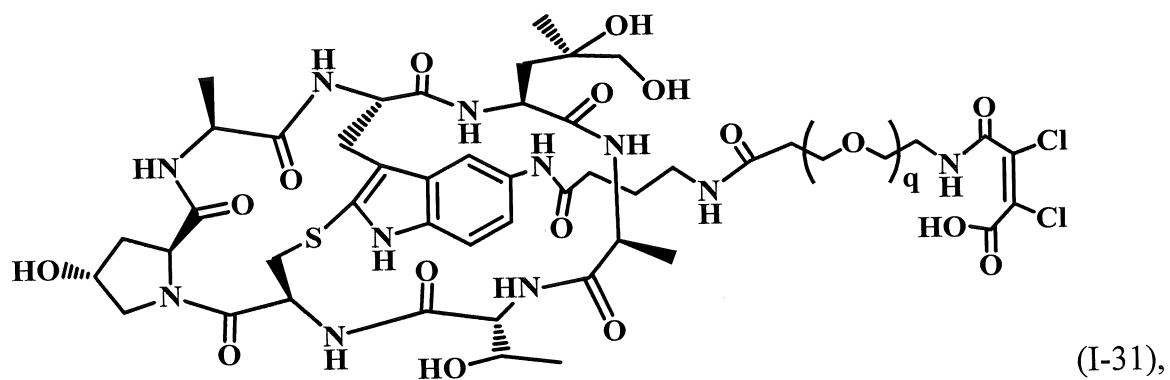
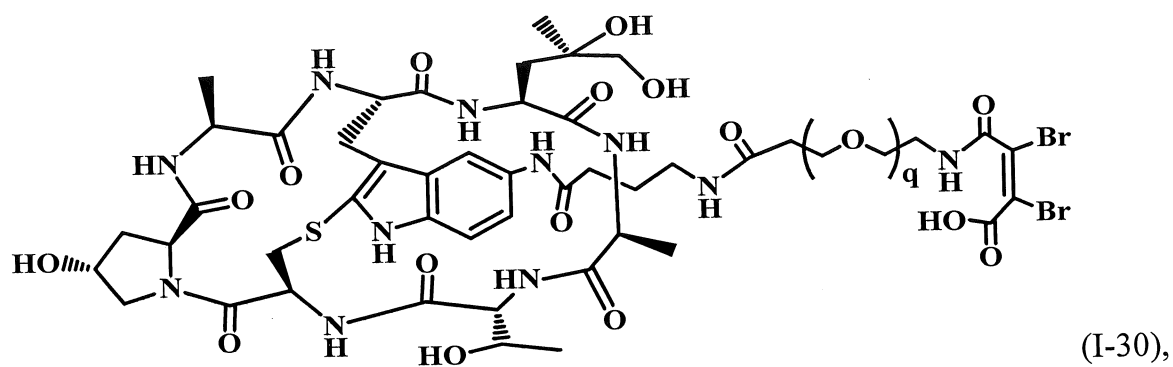
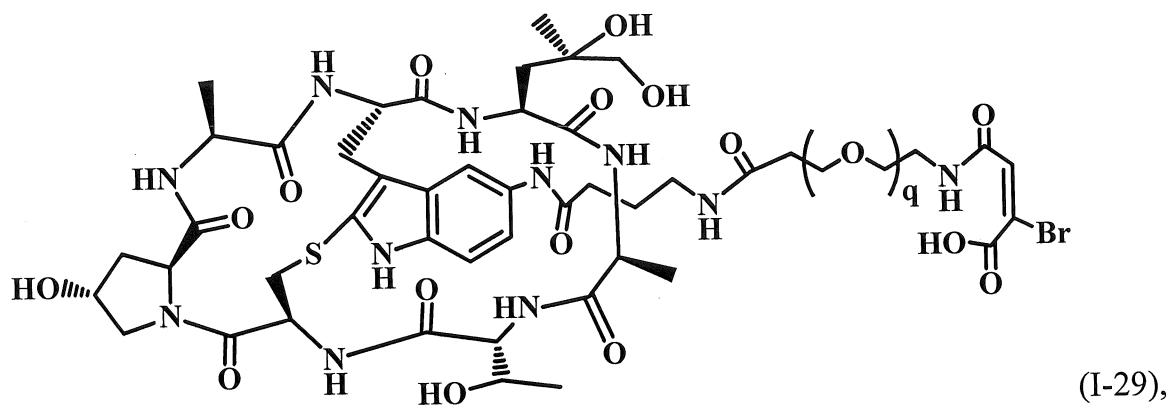
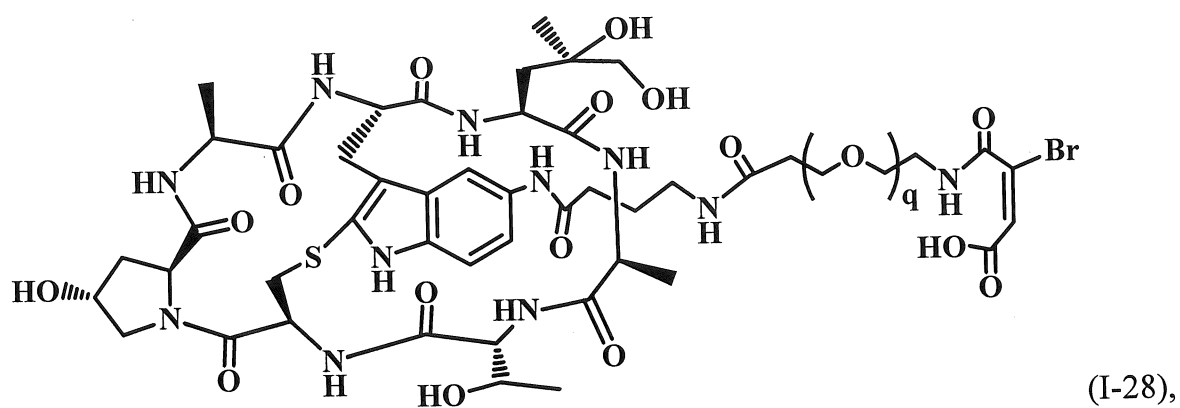


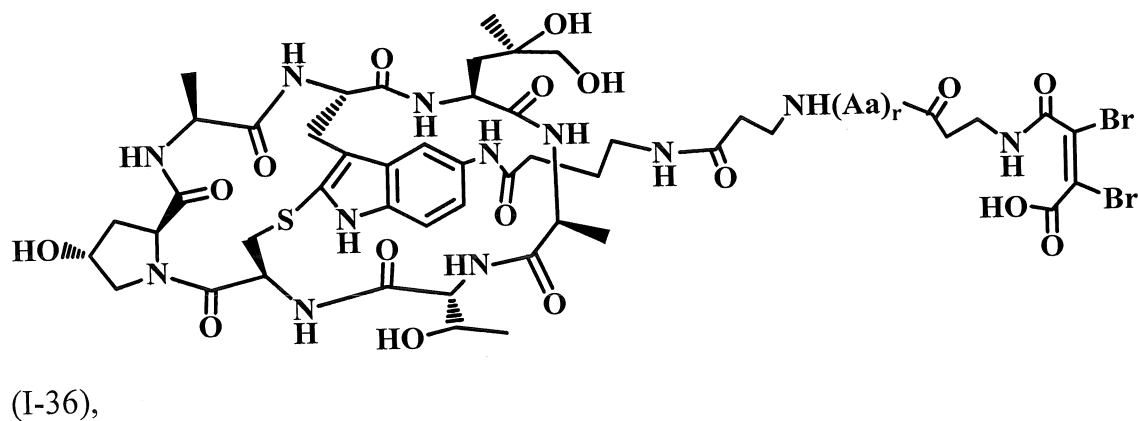
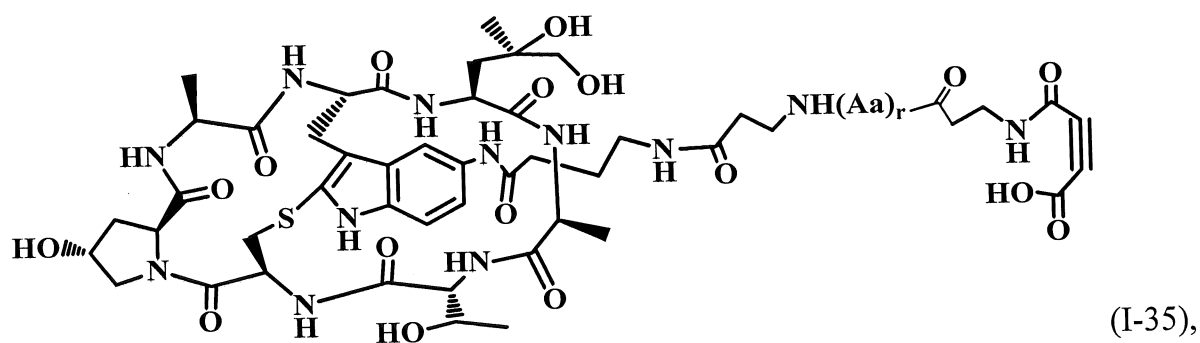
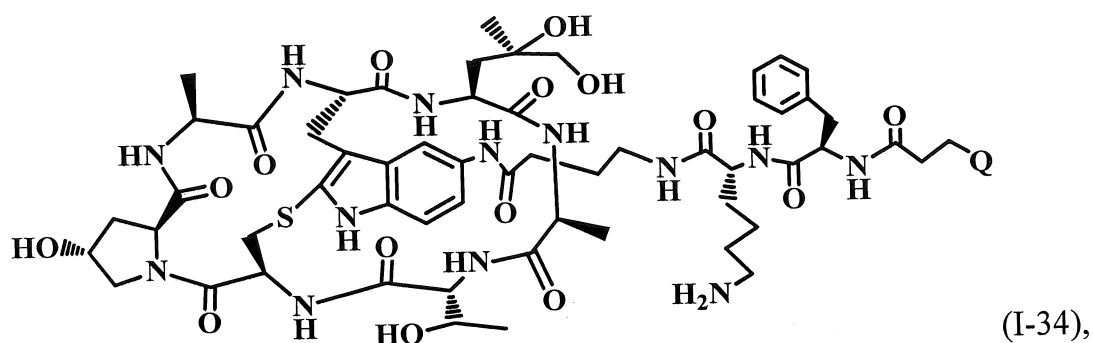
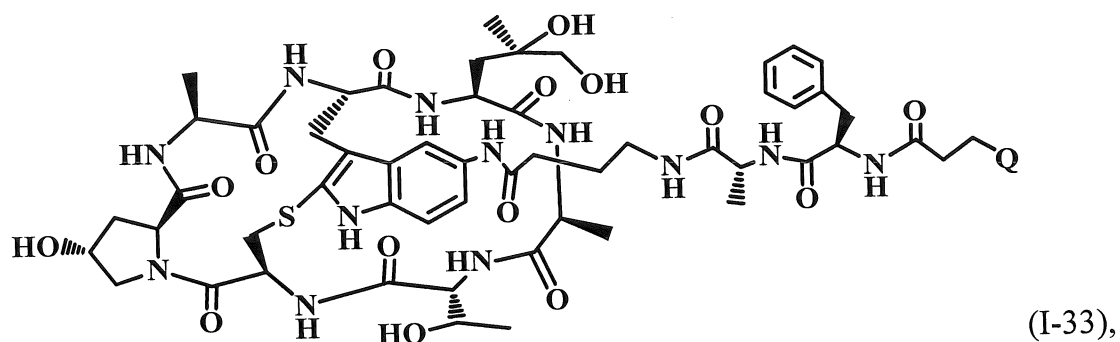
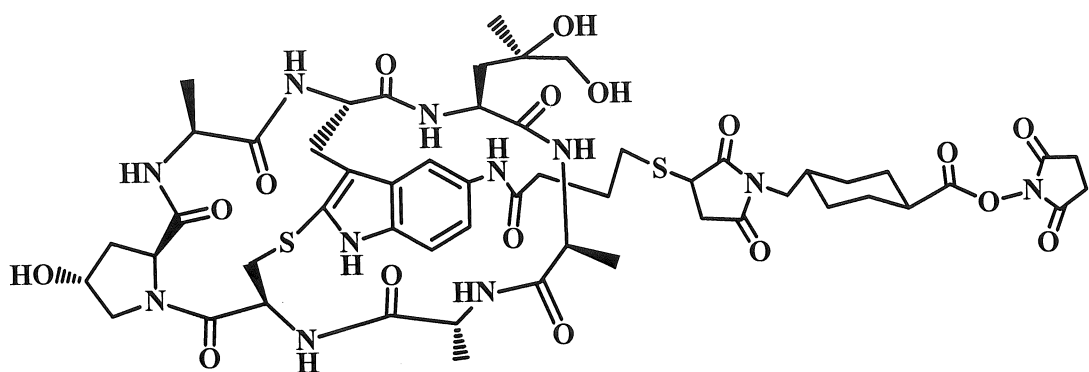
(I-22),

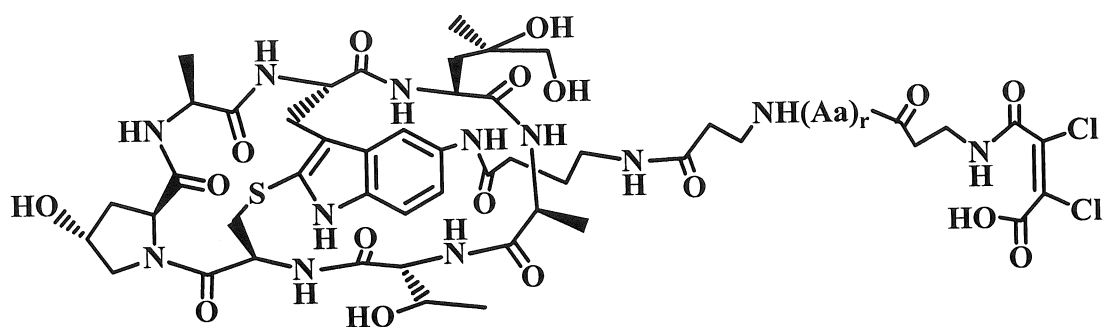


(I-23),

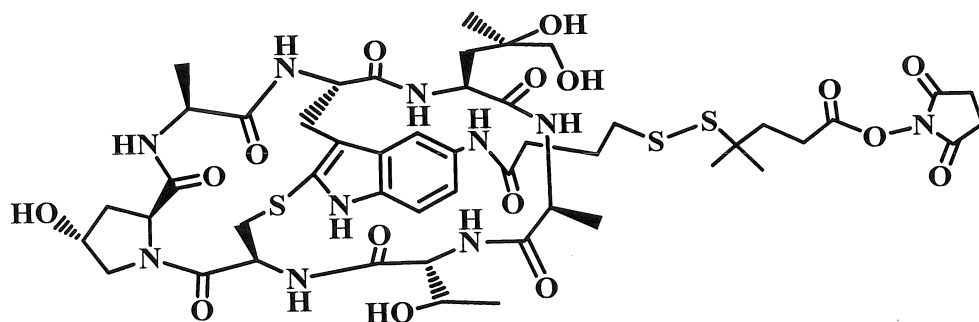




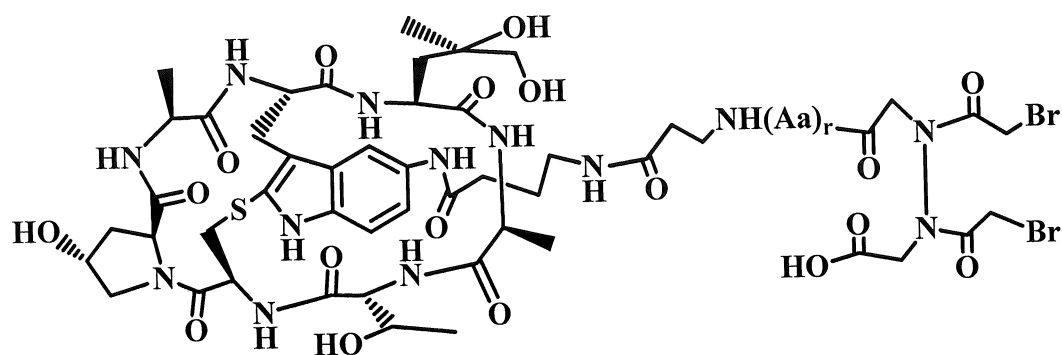




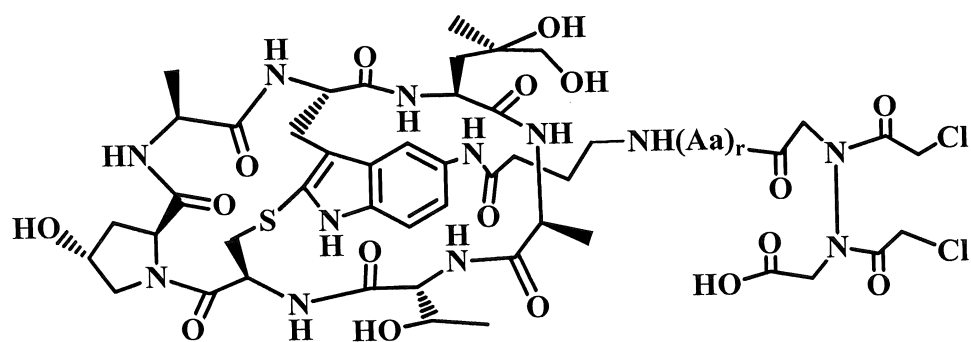
(I-37),



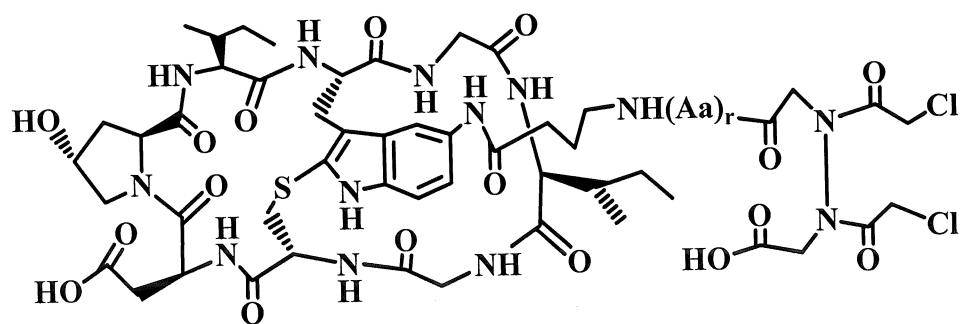
(I-38),



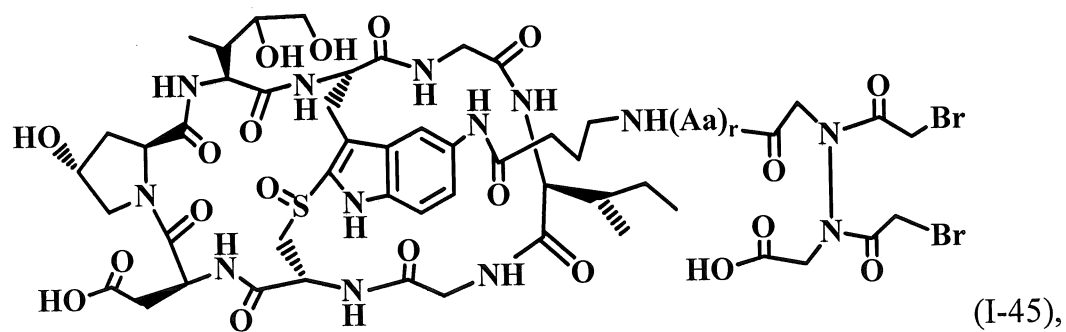
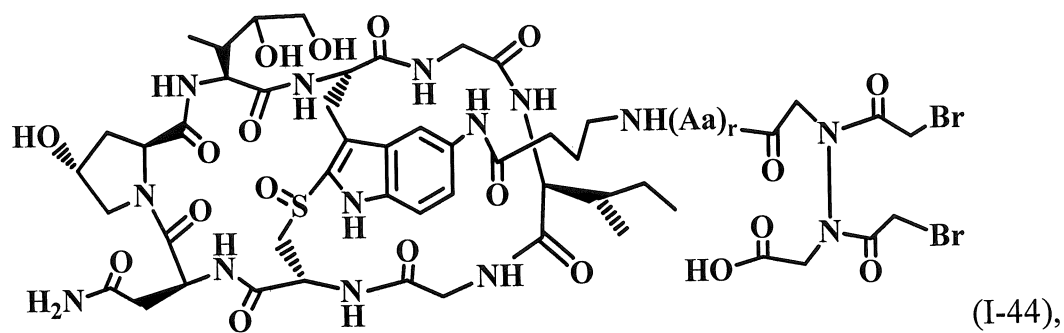
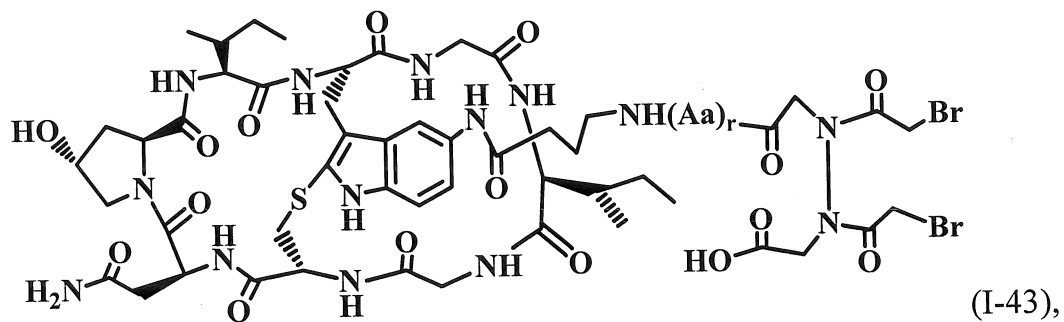
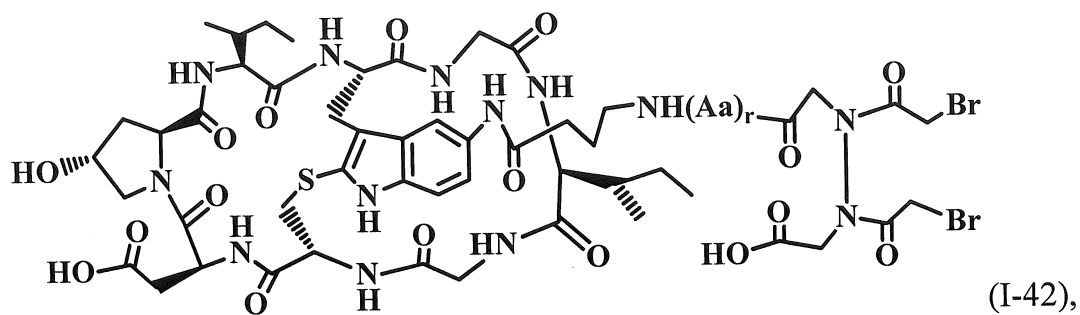
(I-39),

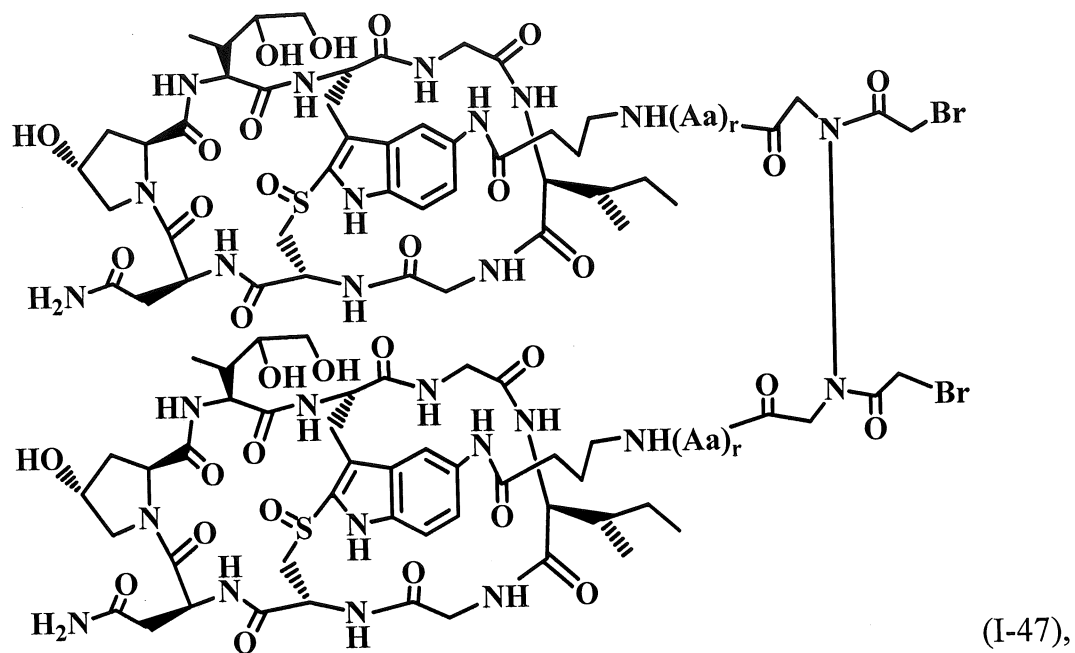
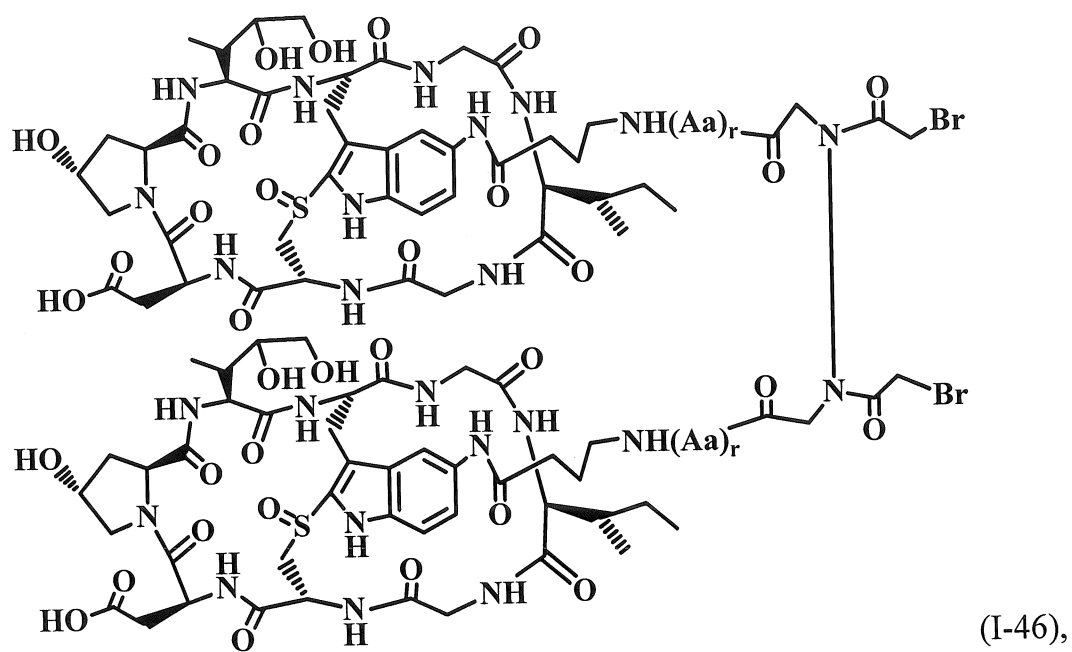


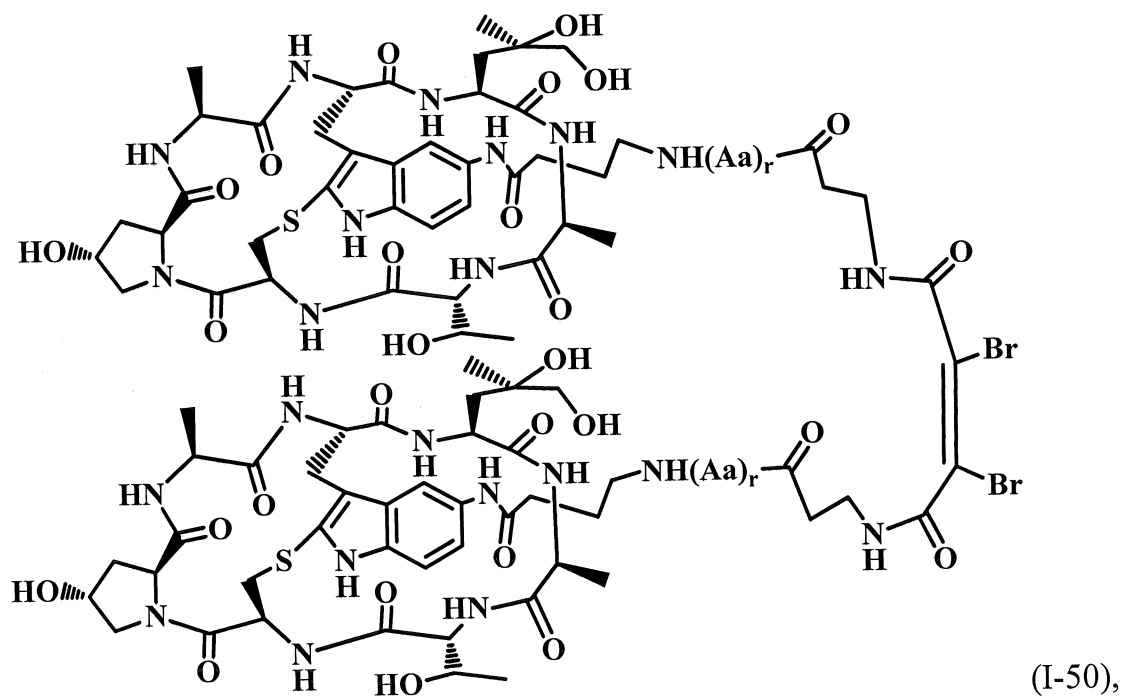
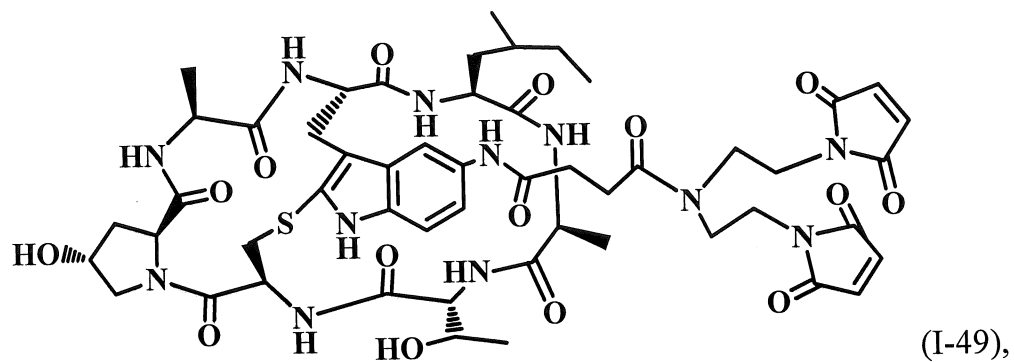
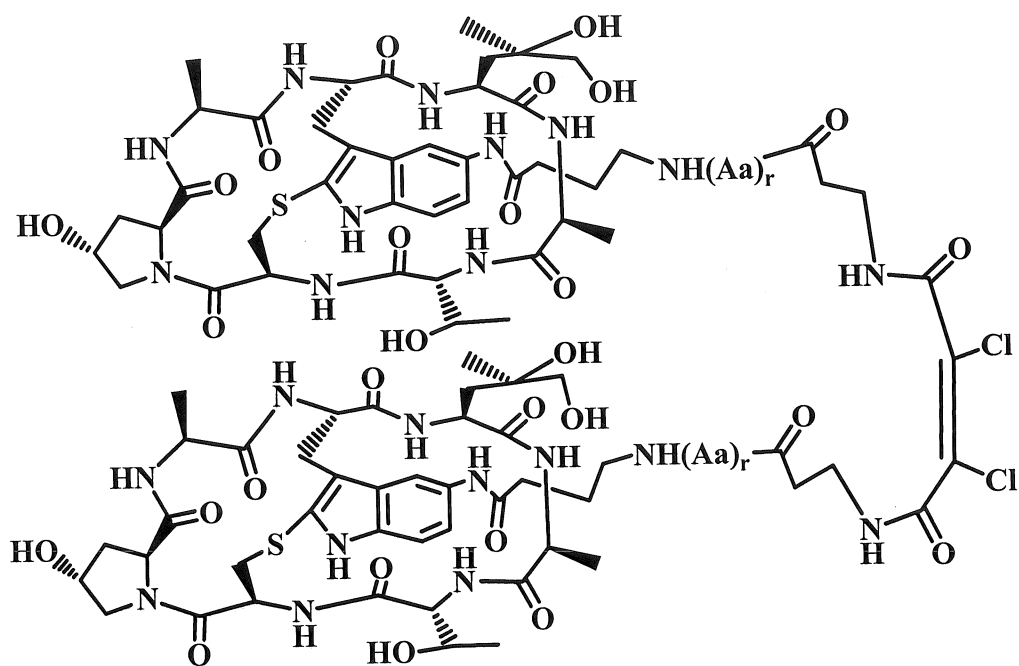
(I-40),

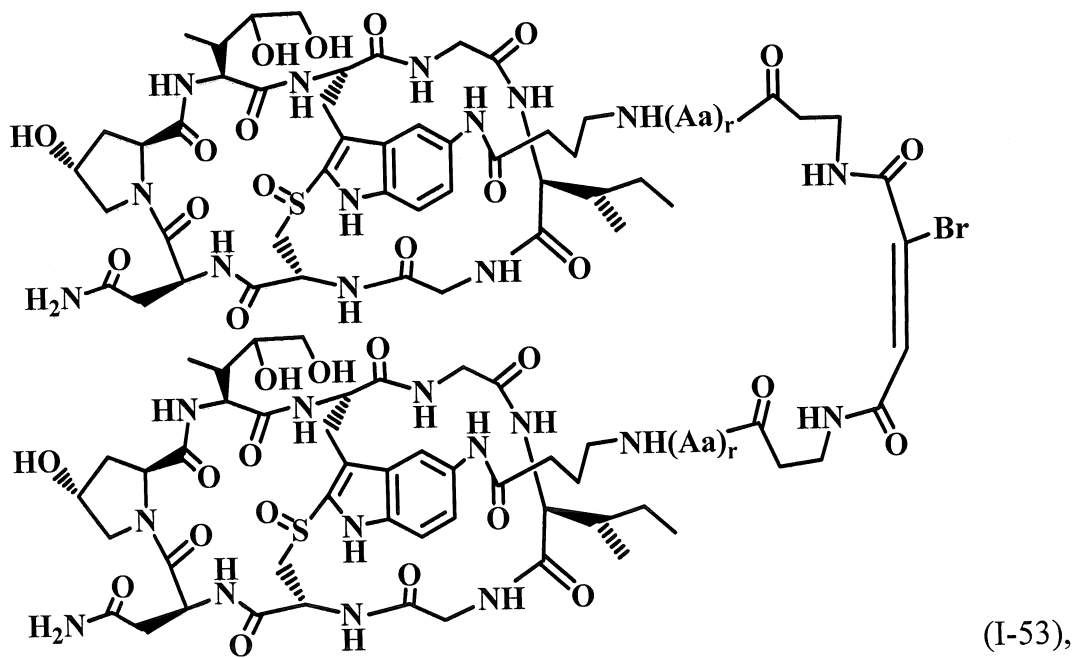
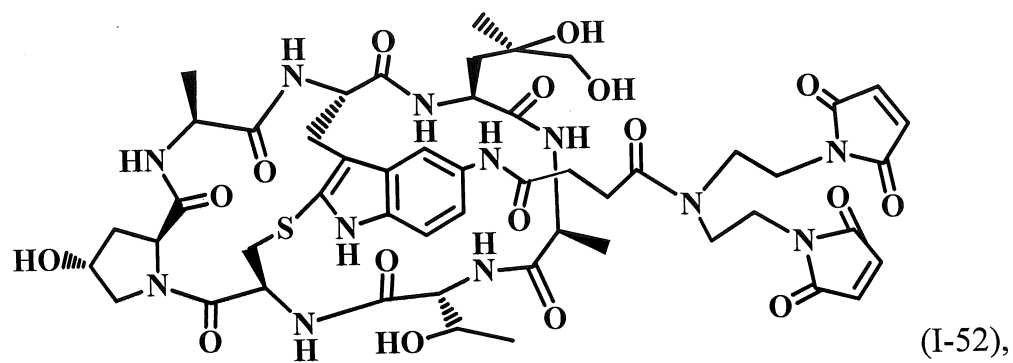
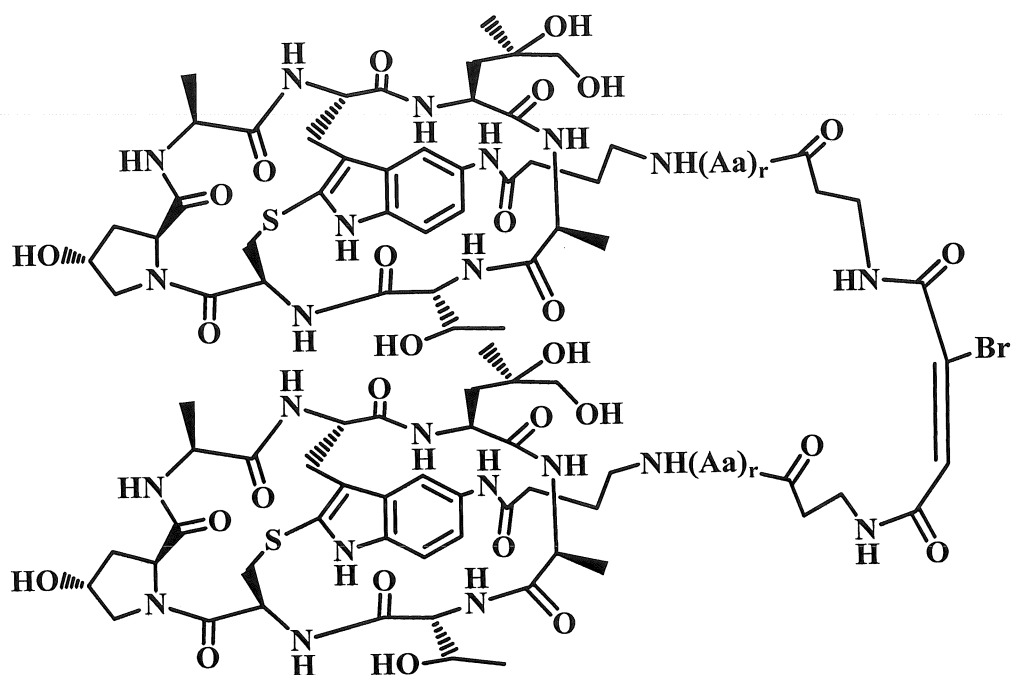


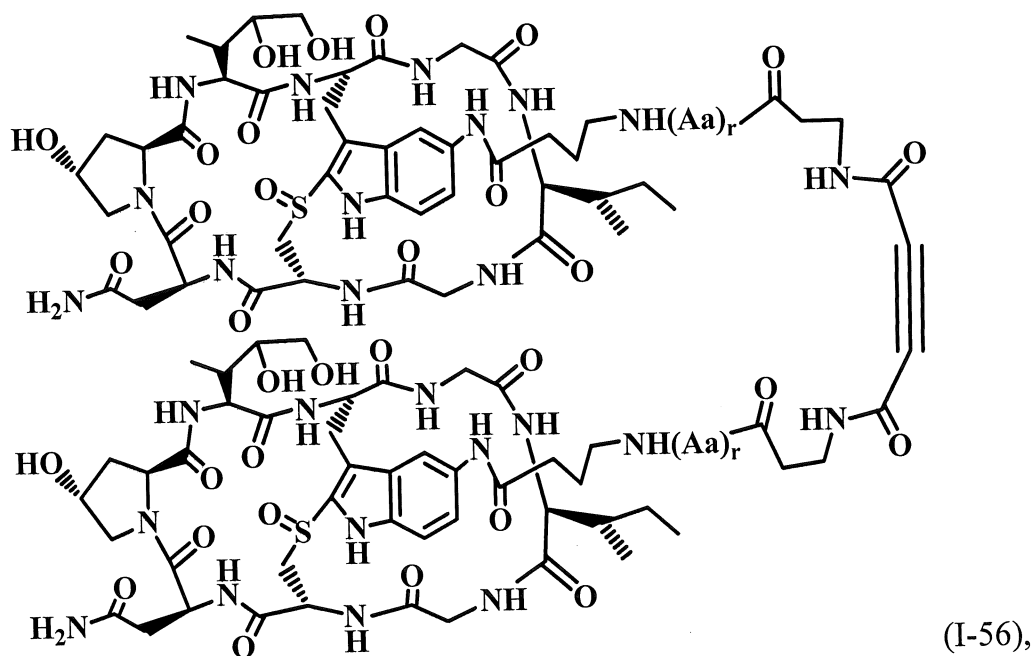
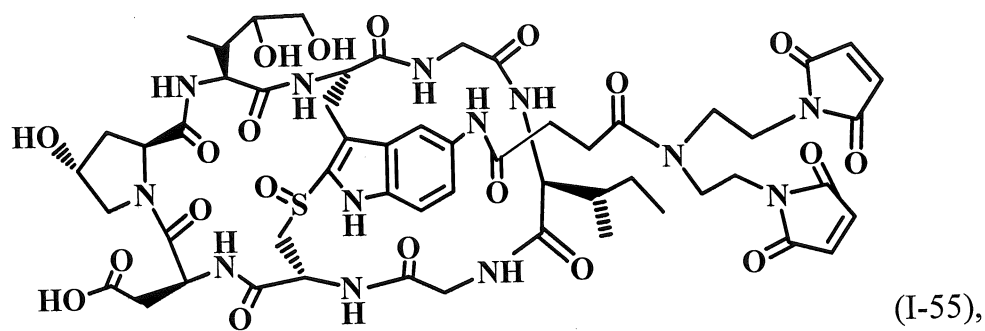
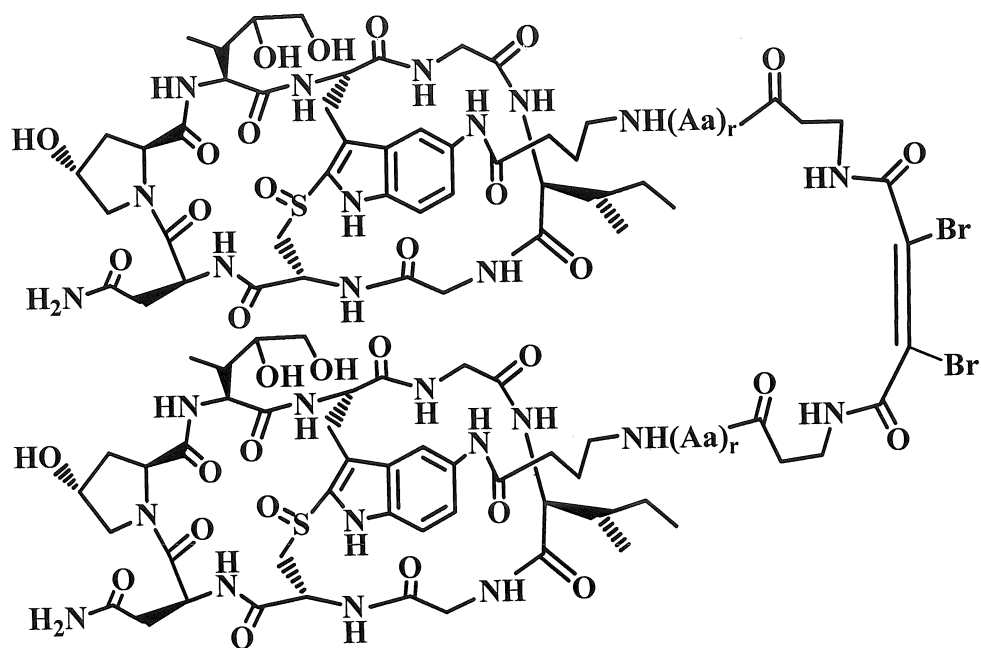
(I-41),

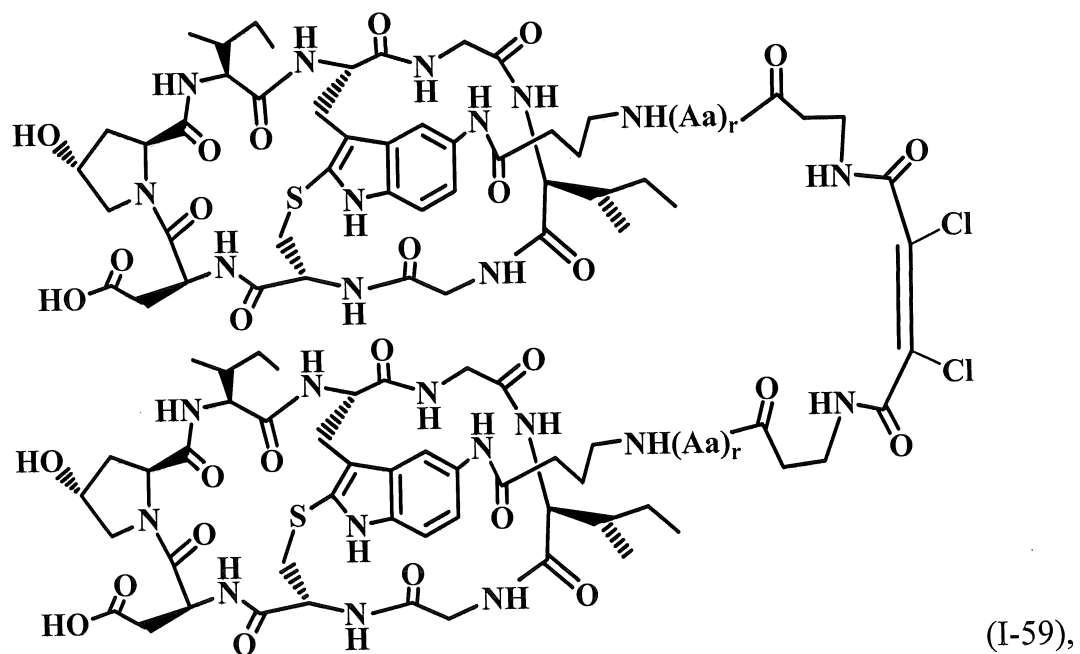
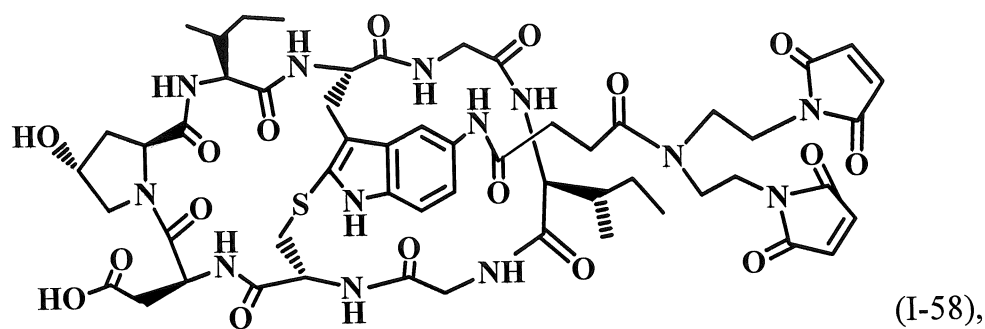
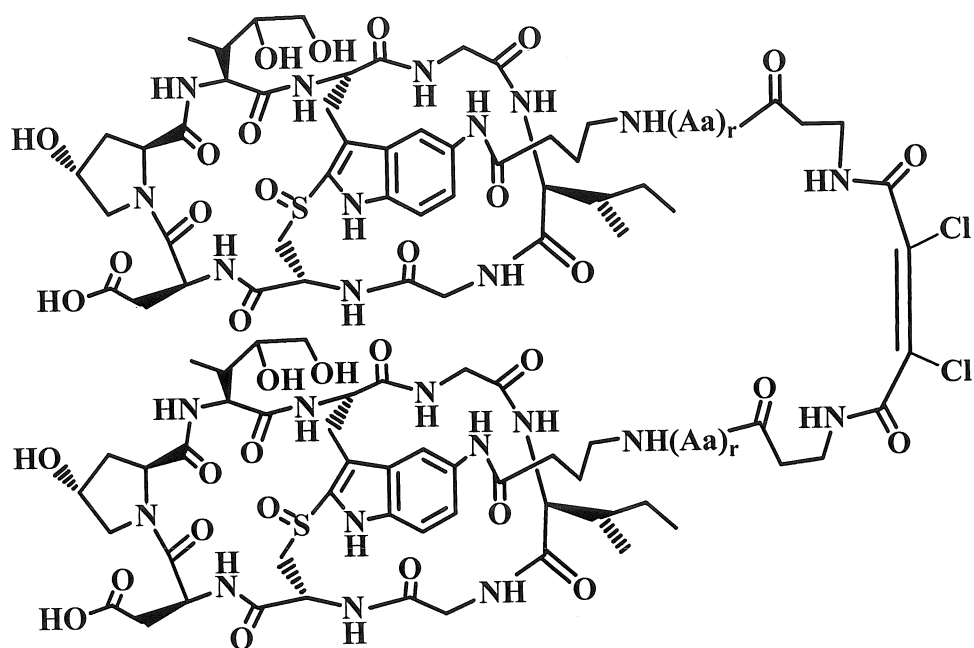


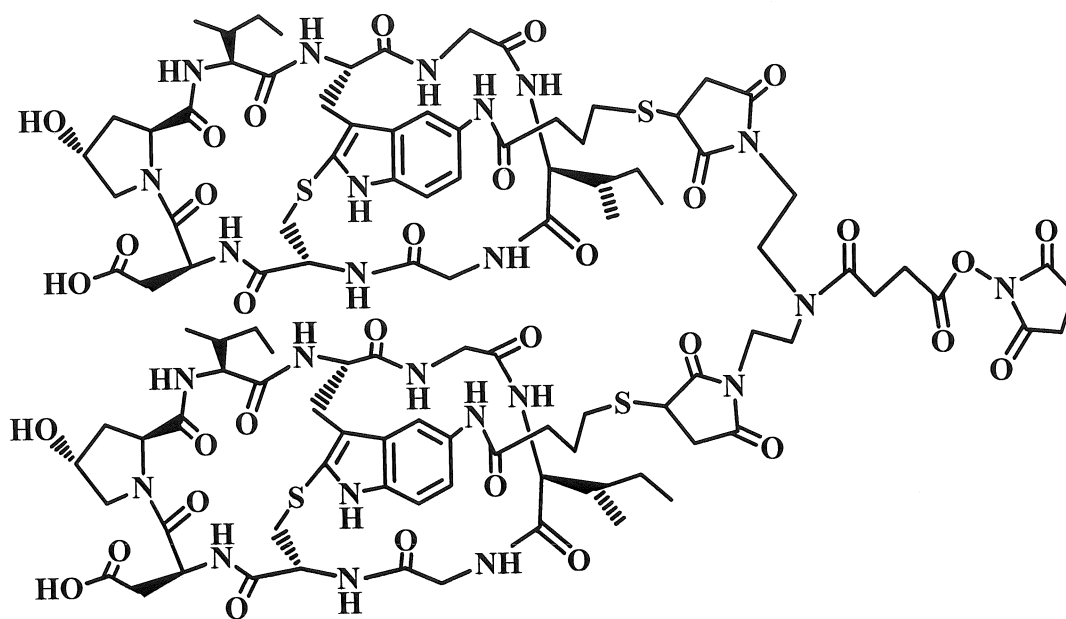




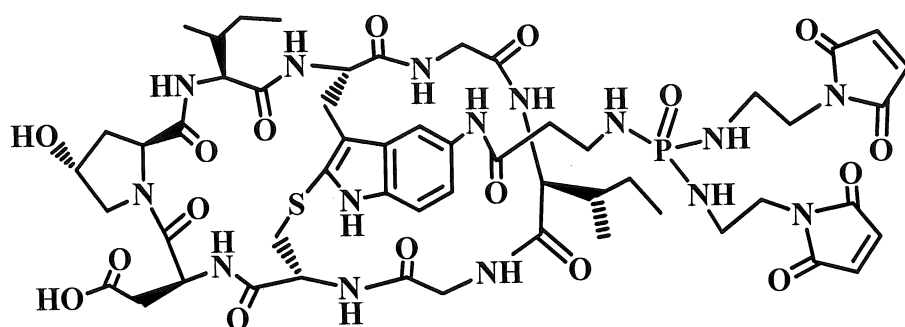




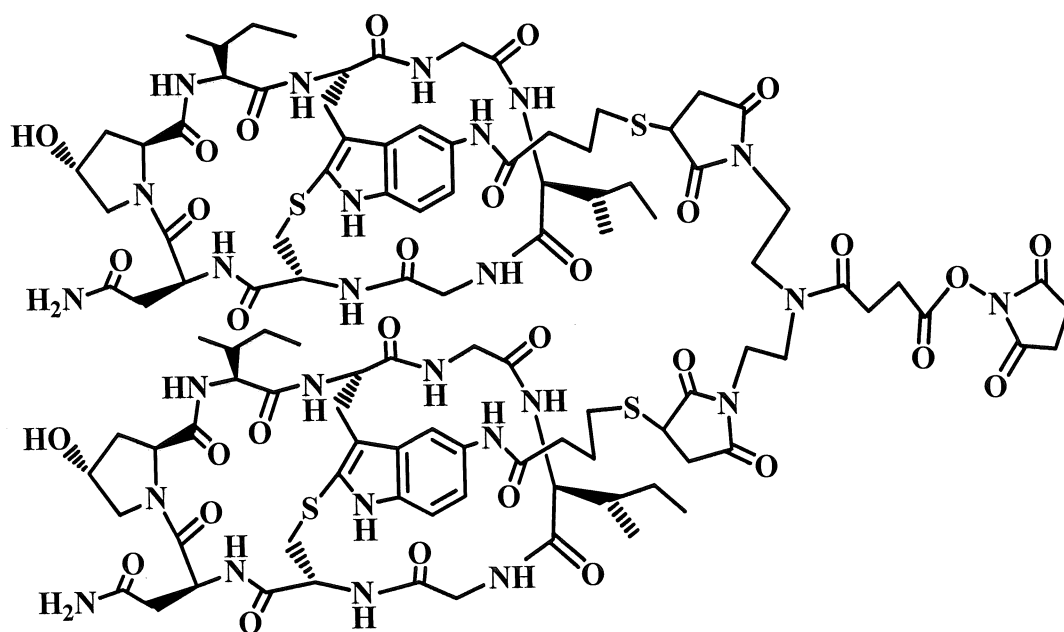




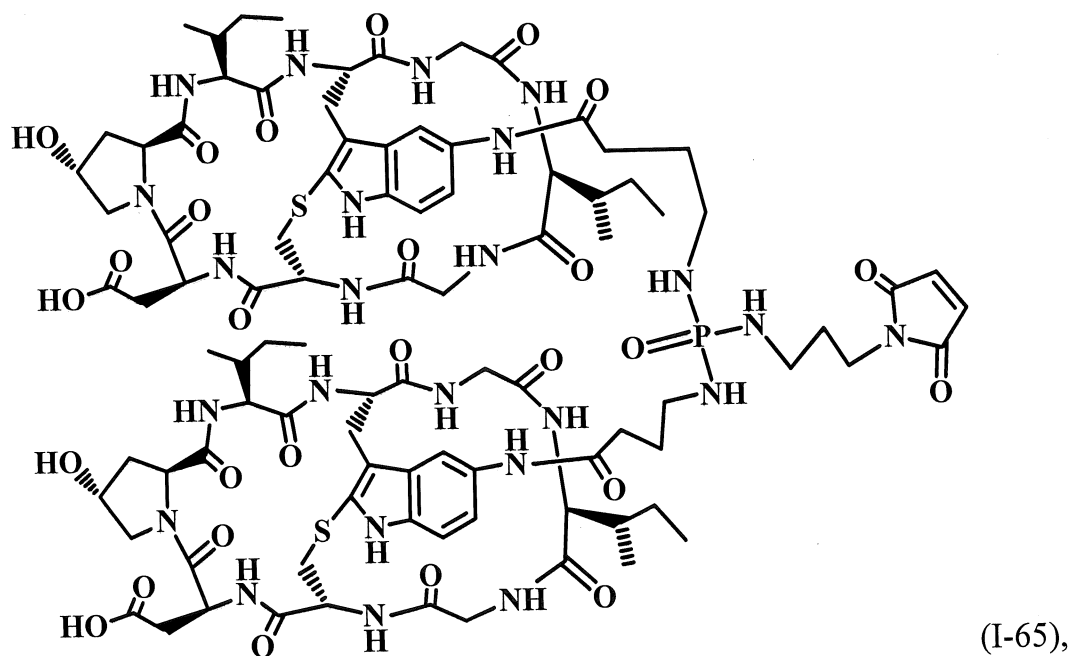
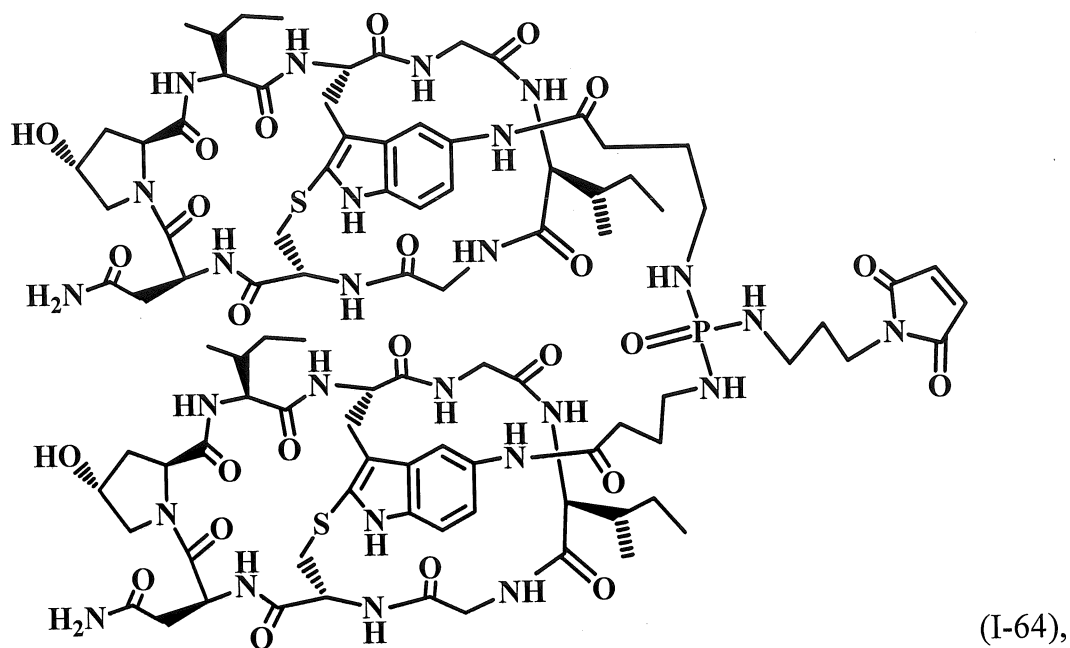
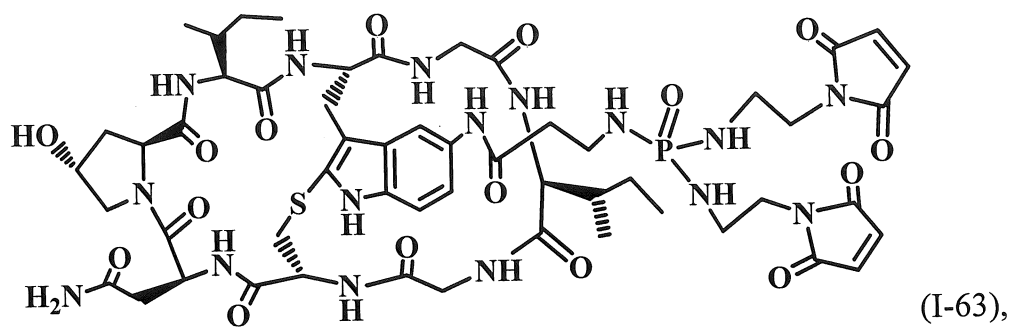
(I-60),

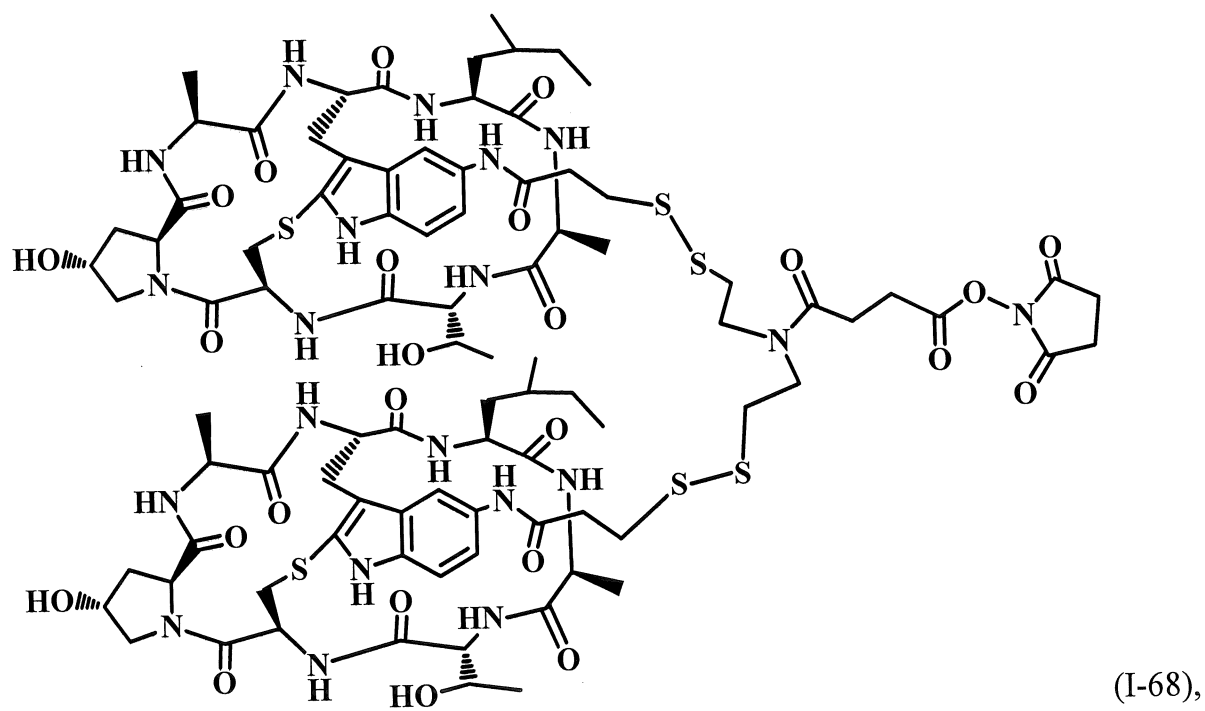
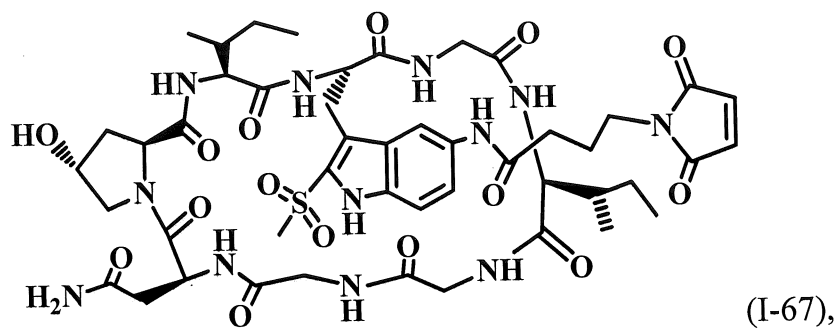
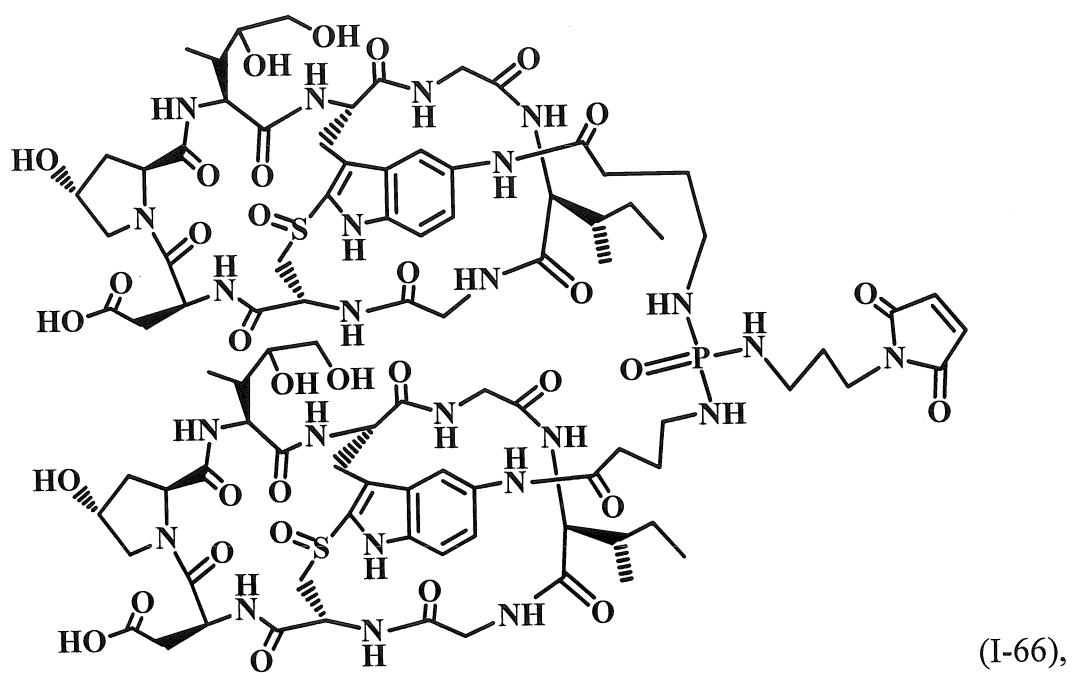


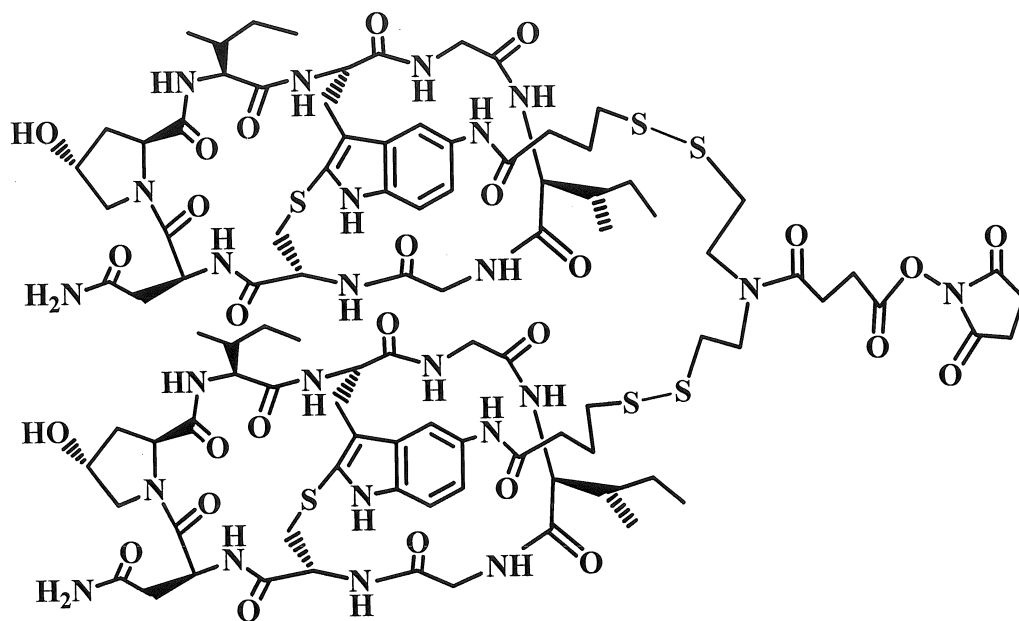
(I-61),



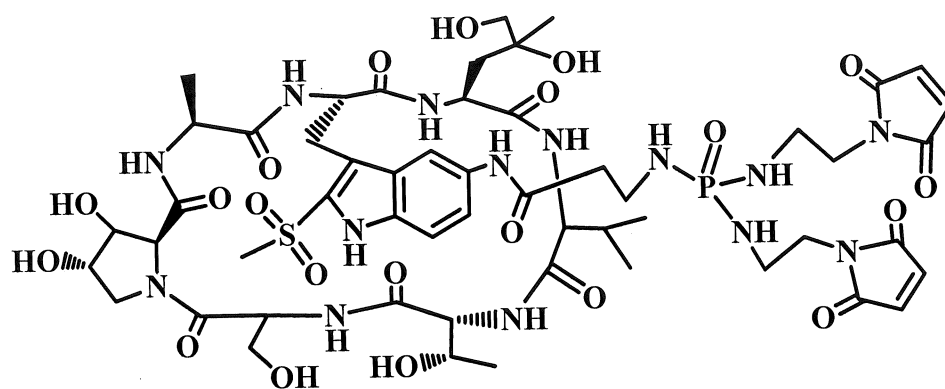
(I-62),



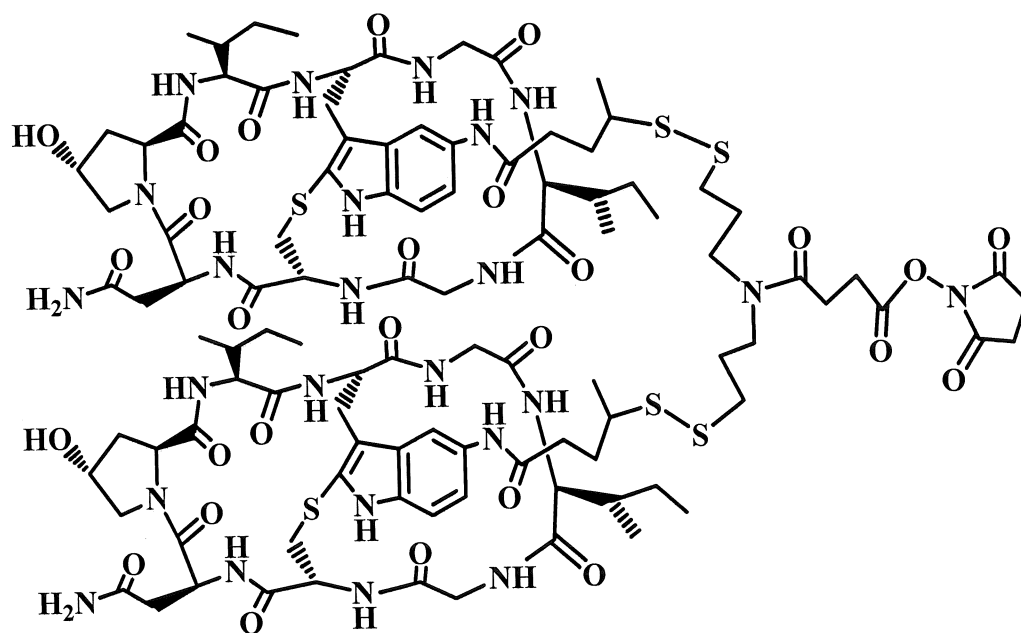




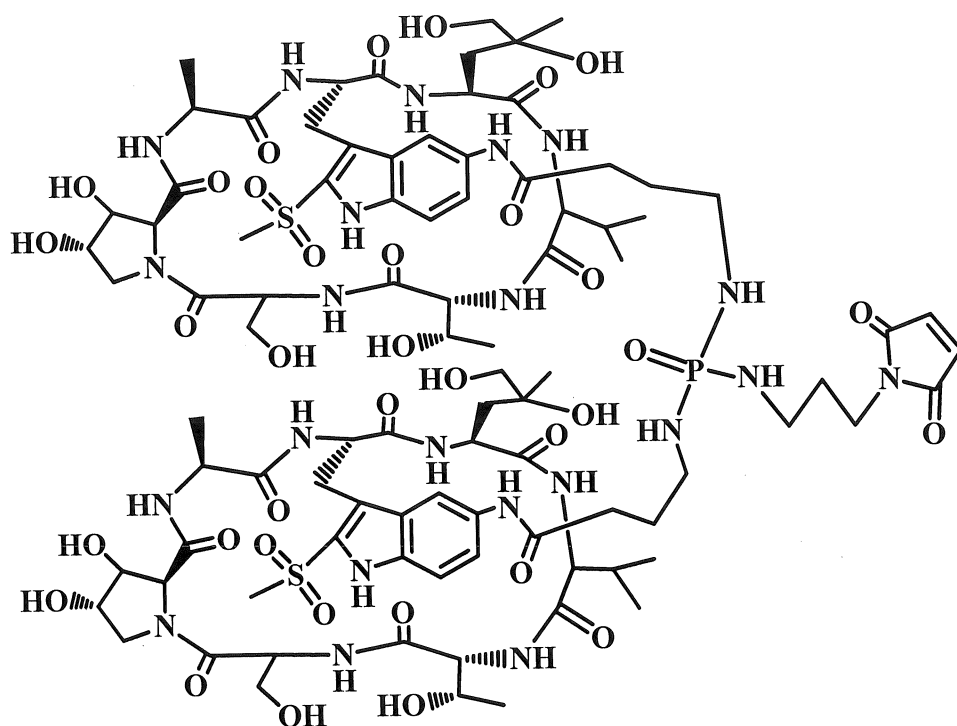
(I-69),



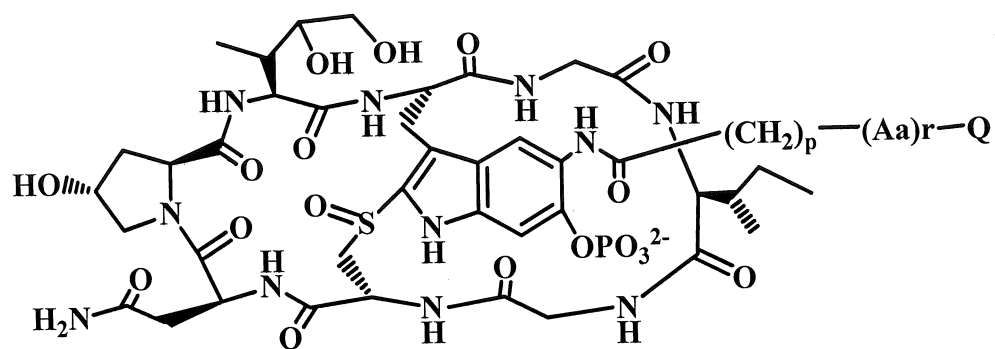
(I-70),



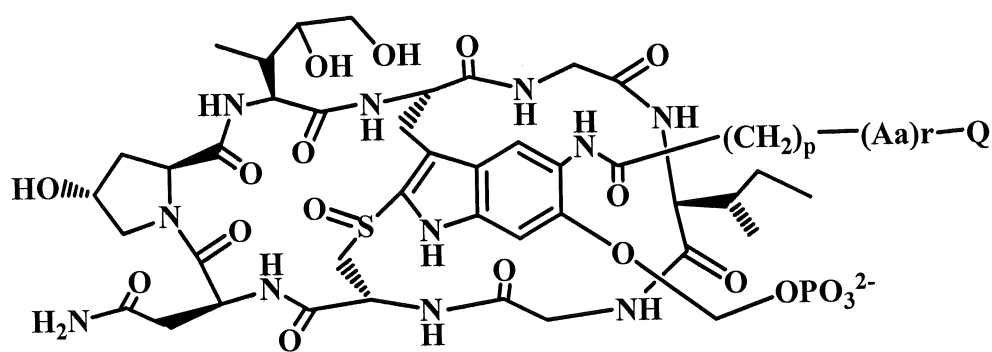
(I-71),



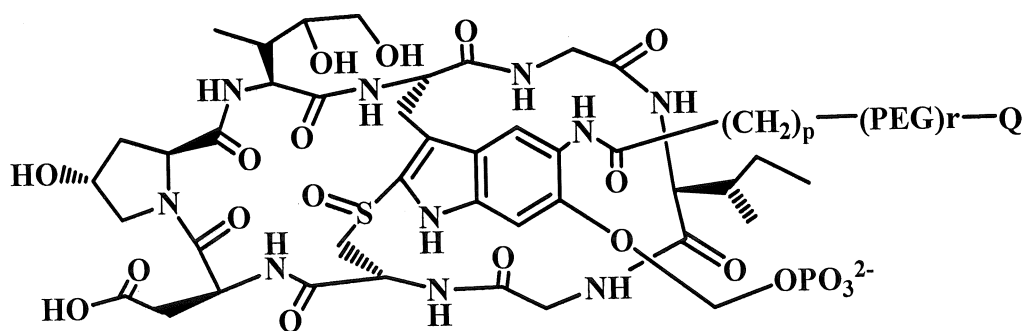
(I-72),



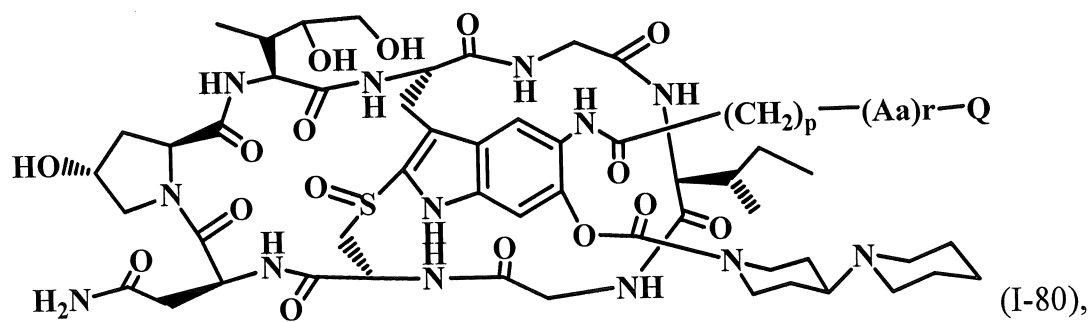
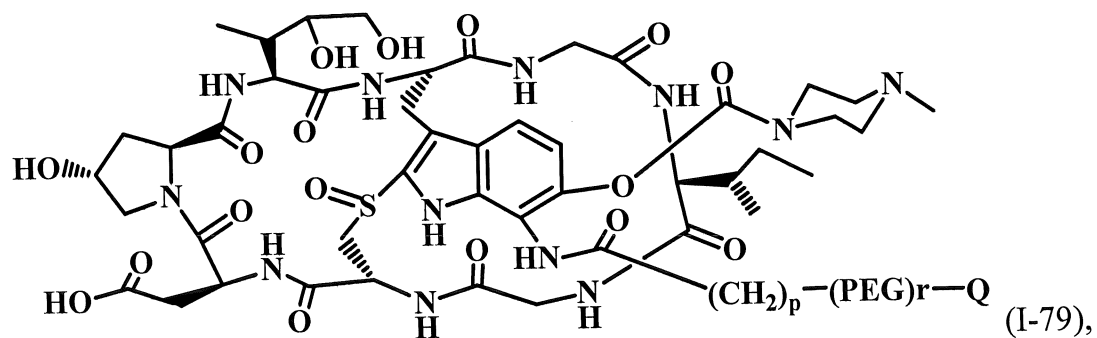
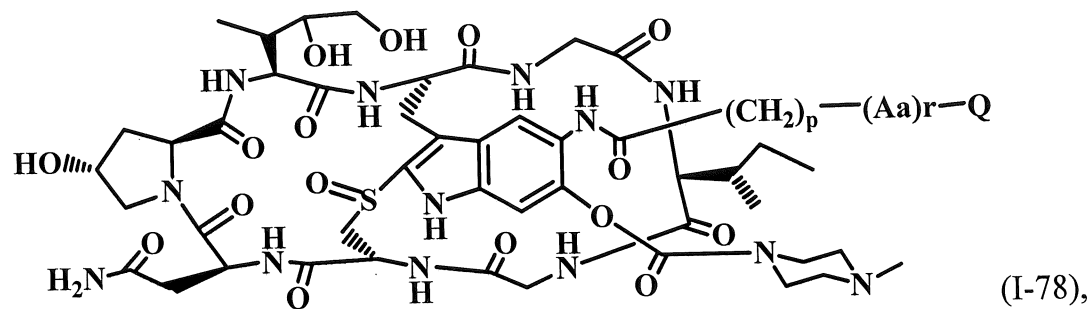
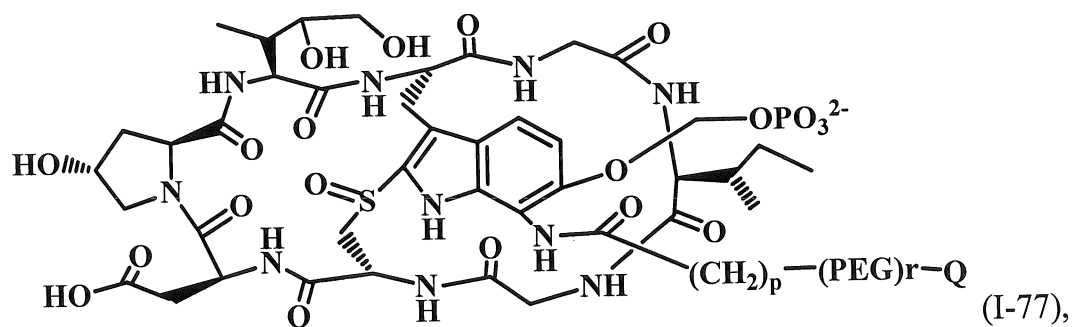
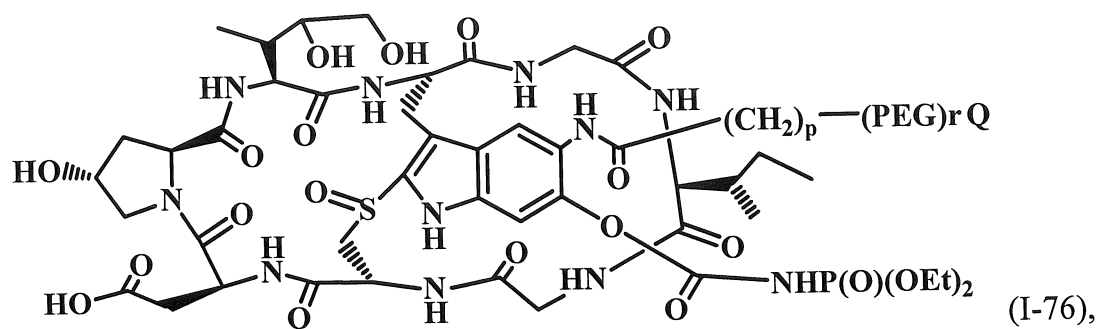
(I-73),

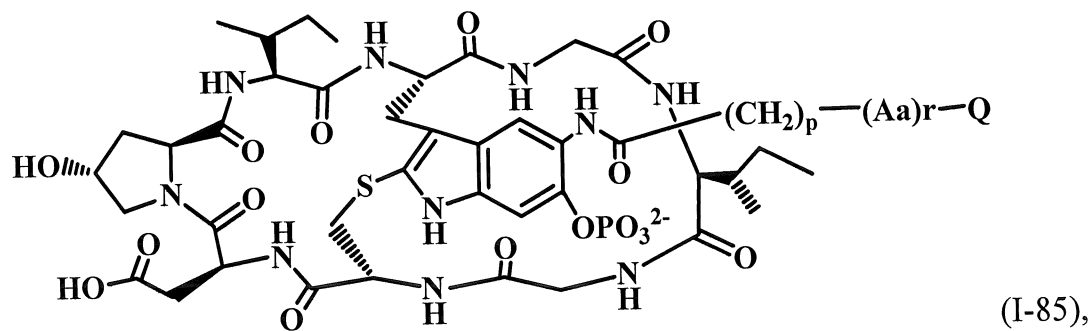
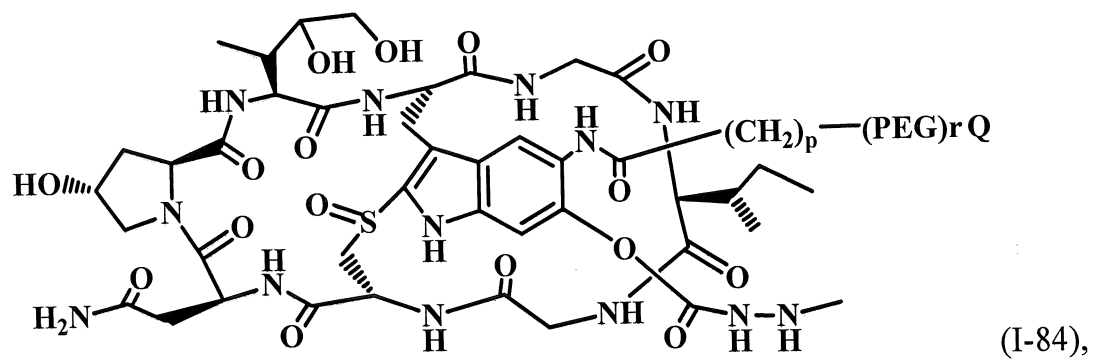
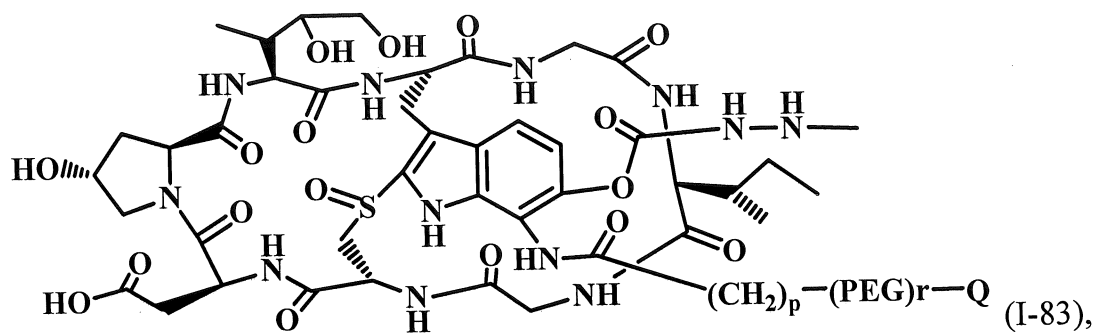
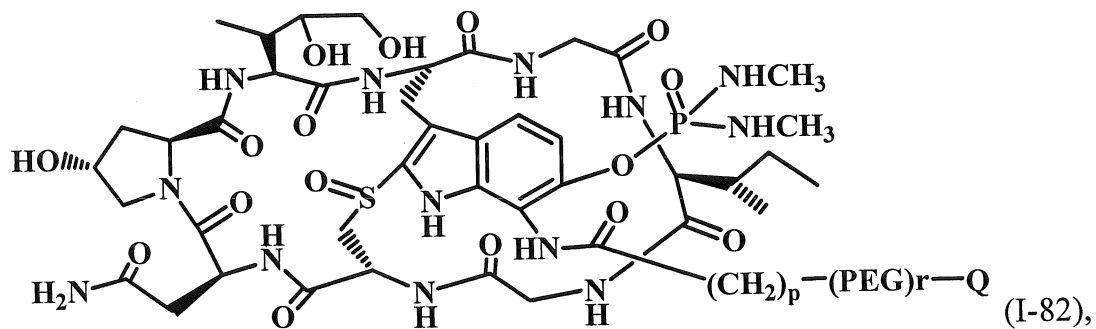
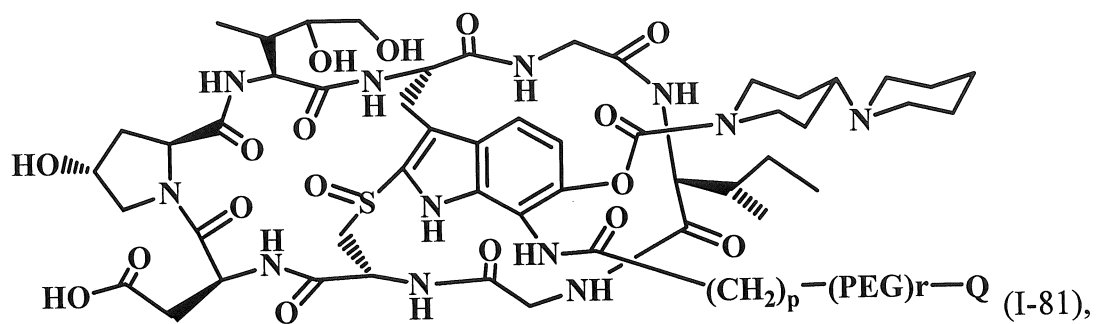


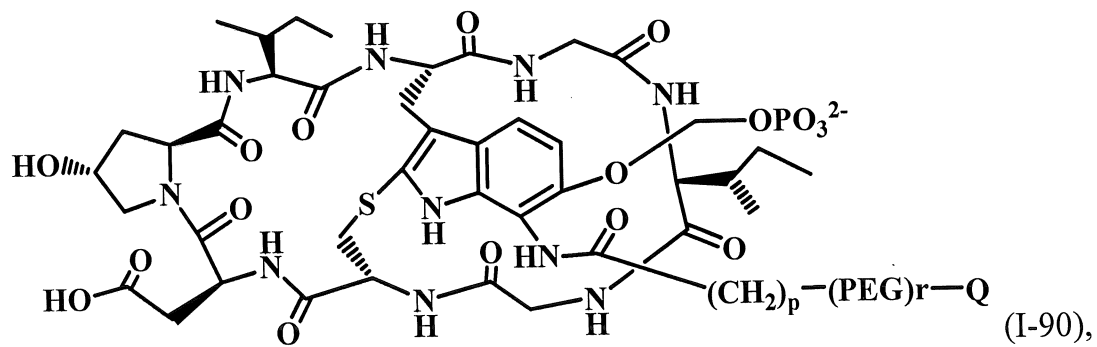
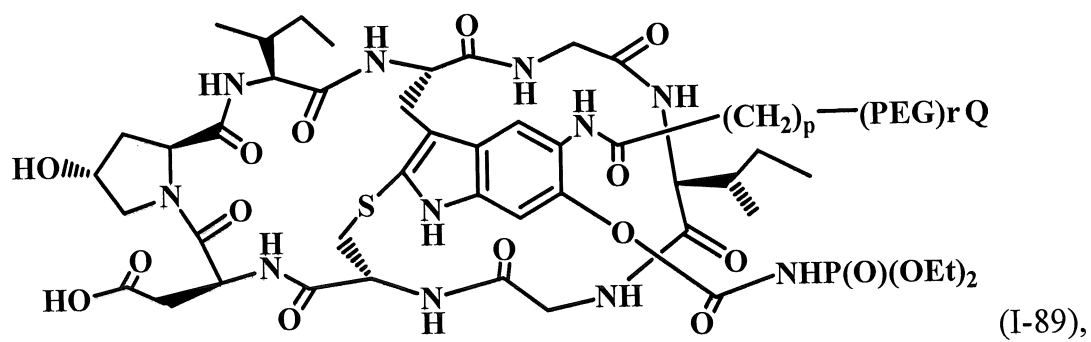
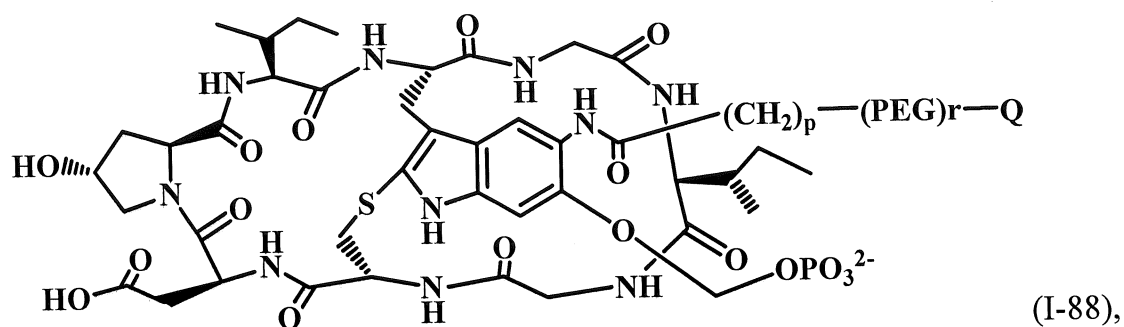
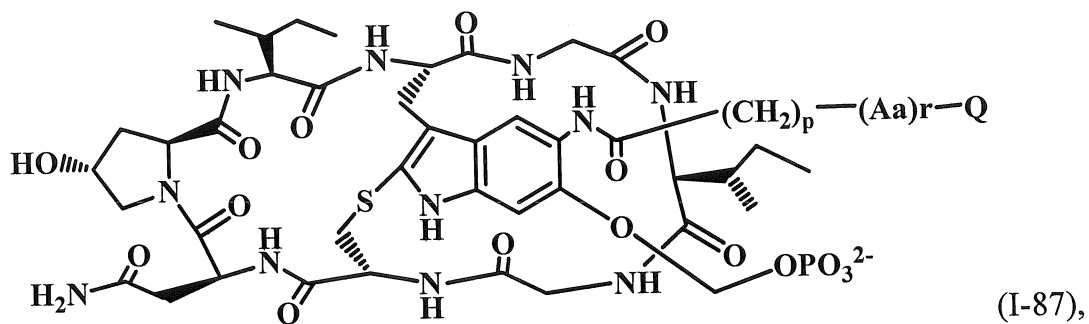
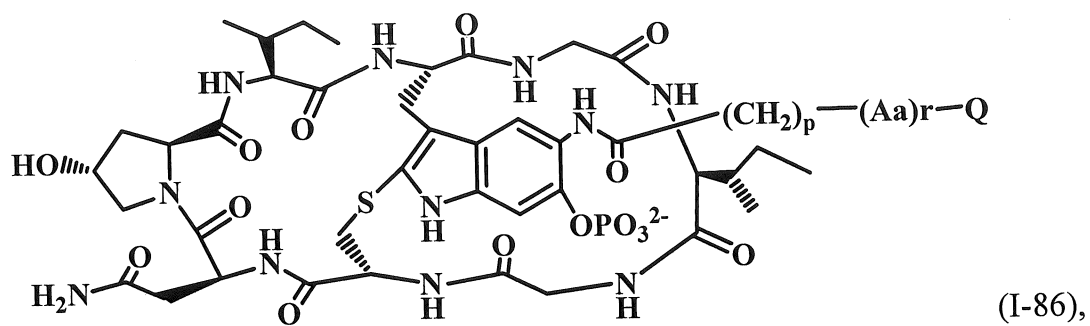
(I-74),

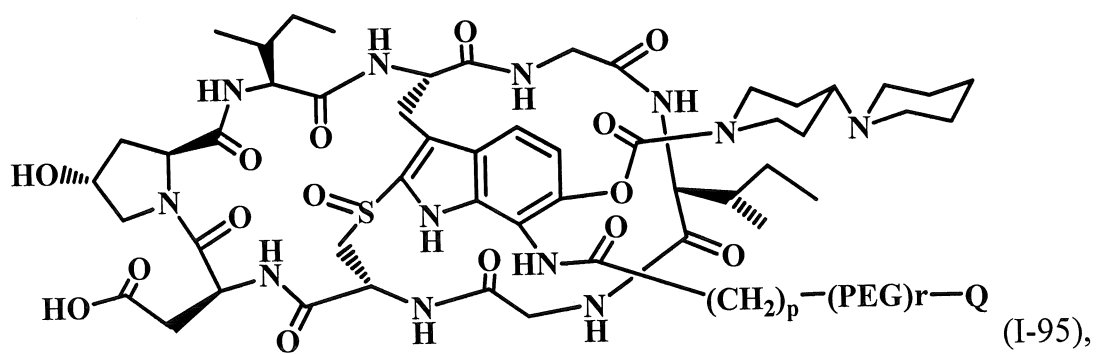
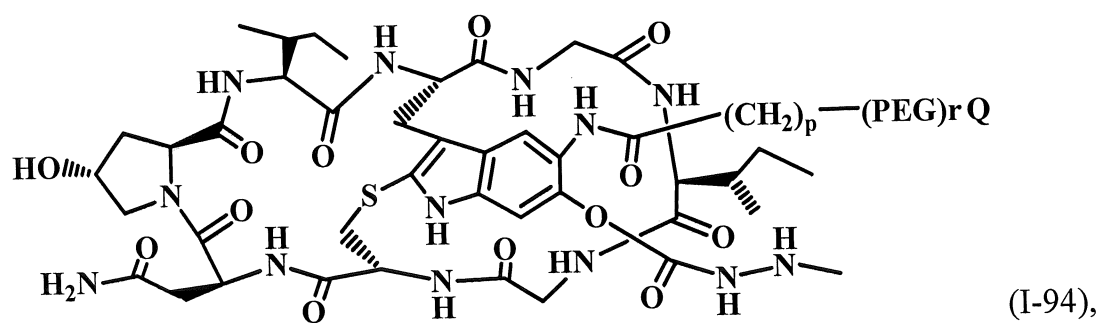
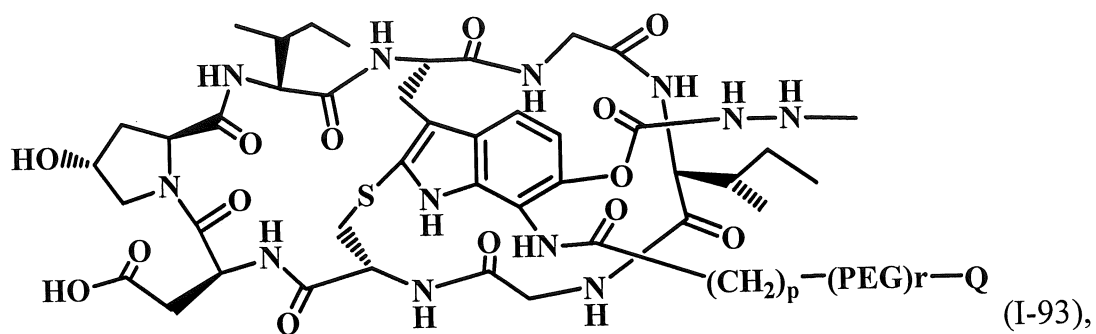
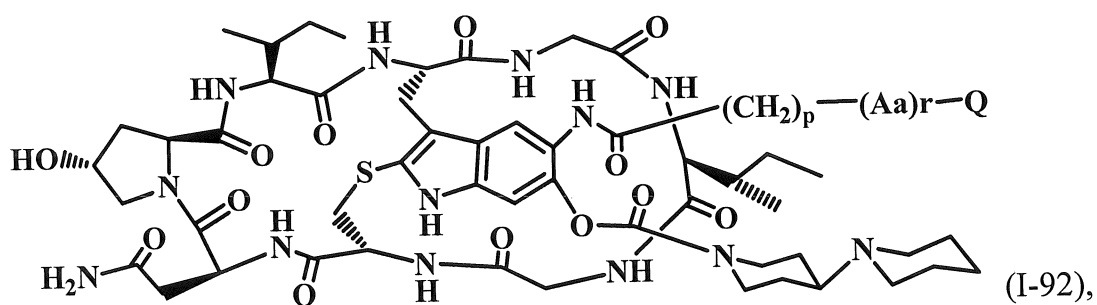
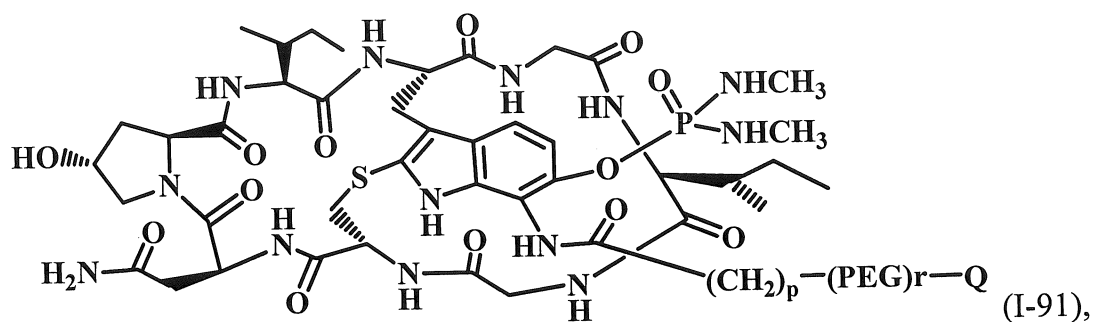


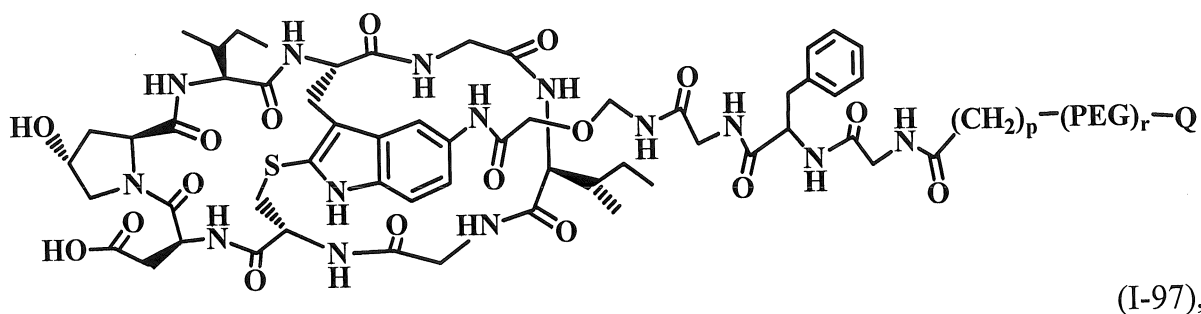
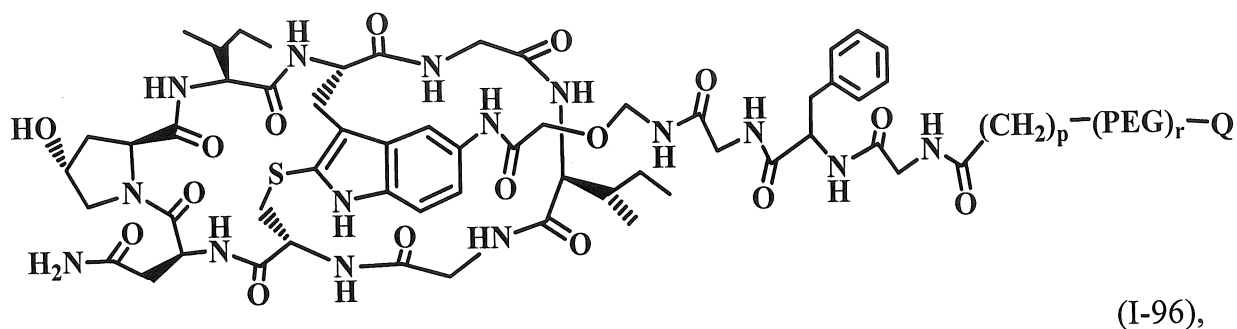
(I-75),





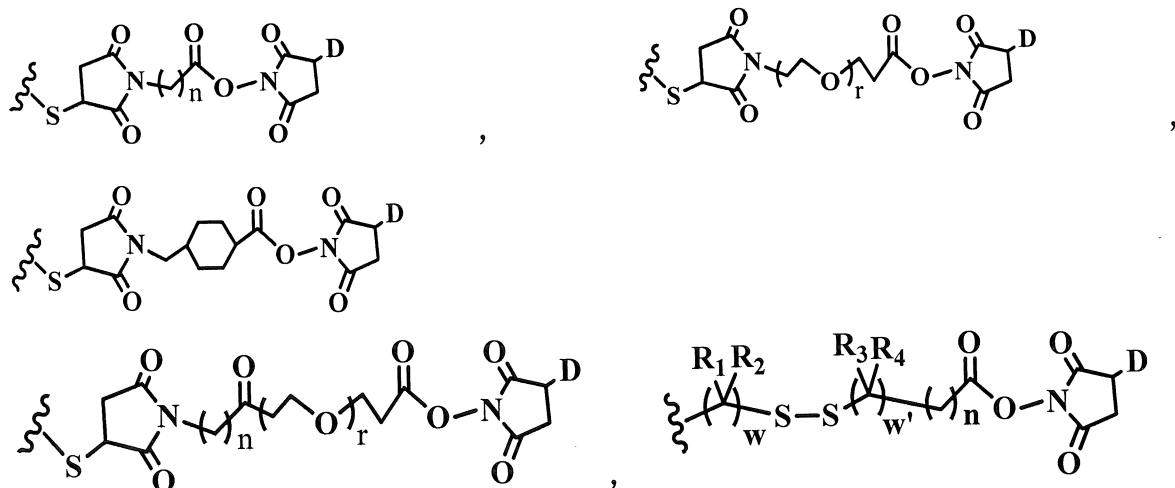


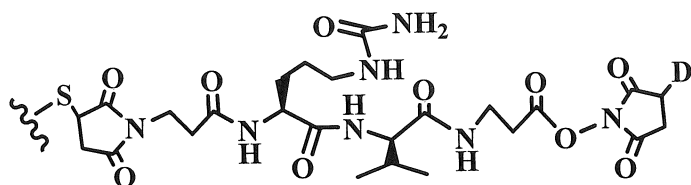




hoặc muối được dụng, hydrat, hoặc muối hydrat hoá, hoặc cấu trúc tinh thể đa hình của các hợp chất của chúng, hoặc các chất đồng phân dị cấu quang học, raxemat, các chất đồng phân không đối quang hoặc chất đồng phân đối ảnh.

Trong đó Aa, r, n, L và Q là giống như trong công thức (I). PEG là polyetylen glycol có công thức $-OCH_2CH_2-$. Tốt hơn, nếu Q là H, C_1-C_8 alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, nhóm vòng, xyclohetero, haloalkyl, alkoxy, haloalkoxy alkylamino; hoặc halogen; hoặc $-NO_2$; hoặc $-CN$; $-SH$; $-SSCH_3$; $-SSAc$; $-SSAr$; $-SS-Pyridin$; $-SS-Ar(-NO_2)$; chất gắn kết tế bào-S-; hoặc nhóm chức của este NHS, este pentafluorophenyl; alkyloxyamin; aldehyt; keton; axit carboxylic; hydrazin; amin; hoặc thiolacton; hoặc được liên kết với chất gắn kết tế bào qua đơn vị Stretcher (Ww) hoặc qua các đơn vị của nhóm đệm (Tt), trong đó W, w, T, và t là như được xác định trong Công thức (I); hoặc Q được chọn từ công thức bất kỳ trong số các công thức sau đây:



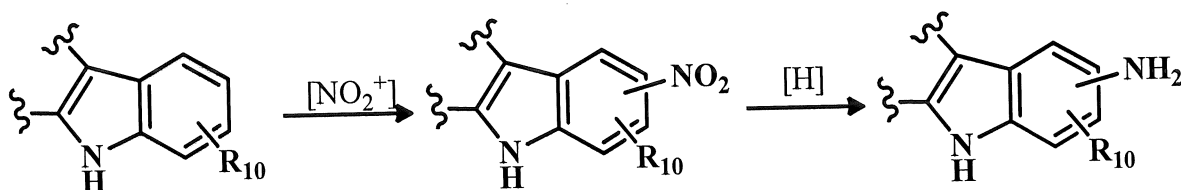


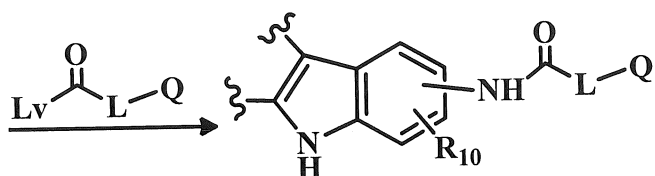
Trong đó D là H, $-\text{NO}_2$, SO_3^- , CN, hoặc F; R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , r, m, và n được mô tả trong công thức (I); w và w' độc lập bằng 0 hoặc 1.

Điều chế dẫn xuất có độc tố của nấm *Amanita* làm chất gây độc tế bào

Các hợp chất và quy trình theo sáng chế có thể được điều chế theo nhiều cách mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này đã biết rõ. Các hợp chất này có thể được tổng hợp, ví dụ, bằng cách sử dụng hoặc cải biến các phương pháp được mô tả trong các ví dụ, hoặc thay đổi các phương pháp này như người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này đã biết. Các cải biến và thay thế thích hợp sẽ trở nên dễ dàng và biết rõ hoặc có thể thu được dễ dàng với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này từ tài liệu khoa học. Cụ thể, các phương pháp này có thể được tìm thấy trong tài liệu của Richard C. Larock, "Comprehensive Organic Transformations, A Guide to Functional Group Preparations", Two Volume Set, 2nd Edition, Wiley Publishers, 2010.

Một khía cạnh được ưu tiên của phương pháp điều chế các dẫn xuất có độc tố của nấm *Amanita* này theo sáng chế là phương pháp bán tổng hợp. Do vậy, các hợp chất có cấu trúc nhân của các dẫn xuất có độc tố của nấm *Amanita* này được phân lập từ các loài nấm chứa các dẫn xuất này từ họ *Amanita*, *Galerina* và *Lepiota*, cụ thể là các loài *A. bisporigera*, *A. visosa*, *A. suballiacea*, *A. phalloides* và các loài cận thân thuộc (Hallen, H. E. et al, 2007 Proc. Nat. Acad. Sci. Mỹ, 104, 19097-101), hoặc được phân lập từ quá trình lên men bằng cách sử dụng nấm đấm, hoặc sử dụng nấm *A. fissa* (Guo, X. W., et al, 2006 Wei Sheng Wu Xue Bao 46(3): 373-8). Hợp chất độc tố phân lập được lần lượt được nitro hóa dây thorn của các đơn vị indol, sau đó khử nhóm nitro thành amin, và tiếp đó các hợp chất amin tạo thành được ngưng tụ với nhóm liên kết có nhóm carboxylic có khả năng phản ứng hoặc có thể phản ứng để tạo ra sự liên kết amit. Ví dụ về các bước bán tổng hợp được thể hiện dưới đây:





Trong đó R_{10} , L và Q được xác định giống như trong công thức (I). Trong đó L_v là nhóm rời chuyển được chọn từ OH, halogen, NHS (N-hydroxyl succinimit), nitrophenol, pentalflophenol, v.v..

Sự nitro hóa nêu trên có thể được thực hiện bằng cách sử dụng axit nitric, hoặc hỗn hợp chứa axit nitric và axit sulfuric, hoặc hỗn hợp chứa axit nitric và axit axetic tùy ý chứa anhydrit axetic, hoặc tert-Butyl nitrit (TBN), hoặc các muối nitrosoni (NO^+BF_4^- , $\text{NO}^+\text{ClO}_4^-$, NO^+PF_6^- , $\text{NO}^+\text{AsF}_6^-$, $\text{NO}^+\text{SbF}_6^-$), hoặc các muối nitroni ($\text{NO}^{2+}\text{BF}_4^-$, $\text{NO}^{2+}\text{ClO}_4^-$, $\text{NO}^{2+}\text{PF}_6^-$, $\text{NO}^{2+}\text{AsF}_6^-$, $\text{NO}^{2+}\text{SbF}_6^-$). Việc khử nhóm nitro thành amin có thể bằng nhiều cách khác nhau, như khử bằng cách hydro hóa có xúc tác sử dụng paladi trên cacbon, oxit platin (IV), hoặc Niken Raney; hoặc khử trực tiếp bằng cách sử dụng sắt trong môi trường axit, natri hydrosulfit; natri sulfua (hoặc hydro sulfua và bazơ), thiếc (II) clorua, titan (III) clorua, triphenylphosphin, trialkylphosphin, kẽm, hoặc samari. Ngưng tụ cuối nhóm amin với nhóm liên kết L chứa dẫn xuất axit carboxylic, $-\text{C}(\text{O})-\text{L}_v$. Trong đó L_v có thể được chọn từ F, Cl, Br, I, nitrophenol; N-hydroxysuccinimit (NHS); phenol; dinitrophenol; pentaflorphenol; tetraflorphenol; diflorphenol; monoflorphenol; pentaclophenol; triflat; imidazol; diclophenol; tetraclophenol; 1-hydroxybenzotriazol; tosylat; mesylat; 2-etyl-5-phenylisoxazoli-3'-sulfonat, chính các anhydrit được tạo ra, hoặc được tạo ra với anhydrit khác, ví dụ, anhydrit axetyl, anhydrit formyl. Khi L_v là nhóm OH, sự ngưng tụ với nhóm amin là nhờ chất phản ứng kết hợp, như chất kết hợp peptit, hoặc chất kết hợp dùng cho phản ứng Mitsunobu. Các chất phản ứng kết hợp này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: N-(3-dimetyl-amino-propyl)-N'-etylcarbodiimit (EDC), dixyclohexyl-carbodiimit(DCC), N,N'-diisopropyl-carbodiimit (DIC), N-xyclohexyl-N'-(2-morpholinoetyl)carbodiimit meto-p-toluenulfonat (CMC, or CME-CDI), 1,1'-cacbonyldiimidazol (CDI), O-(benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluronium tetraflorborat (TBTU), N,N,N',N'-tetrametyl-O-(1H-benzotriazol-1-yl)uroni hexaflorphosphat (HBTU), benzotriazol-1-yloxy)tris(dimetyl-amino)phosphoni hexaflorphosphat (BOP), (benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophos-phonium hexaflorphosphat (PyBOP), dietyl xyanophosphonat (DEPC), clo-N,N,N',N'-

tetrametylformamidini hexaflophosphat, 1-[bis(dimetylamino)-metylen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridini 3-oxit hexaflophosphat (HATU), 1-[(dimetylamino)(morpholino) metylen]-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]pyridin-1-ium 3-oxit hexaflophosphat (HDMA), 2-clo-1,3-dimetylimidazolidini hexaflophosphat (CIP), clotripyrolidinophosphoni hexaflophosphat (PyCloP), flo-N,N,N',N'-bis(tetrametylen)formamidini hexaflophosphat (BTFFH), N,N,N',N'-tetrametyl-S-(1-oxido-2-pyridyl)thiuronium hexaflophosphat, O-(2-oxo-1(2H)pyridyl)-N,N,N',N'-tetrametyluroni tetrafloroborat (TPTU), S-(1-oxido-2-pyridyl)-N,N,N',N'-tetrametylthiuronium tetrafloroborat, O-[(etoxycacbonyl) xyano-metylenamino]-N,N,N',N'-tetrametyluroni hexaflophosphat (HOTU), (1-xyano-2-etoxi-2-oxoetylidenaminoxy) dimetylamino-morpholino-carbeni hexaflophosphat (COMU), O-(benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-bis(tetrametylen) uroni hexaflophosphat (HBPyU), N-benzyl-N'-xyclohexylcarbodiimit (có hoặc không có sự liên kết với polyme), dipyrolidino(N-succinimidyl)carbeni hexaflophosphat (HSPyU), clodipyrolidinocarbeni hexaflophosphat (PyCIU), 2-clo-1,3-dimetylimidazolidini tetrafloroborat (CIB), (benzotriazol-1-yloxy) dipiperidinocarbeni hexaflophosphat (HBPipU), O-(6-clobenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluroni tetrafloroborat (TCTU), bromtris(dimetylamino)-phosphoni hexaflophosphat (BroP), anhydrit propylphosphonic (PPACA, T3P[®]), 2-morpholinoetyl isoxyanua (MEI), N,N,N',N'-tetrametyl-O-(N-succinimidyl)uroni hexaflophosphat (HSTU), 2-bromo-1-etylpyridini tetrafloroborat (BEP), O-[(etoxycacbonyl)xyanometylenamino]-N,N,N',N'-tetrametyl-uroni tetrafloroborat (TOTU), 4-(4,6-dimetoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-metyl-morpholini clorua (MMTM, DMTMM), N,N,N',N'-tetrametyl-O-(N-succinimidyl)uroni tetrafloroborat (TSTU), O-(3,4-dihydro-4-oxo-1,2,3-benzotriazin-3-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluroni tetrafloroborat (TDBTU), 1,1'-(azodicacbonyl)dipiperidin (ADD), di-(4-clobenzyl) azodicarboxylat (DCAD), di-tert-butyl azodicarboxylat (DBAD), diisopropyl azodicarboxylat (DIAD), dietyl azodicarboxylat (DEAD).

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất quy trình tổng hợp hóa học dẫn xuất có độc tố của nấm Amanita có công thức (I), các quy trình này được thể hiện trên các hình vẽ từ Fig.1 đến Fig.28. Các quy trình tổng hợp điều chế có thể ở pha rắn, pha dung dịch hoặc tổ hợp của pha rắn và pha dung dịch.

Do các chất gây độc tế bào có công thức (I) của sáng chế chứa các nguyên tử

cacbon được thể theo cách không đối xứng, và có thể được phân lập ở dạng có hoạt tính quang học hoặc dạng raxemic, tất cả các dạng không đối xứng, dạng đồng phân không đối quang, dạng raxemic và tất cả các dạng đồng phân dị hình của cấu trúc đều được dự định, trừ khi dạng đồng phân hoặc hóa học lập thể cụ thể được chỉ rõ cụ thể. Phương pháp điều chế và phân lập các dạng có hoạt tính quang học này là đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, các hỗn hợp của chất đồng phân lập thể có thể được tách bằng các kỹ thuật chuẩn bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phương pháp phân giải các dạng raxemic, phương pháp sắc ký bình thường, phương pháp sắc ký pha ngược, và phương pháp sắc ký không đối xứng, phương pháp tạo muối chọn lọc, phương pháp tái kết tinh, và phương pháp tương tự, hoặc bằng phương pháp tổng hợp không đối xứng hoặc từ nguyên liệu ban đầu không đối xứng hoặc bằng phương pháp tổng hợp thận trọng các tâm không đối xứng đích.

Các chất gây độc tế bào theo sáng chế có thể được điều chế bằng nhiều con đường tổng hợp. Các chất phản ứng và nguyên liệu ban đầu có bán trên thị trường, hoặc được tổng hợp dễ dàng bằng các kỹ thuật đã biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Tất cả các nhóm thể, trừ khi được chỉ rõ theo cách khác, là như được xác định trước đó.

Trong các phản ứng tổng hợp của các chất gây độc tế bào theo sáng chế, có thể cần bảo vệ các nhóm chức có khả năng phản ứng, ví dụ, các nhóm hydroxy, amino, imino, thio hoặc carboxy, trong đó các nhóm này là nhóm mong muốn trong sản phẩm cuối, để tránh sự tham gia không mong muốn của chúng trong các phản ứng. Các nhóm bảo vệ thông thường có thể được sử dụng trong theo phương pháp thực hành chuẩn, ví dụ, xem tài liệu của Peter G. M. Wuts, Theodora W. Greene trong "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", 4th Edition, John Wiley and Sons, 2006; tài liệu của Ian T. Harrison, Shuyen Harrison trong "Compendium of Organic Synthetic Methods", Vol 1, 2 Vols. 1& 2 By Ian T. Harrison & Shuyen Harrison, Vols 3~5 by Louis S. Hegedus, Leroy Wade Vols 6~Vol 12 by Michael B. Smith, John Wiley and Sons, 2006~2012.

Thông thường, các phản ứng tổng hợp được tiến hành trong các dung môi, nhiệt độ và thời gian thích hợp. Nhiều dung môi không có ảnh hưởng có hại đến phản ứng hoặc đến các chất phản ứng tham gia có thể được sử dụng trong phản ứng tổng hợp chất gây độc tế bào. Ví dụ về các dung môi thích hợp bao gồm: hydrocacbon, hydrocacbon này có

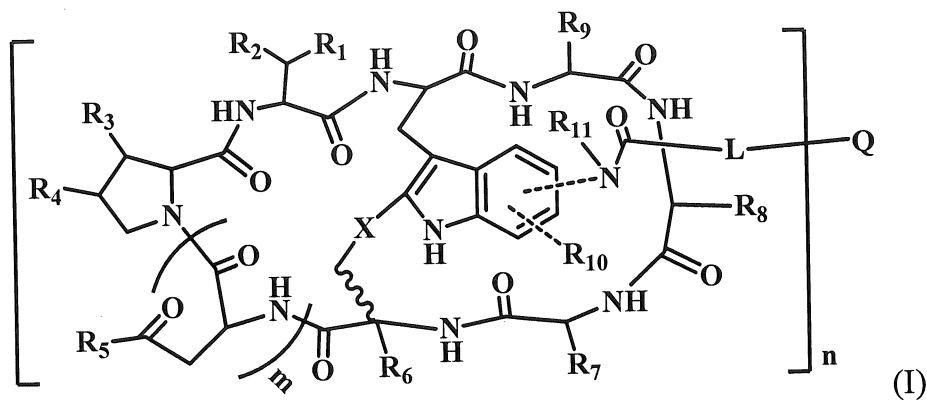
thể là hydrocacbon thơm, hydrocacbon béo hoặc hydrocacbon vòng béo, như hexan, xyclohexan, benzen, toluen và xilen; các hydrocacbon chứa halogen, như clorofom, diclometan, dicloetan; các amit, như dimethylactamit hoặc dimethylformamit; các rượu như propanol, etanol hoặc metanol, và các ete, như dietyl ete, tetrahydrofuran, hoặc dioxan. Các phản ứng có thể xảy ra trong khoảng nhiệt độ rộng, nằm trong khoảng từ -100°C đến 300°C , tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0°C đến 100°C . Thời gian cần thiết cho phản ứng tổng hợp cũng có thể thay đổi trong khoảng rộng, tùy thuộc vào nhiều yếu tố, đặc biệt là nhiệt độ phản ứng và tính chất của các chất phản ứng và có thể nằm trong khoảng từ 5 giây đến 4 tuần, tốt hơn nữa là từ 10 phút đến 20 giờ. Ngoài ra, các chất gây độc tế bào điều chế được có thể được phân lập hoặc tinh chế ra khỏi hỗn hợp phản ứng bằng các phương pháp thông thường, như làm bay hơi hoặc chưng cất hết dung môi ra khỏi hỗn hợp phản ứng, hoặc sau khi chưng cất dung môi ra khỏi hỗn hợp phản ứng, rót phần cặn vào nước, sau đó chiết bằng dung môi hữu cơ không trộn lẫn được với nước và sau đó chưng cất hết dung môi ra khỏi chất chiết. Quá trình này cũng có thể bao gồm nhiều kỹ thuật đã biết rõ, như tái kết tinh, tái kết tủa hoặc các kỹ thuật sắc ký khác nhau, đặc biệt là phương pháp sắc ký cột, phương pháp sắc ký lớp mỏng điều chế, hoặc phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

Một số phản ứng tổng hợp các chất gây độc tế bào và các thể liên hợp của chúng với chất gắn kết tế bào được minh họa thêm, nhưng không bị giới hạn, trên các hình vẽ từ Fig.1 đến Fig.28 và trong các ví dụ từ 1 đến 70 của bản mô tả này.

Thể liên hợp của chất liên kết tế bào-chất gây độc tế bào

Sáng chế cũng đề cập đến thể liên hợp phân tử chứa ít nhất một dẫn xuất có độc tố của nấm *Amanita* được liên kết cộng hóa trị với chất gắn kết tế bào (CBA) bằng nhóm liên kết của nhóm liên kết ngang (L). Tốt hơn, nếu thể liên hợp này chứa từ một đến hai mươi phân tử của dẫn xuất có độc tố của nấm *Amanita* theo sáng chế được liên kết cộng hóa trị với chất gắn kết tế bào qua nhóm liên kết của nhóm liên kết của dẫn xuất có độc tố của nấm *Amanita*.

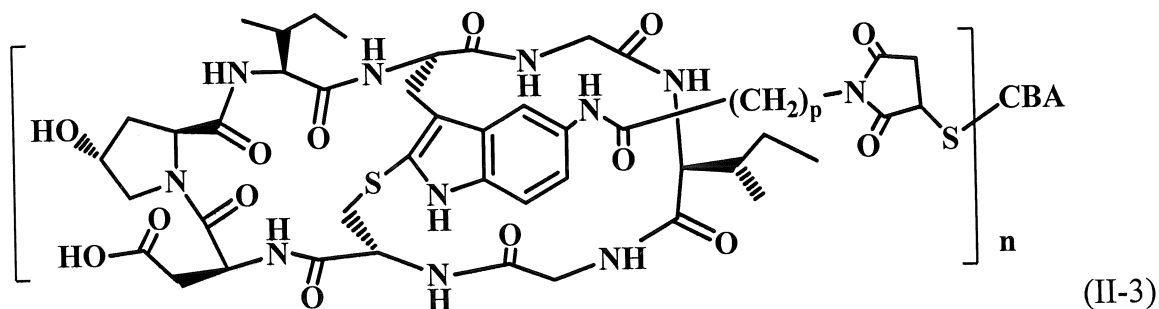
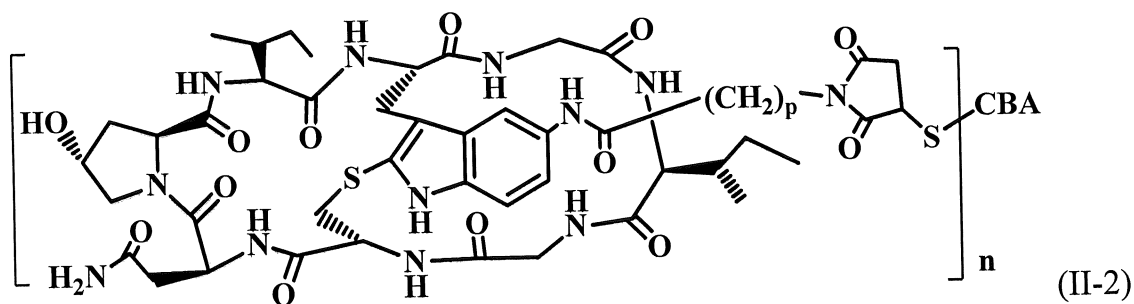
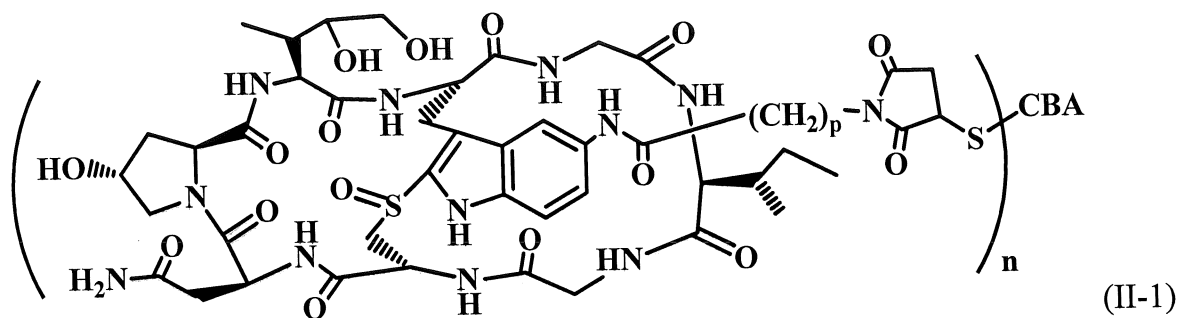
Như đã nêu trên đây, thể liên hợp của phân tử gắn kết bề mặt tế bào - chất gây độc tế bào được thể hiện trong Công thức (I):

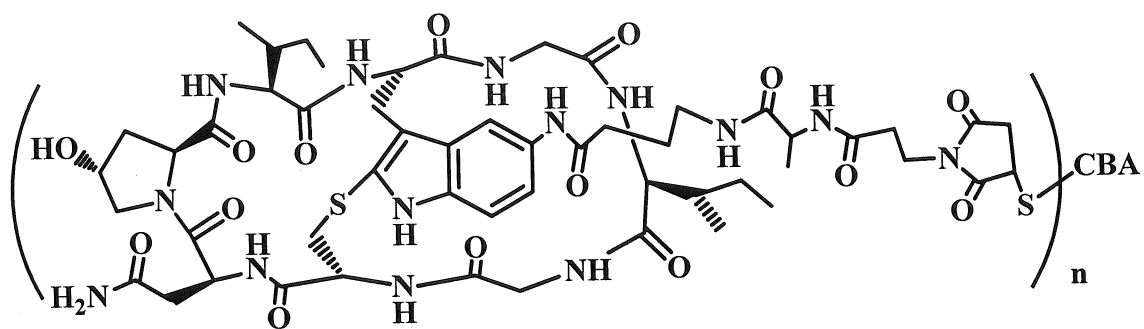


hoặc các muối, hydrat, hoặc muối hydrat hóa được dựng của nó; hoặc các cấu trúc tinh thể đa hình của các hợp chất này; hoặc các chất đồng phân dị cấu quang học, raxemat, chất đồng phân không đối quang hoặc chất đồng phân đối ảnh của chúng.

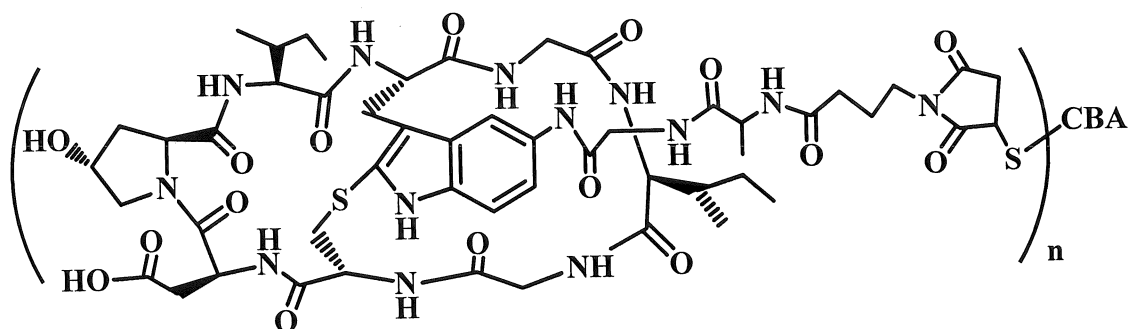
trong đó R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} , R_{11} , L , m , n và Q được mô tả giống như trong Công thức (I) trên đây. L là cụm liên kết cộng hóa trị của phân tử liên kết tế bào- nhóm liên kết được ưu tiên.

Theo một số phương án, các thể liên hợp của sáng chế được thể hiện trong công thức sau:

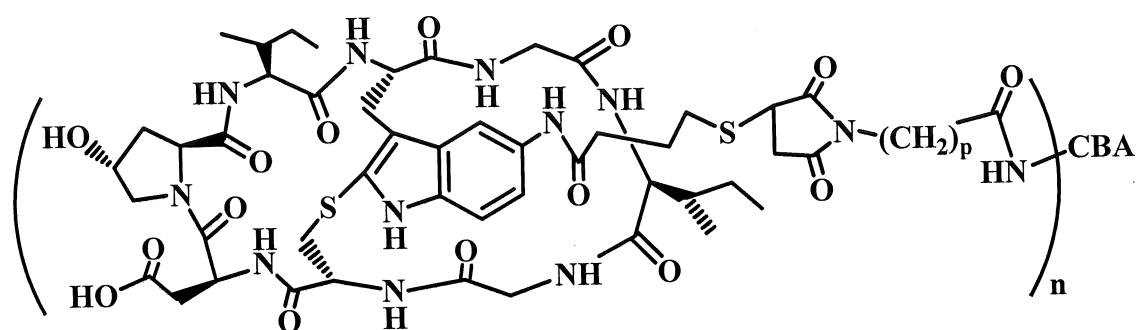




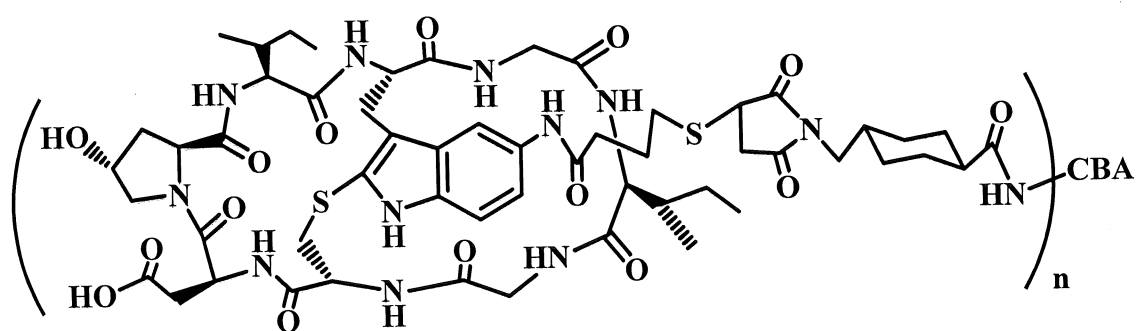
(II-4)



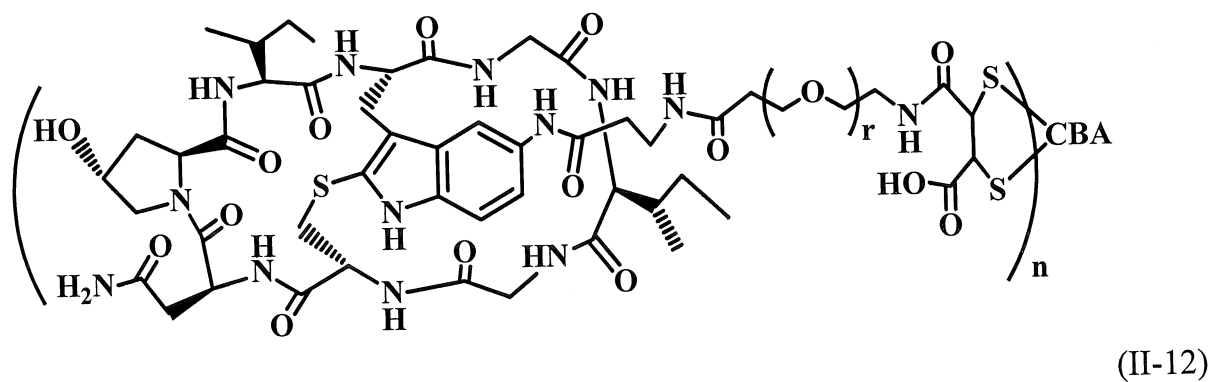
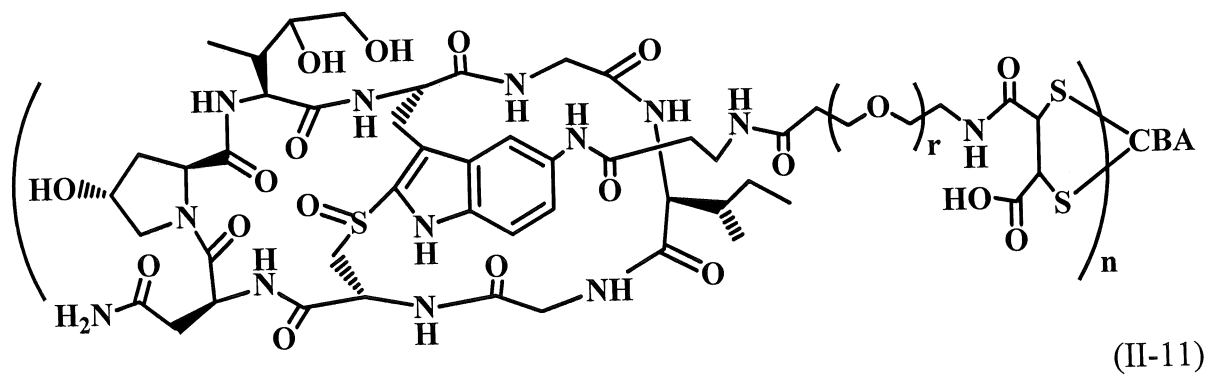
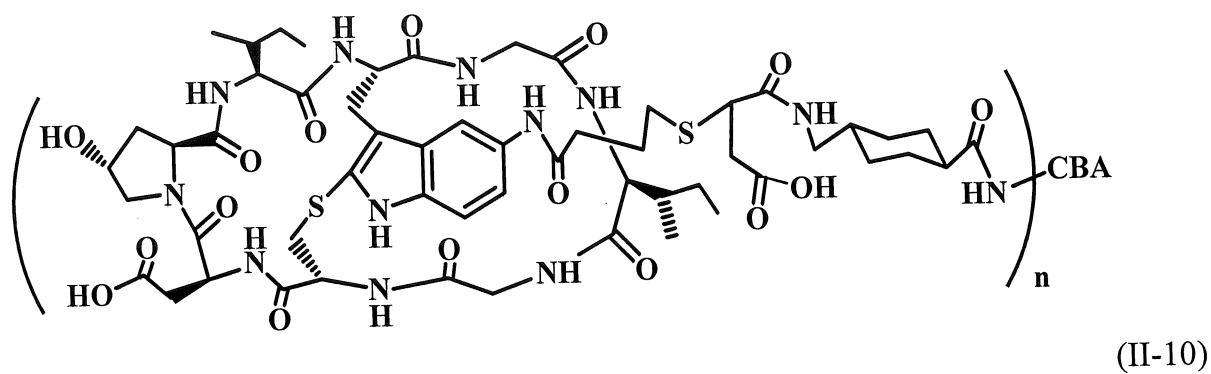
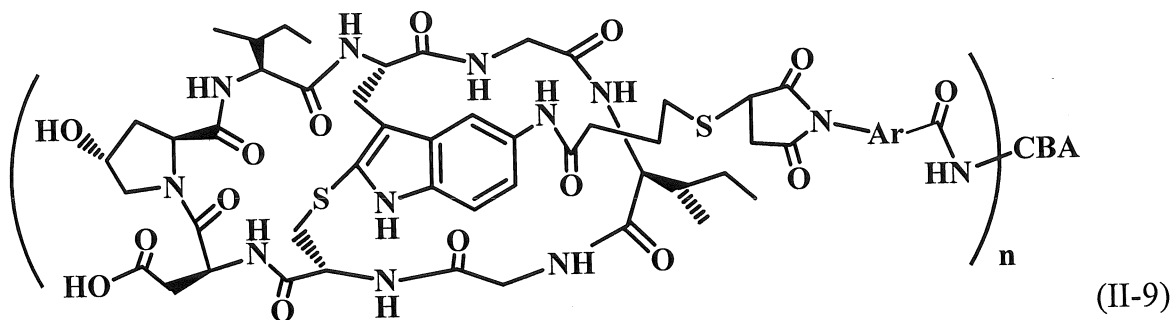
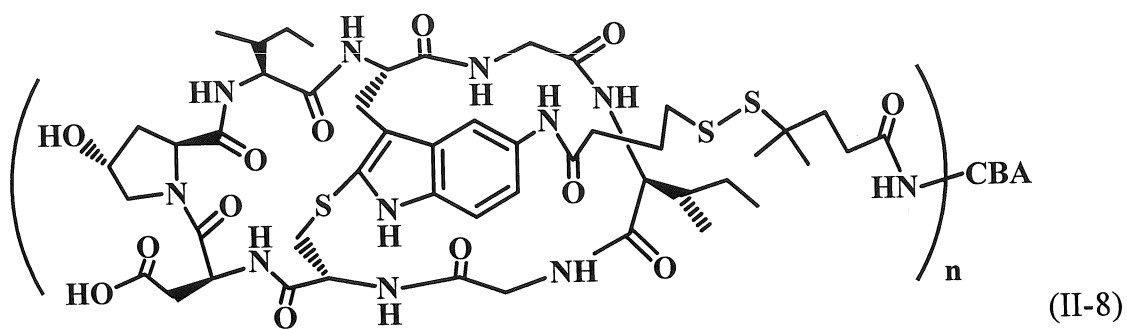
(II-5)

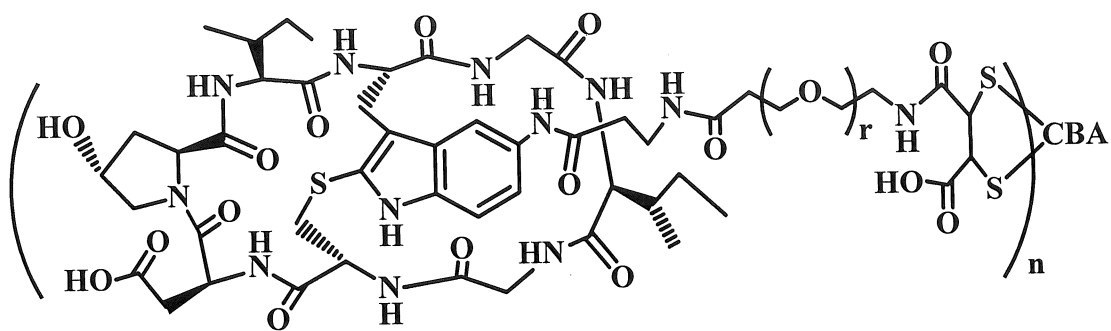


(II-6)

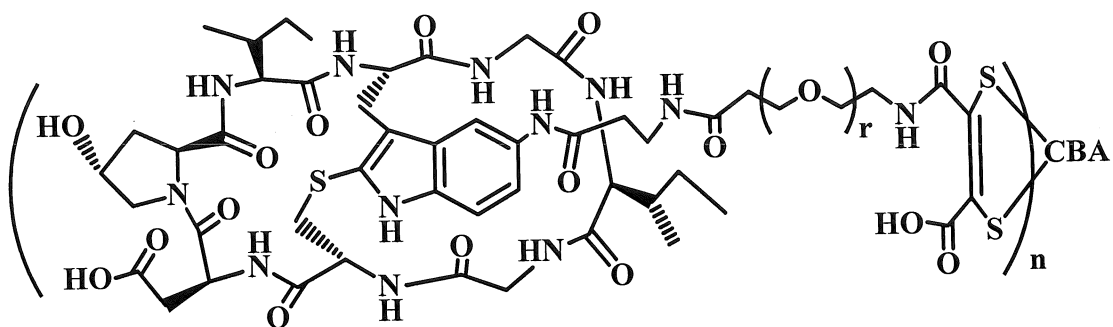


(II-7)

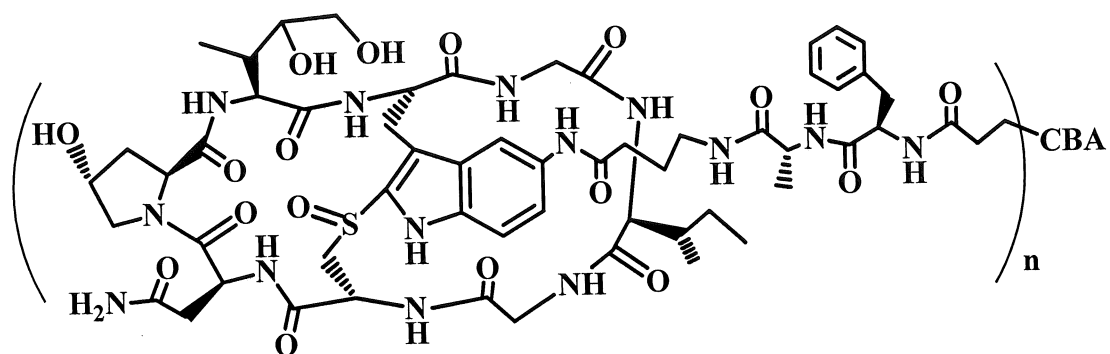




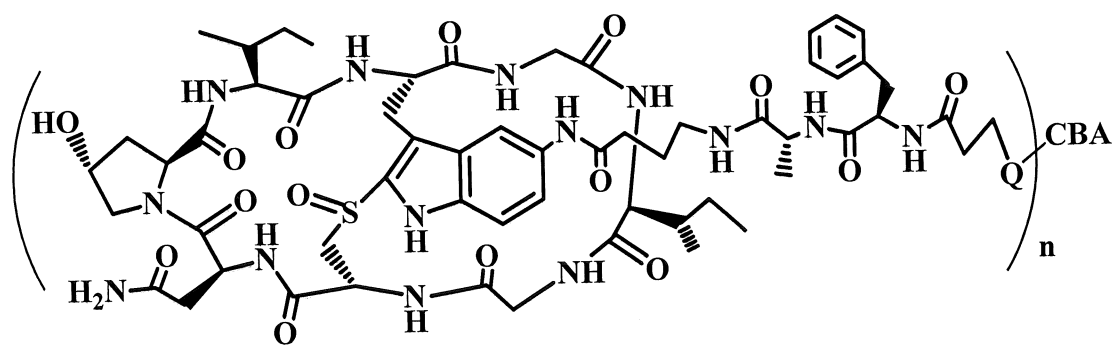
(II-13)



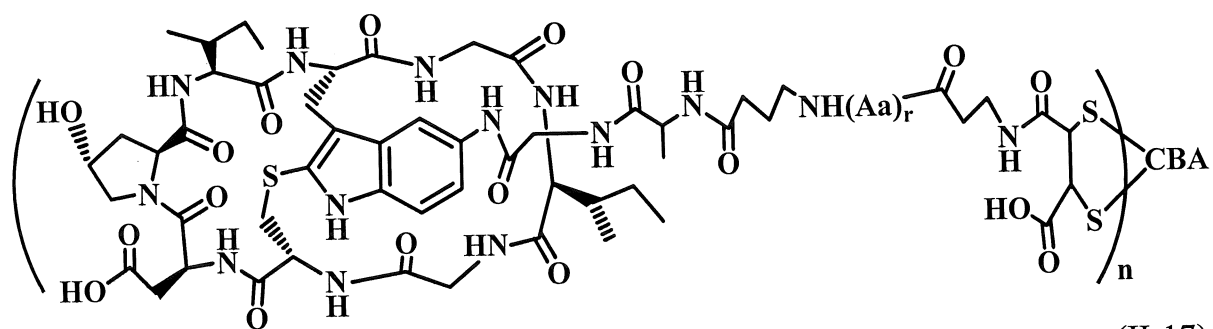
(II-14)



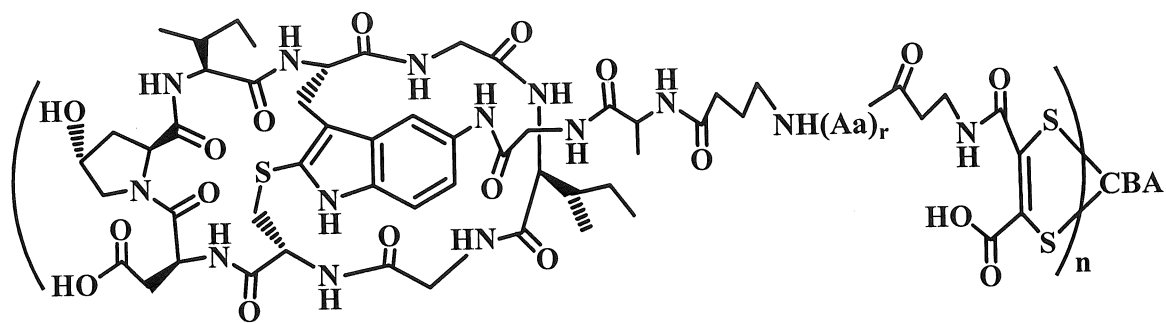
(II-15)



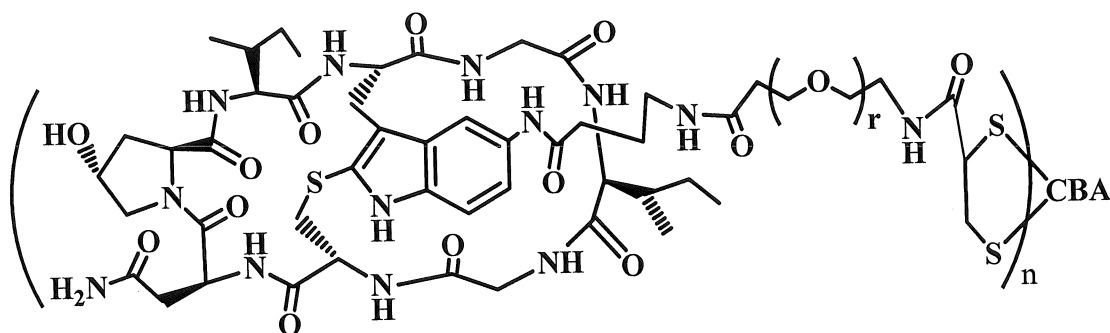
(II-16)



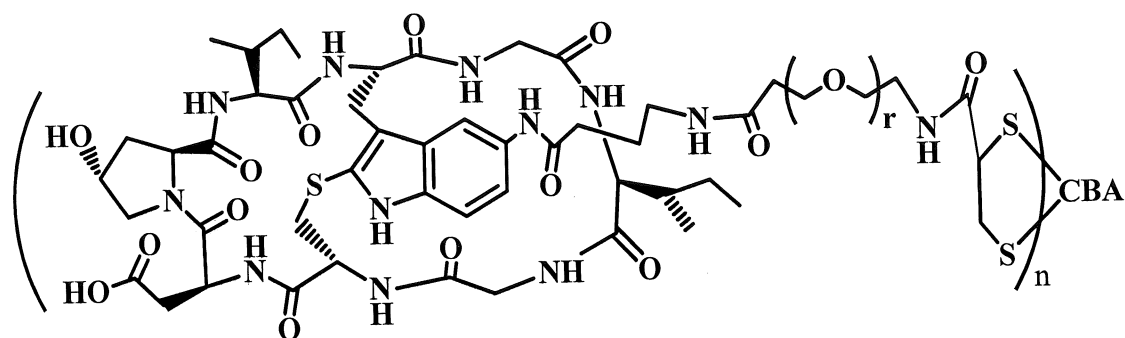
(II-17)



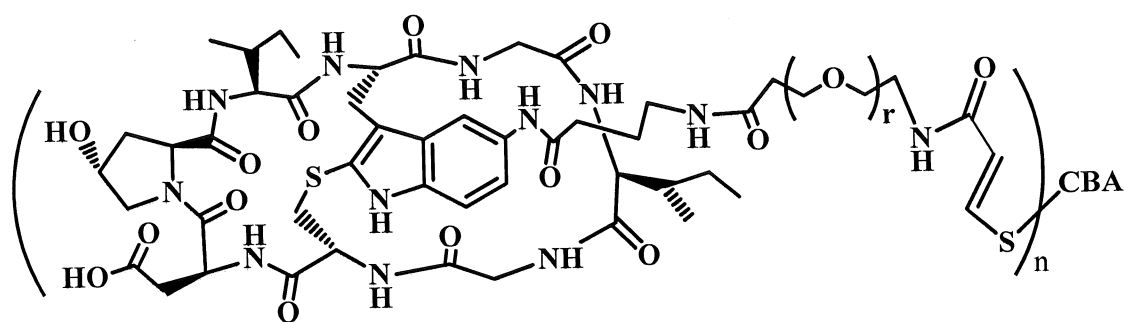
(II-18)



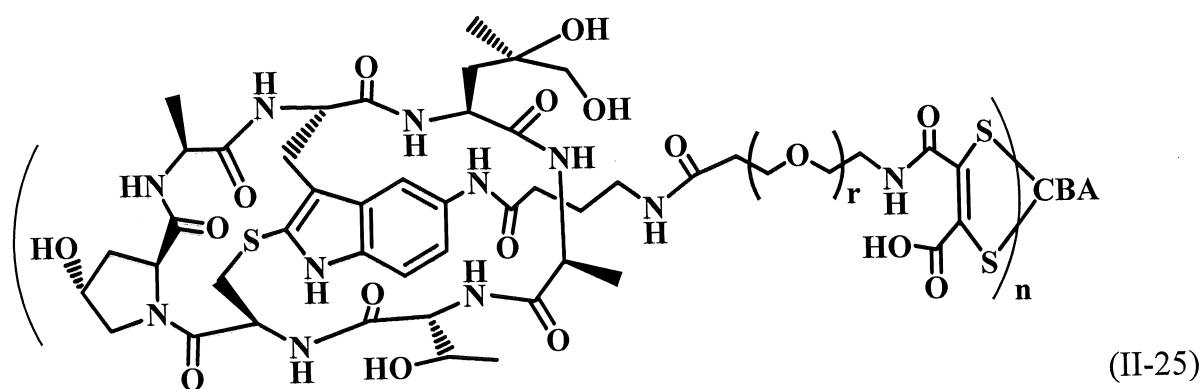
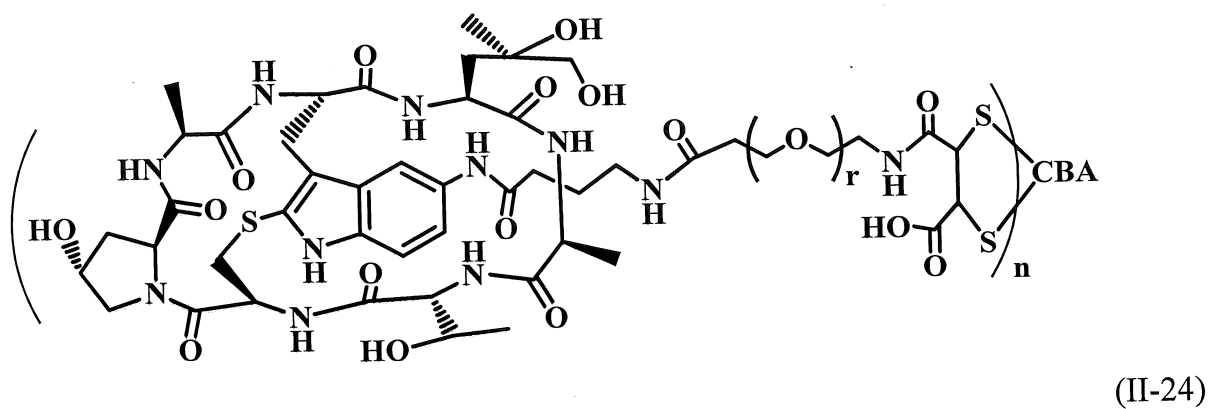
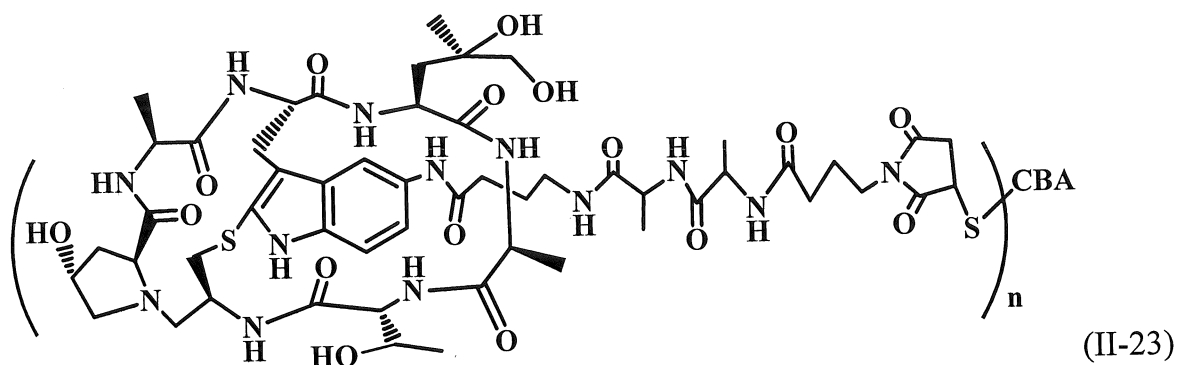
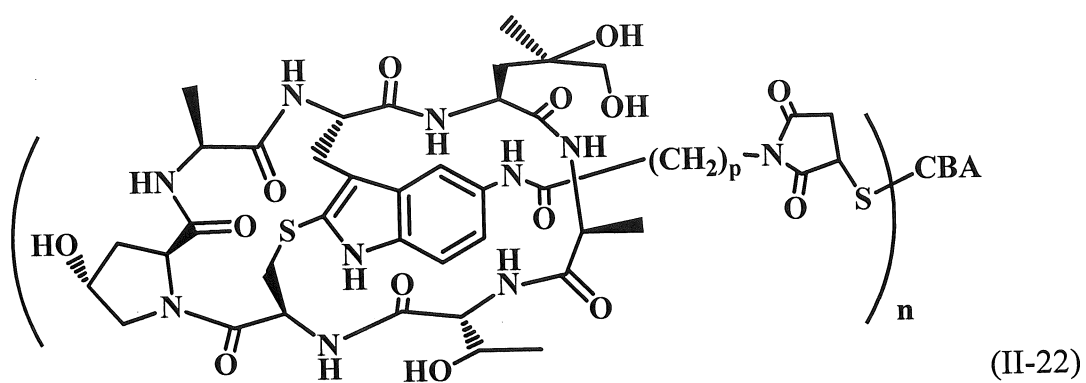
(II-19)

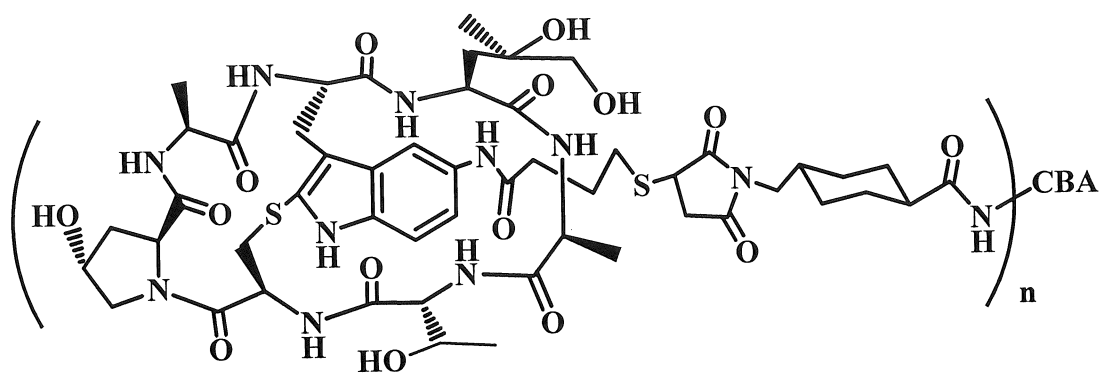


(II-20)

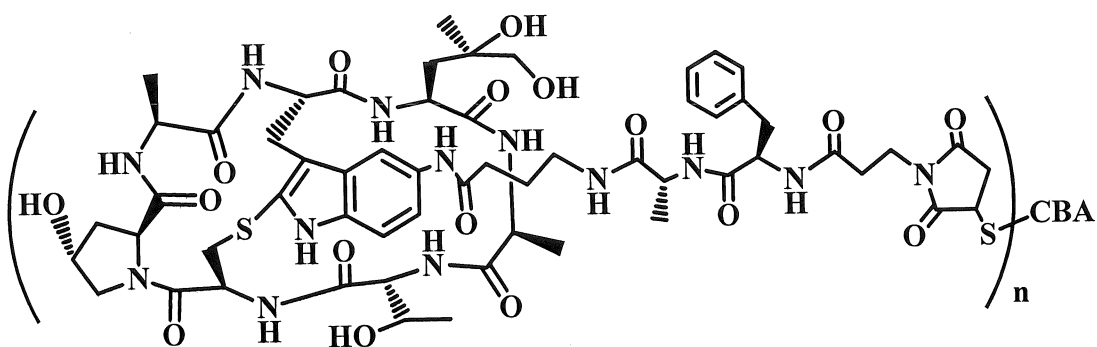


(II-21)

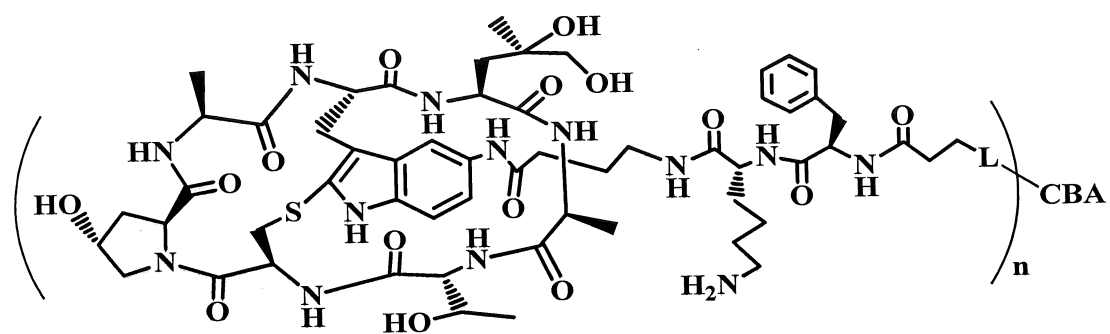




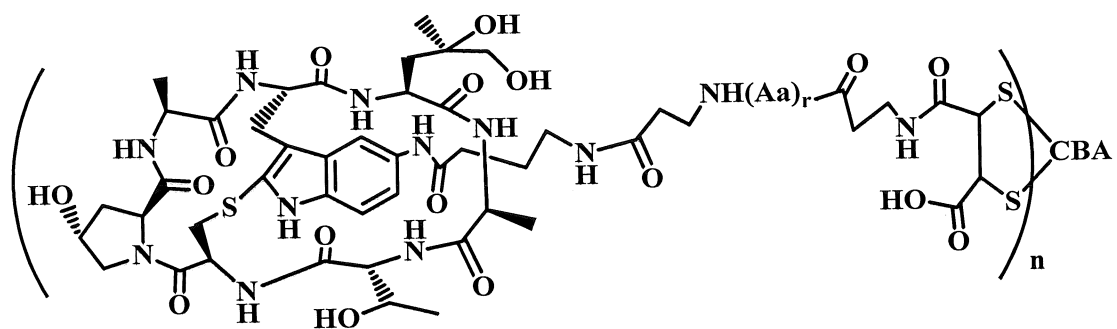
(II-26)



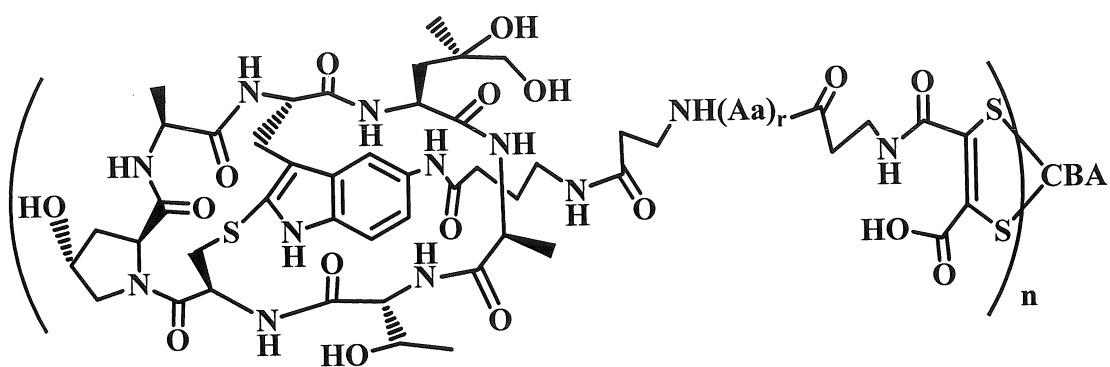
(II-27)



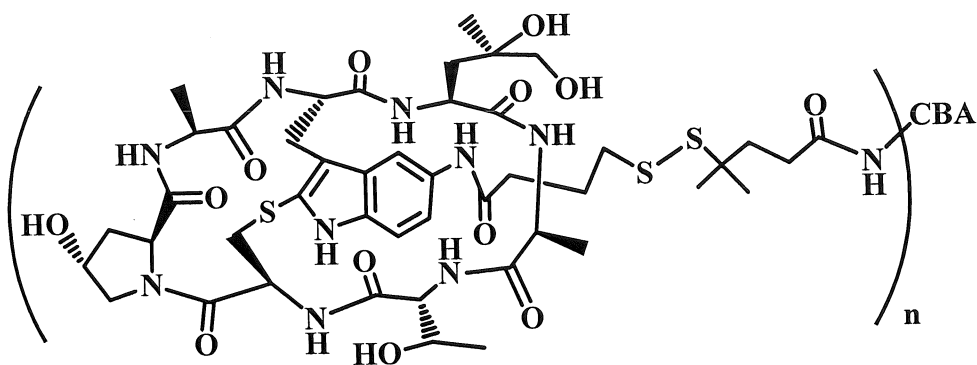
(II-28)



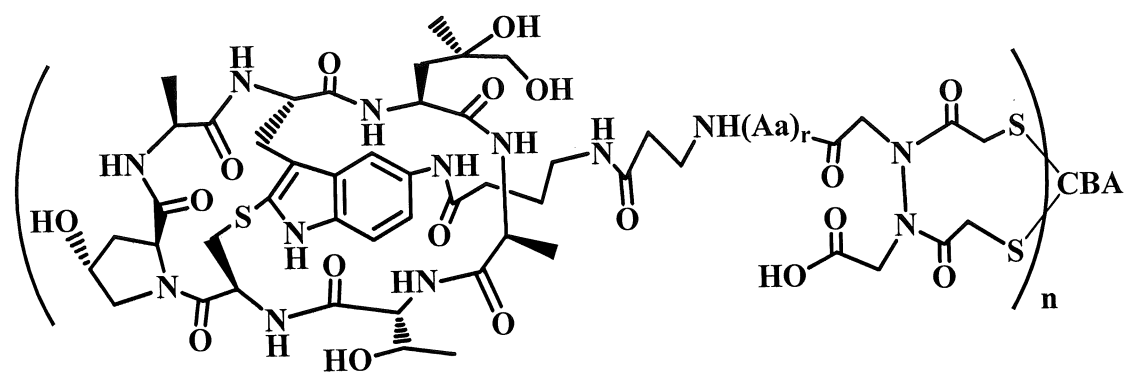
(II-29)



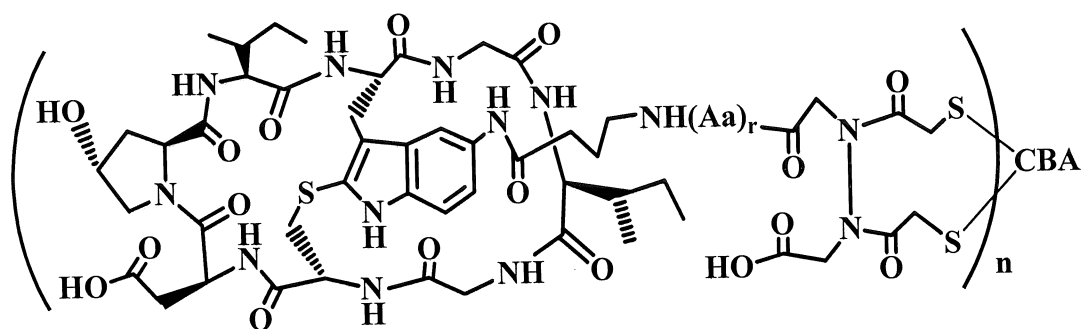
(II-30)



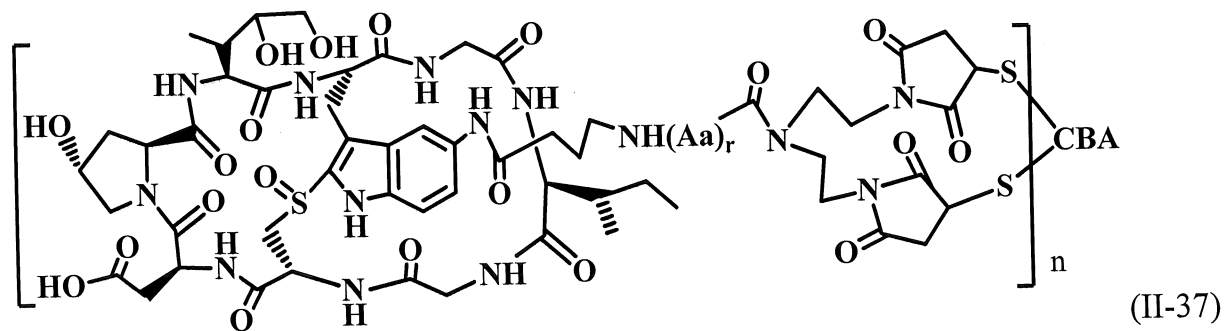
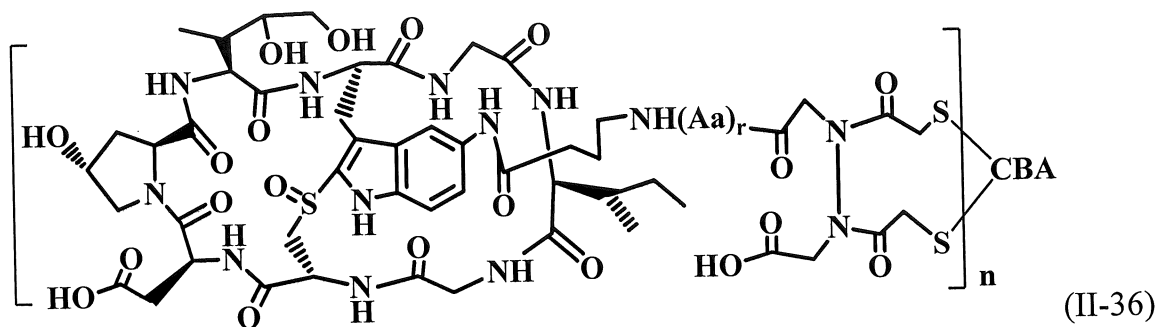
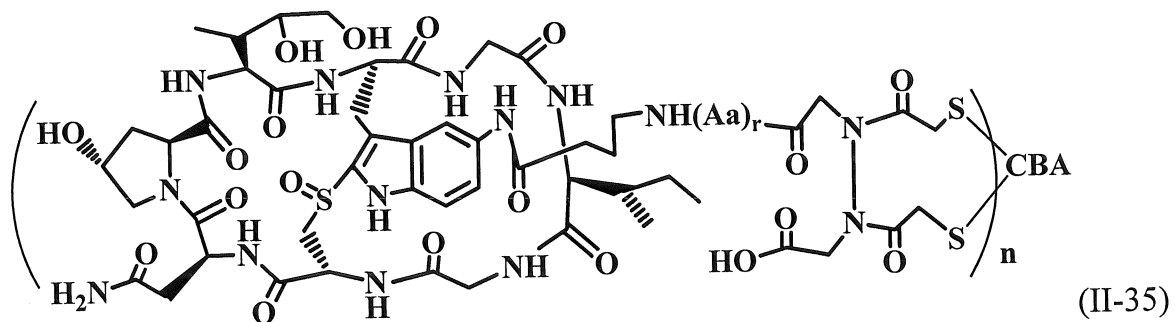
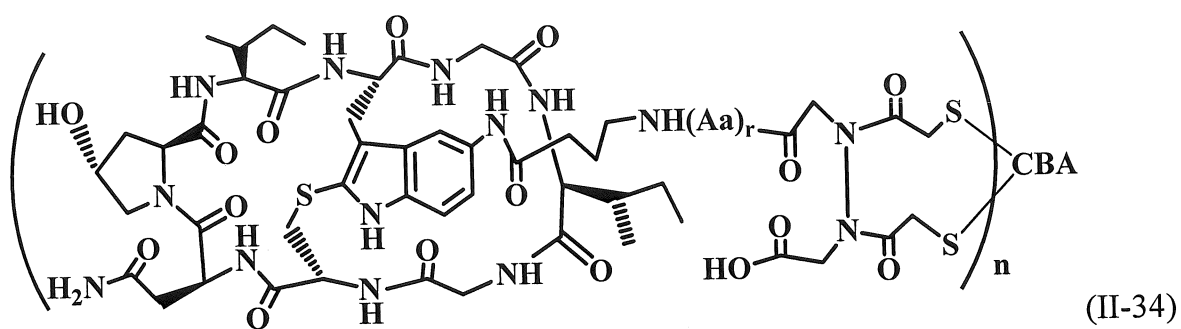
(II-31)

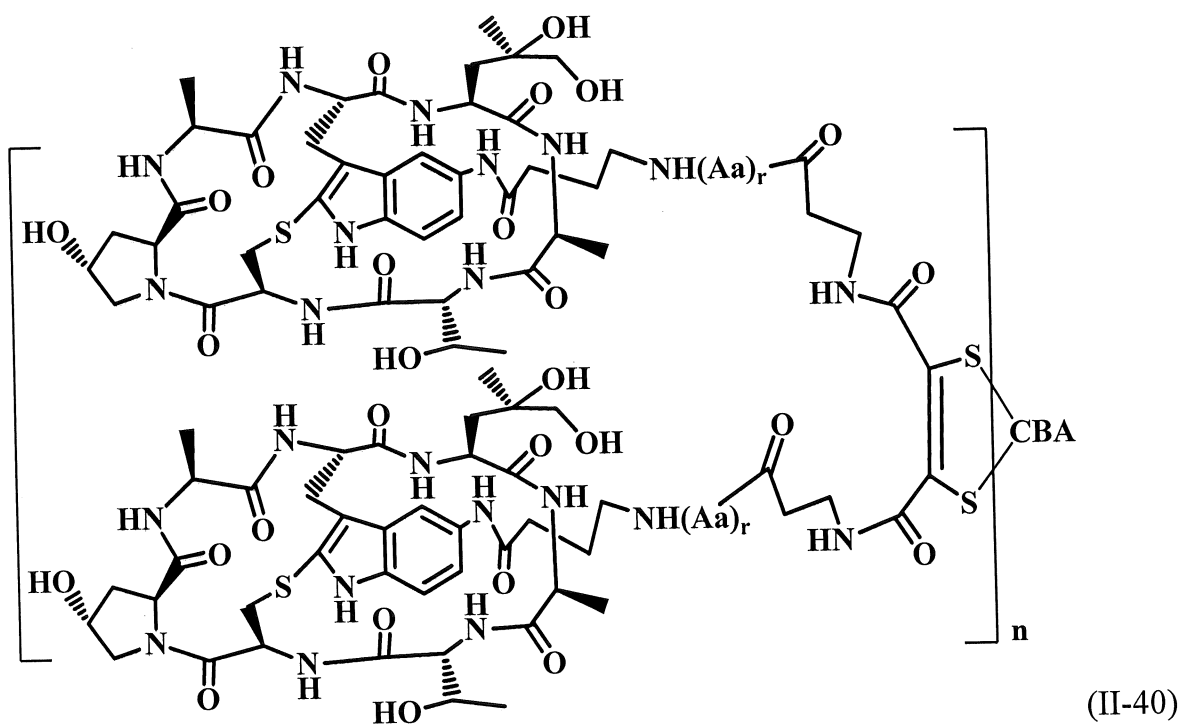
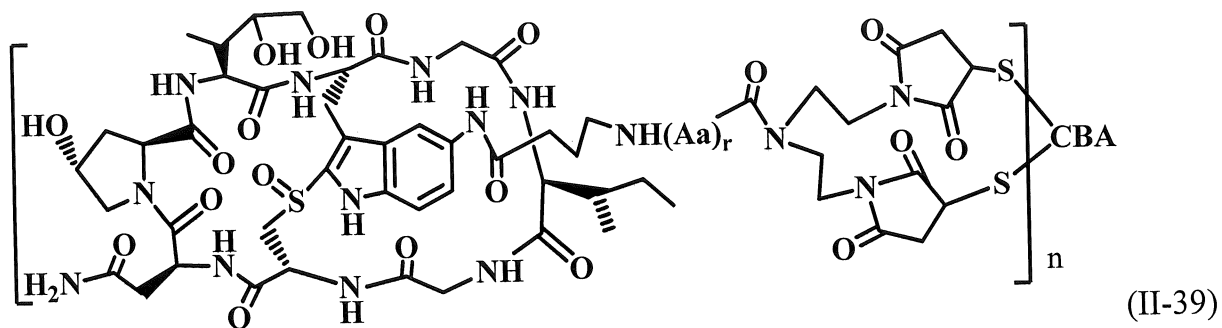
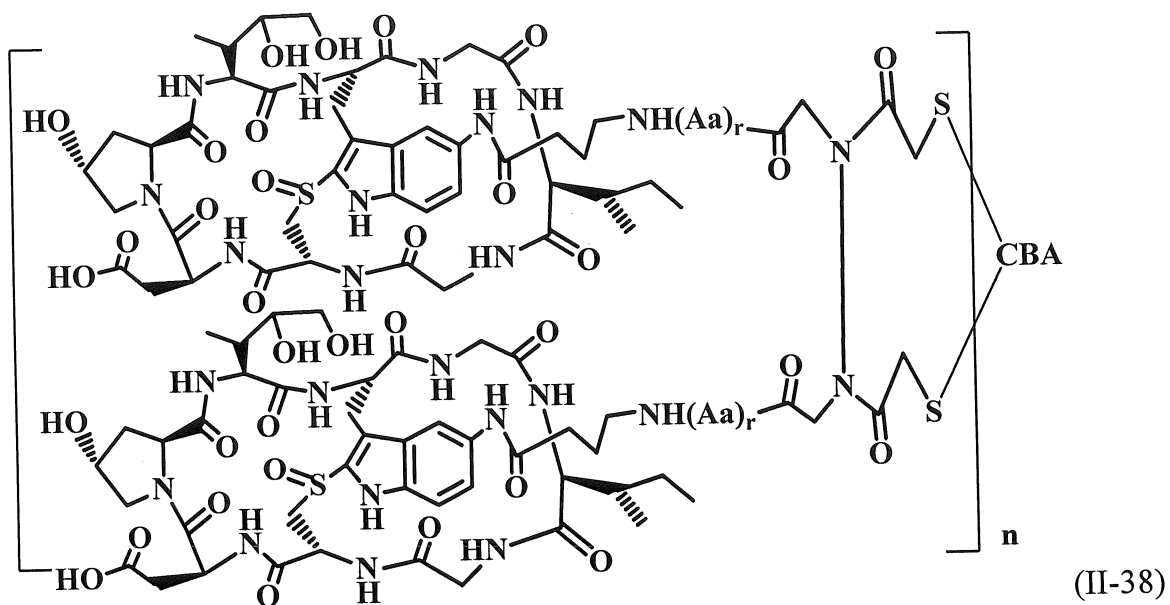


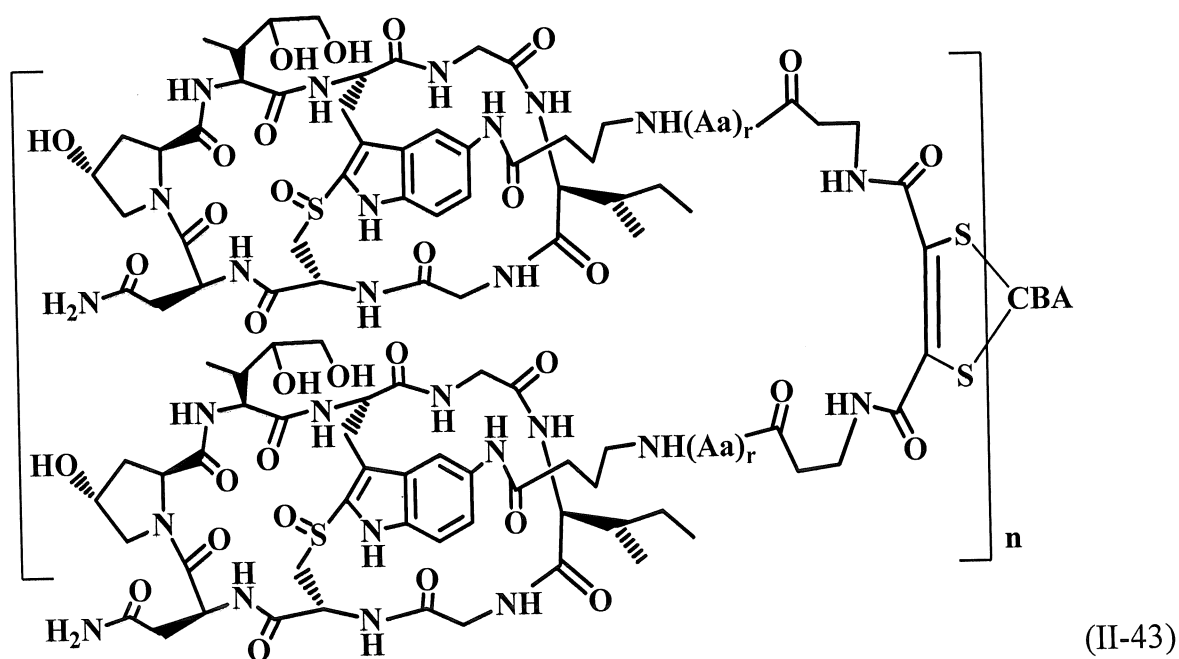
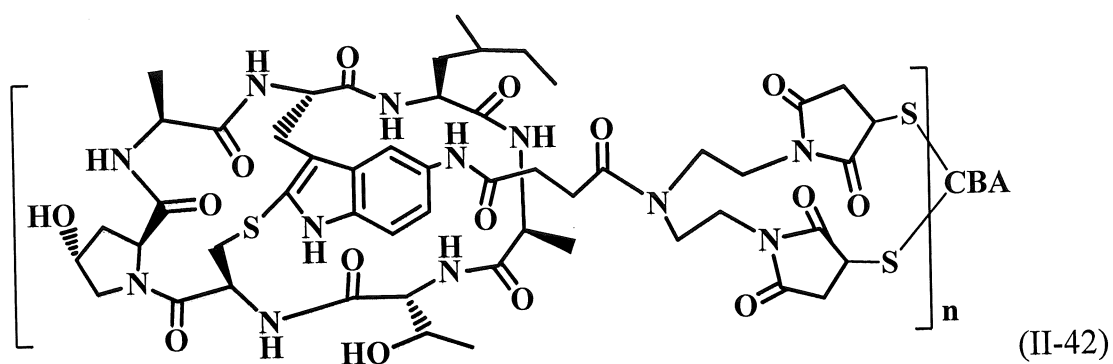
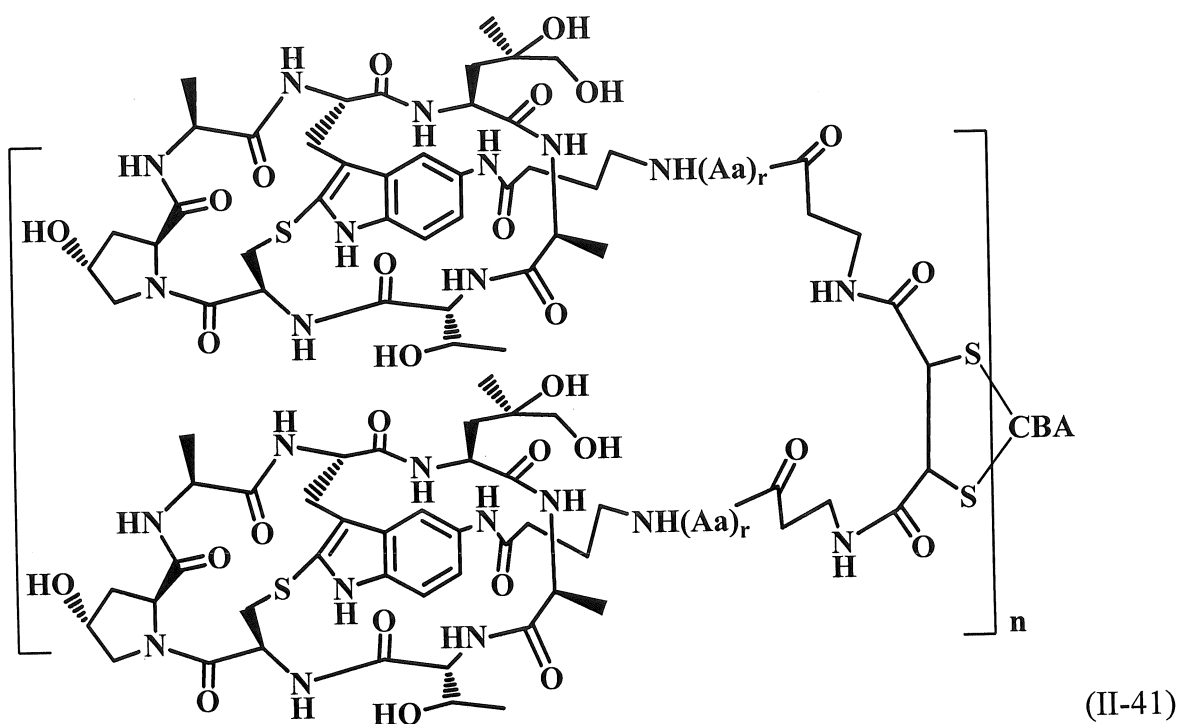
(II-32)

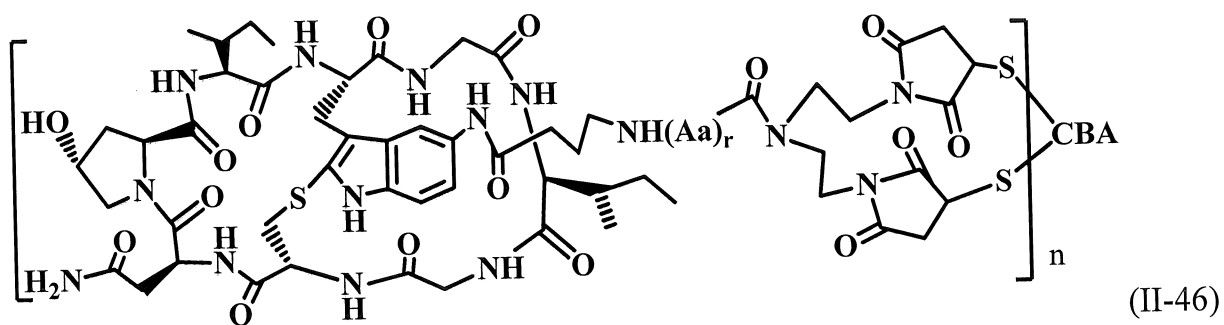
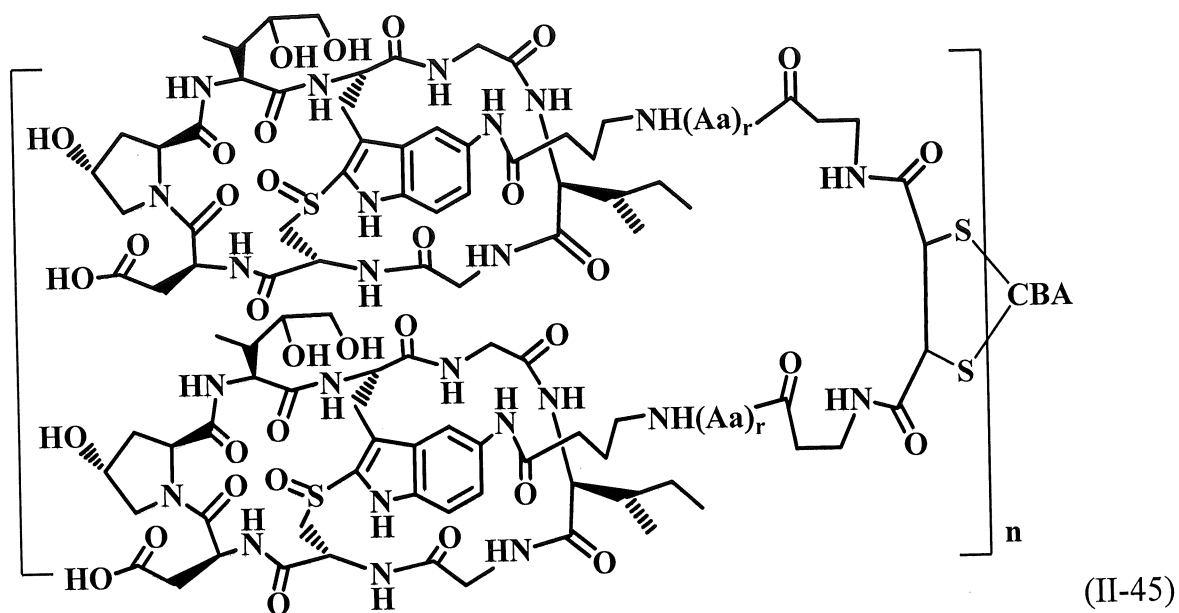
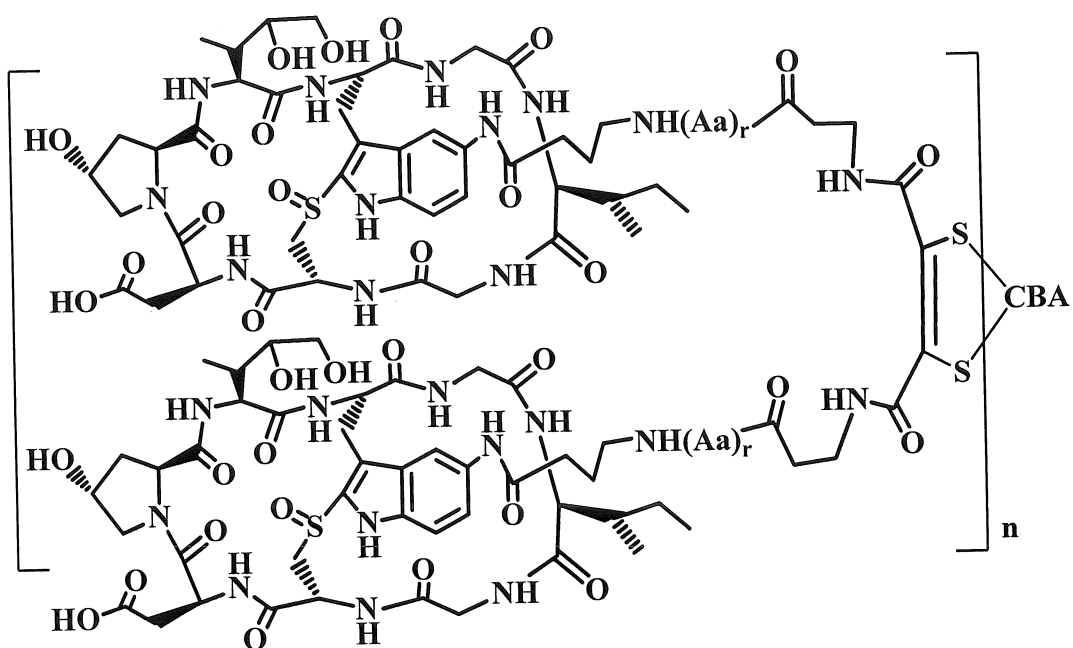


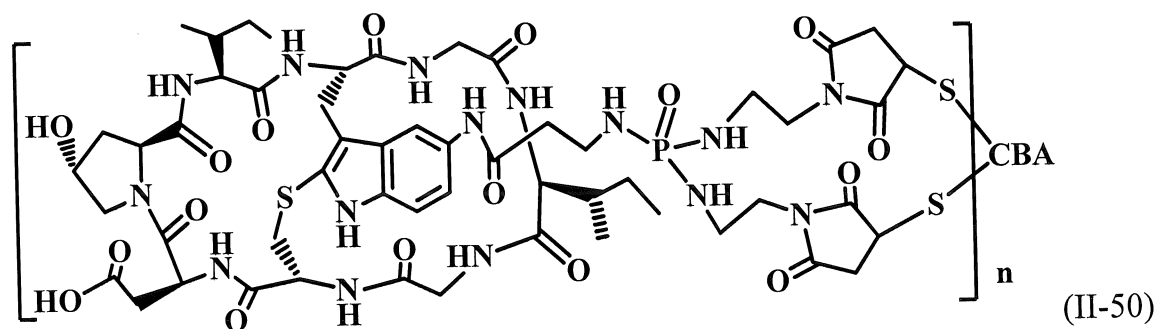
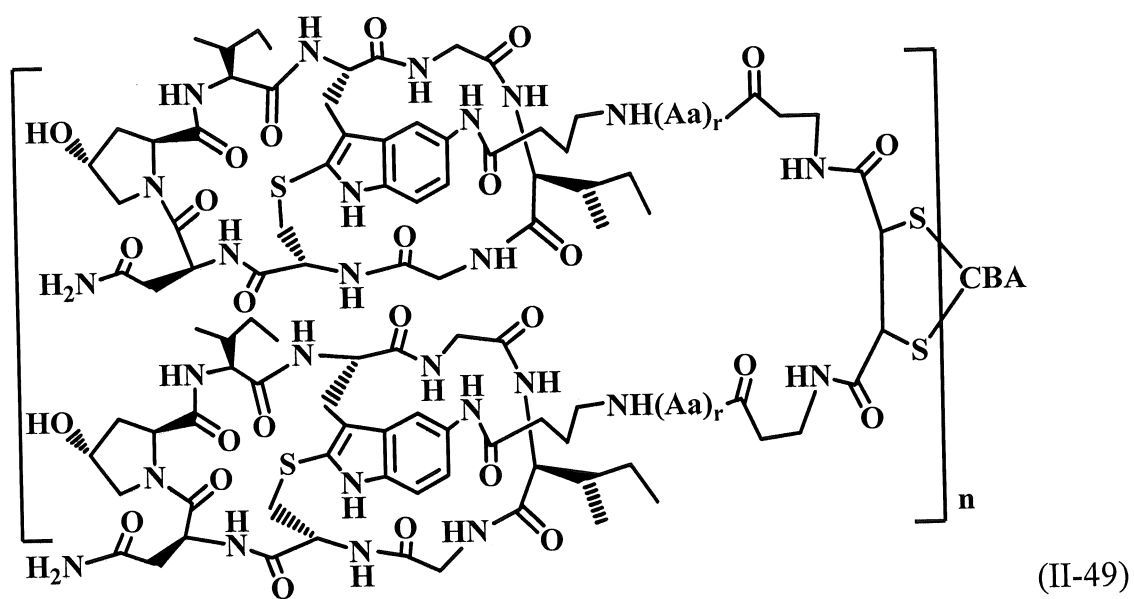
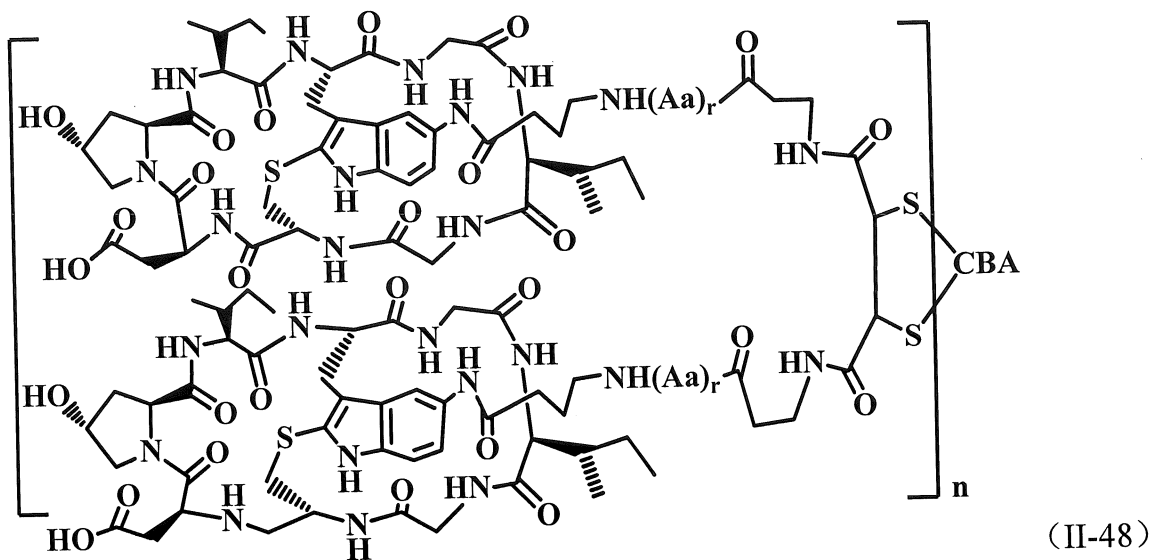
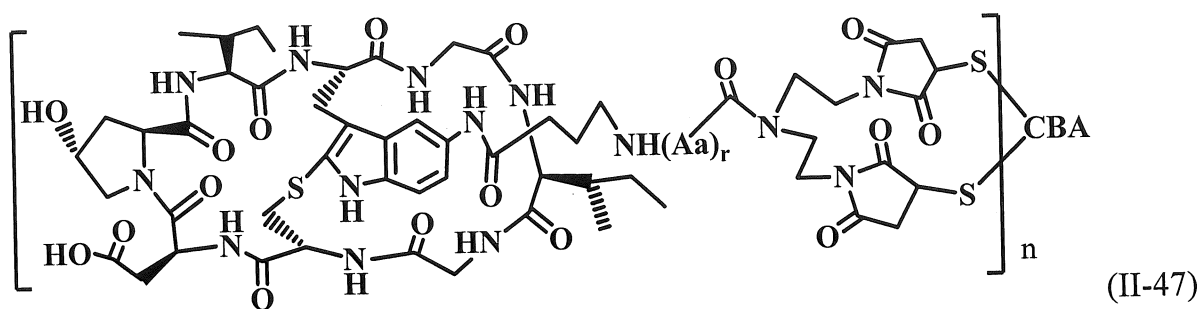
(II-33)

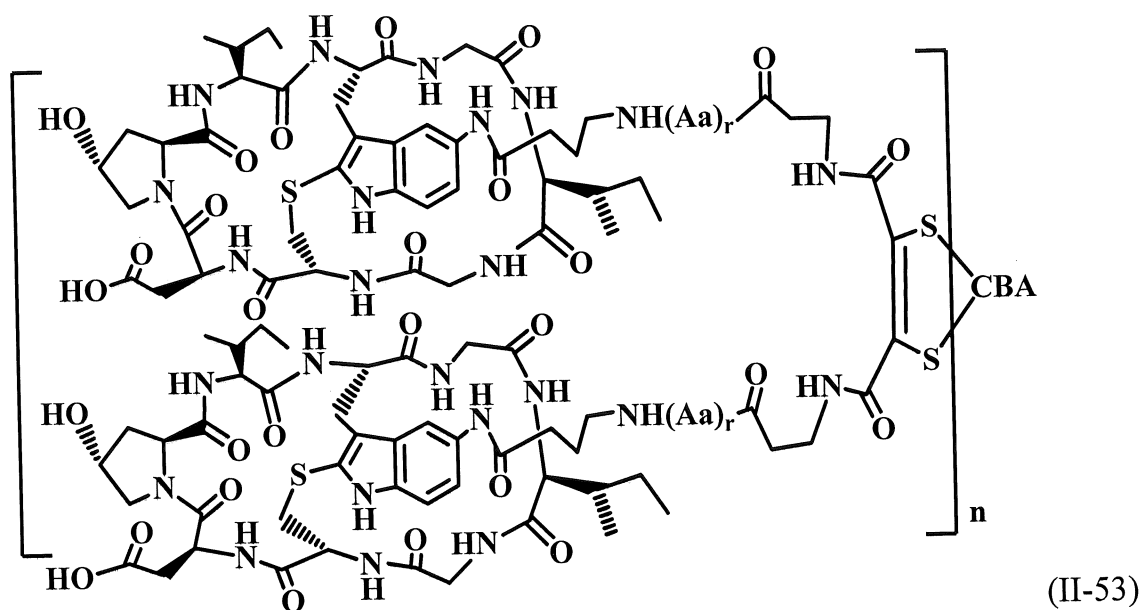
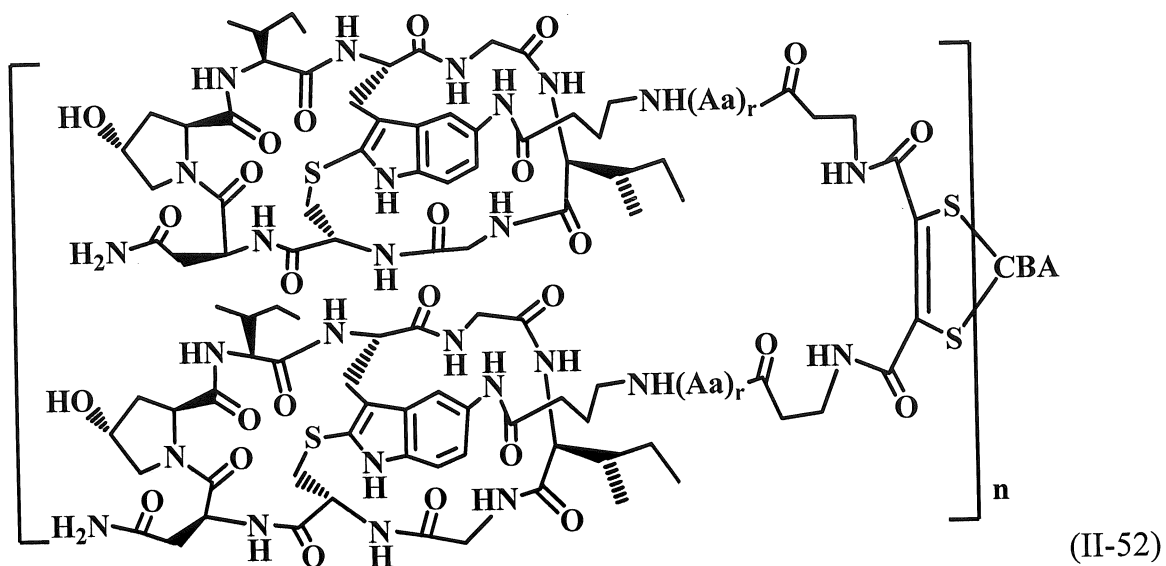
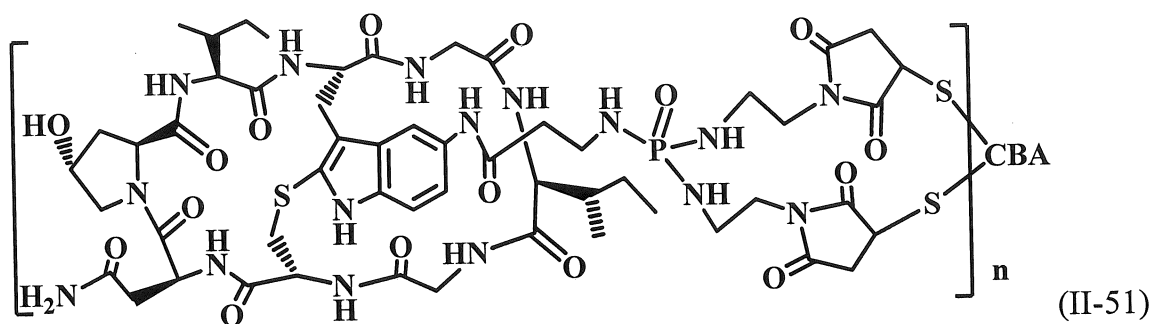


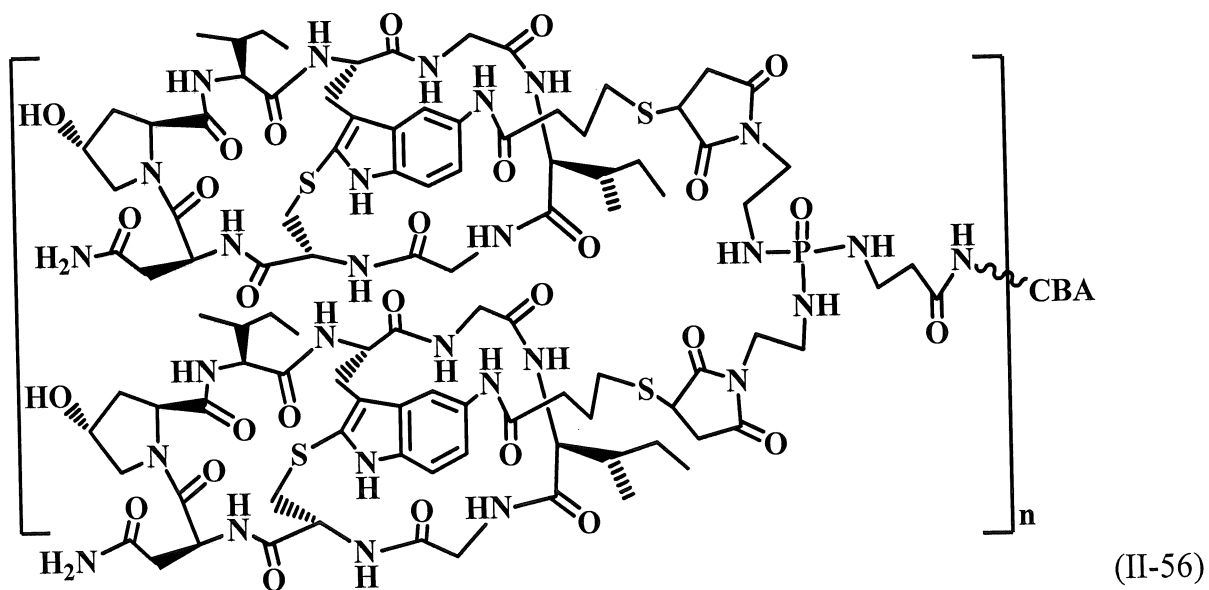
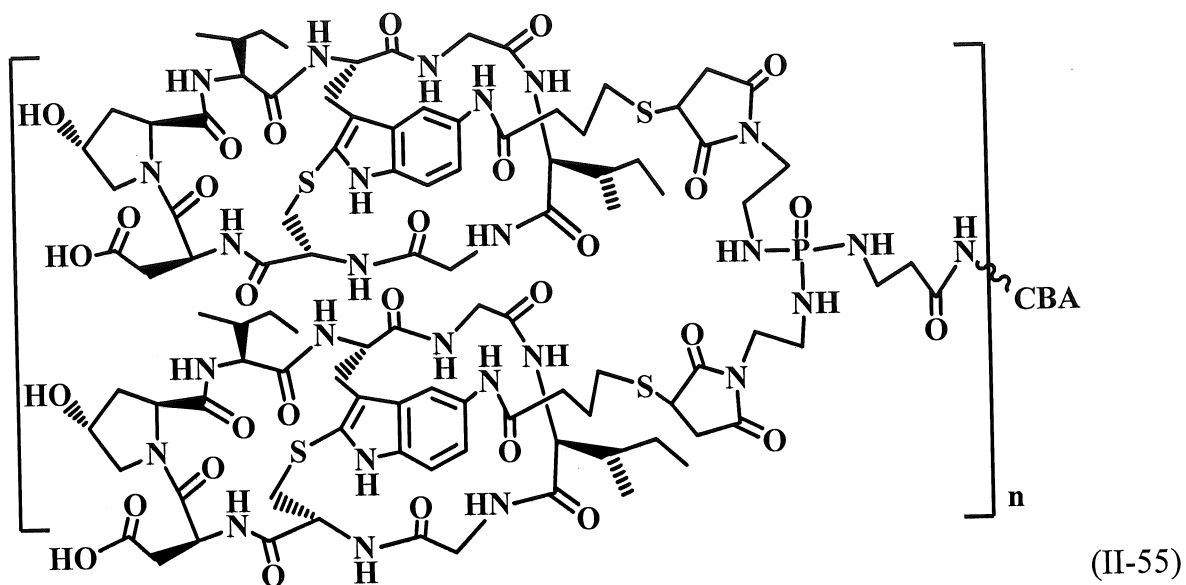
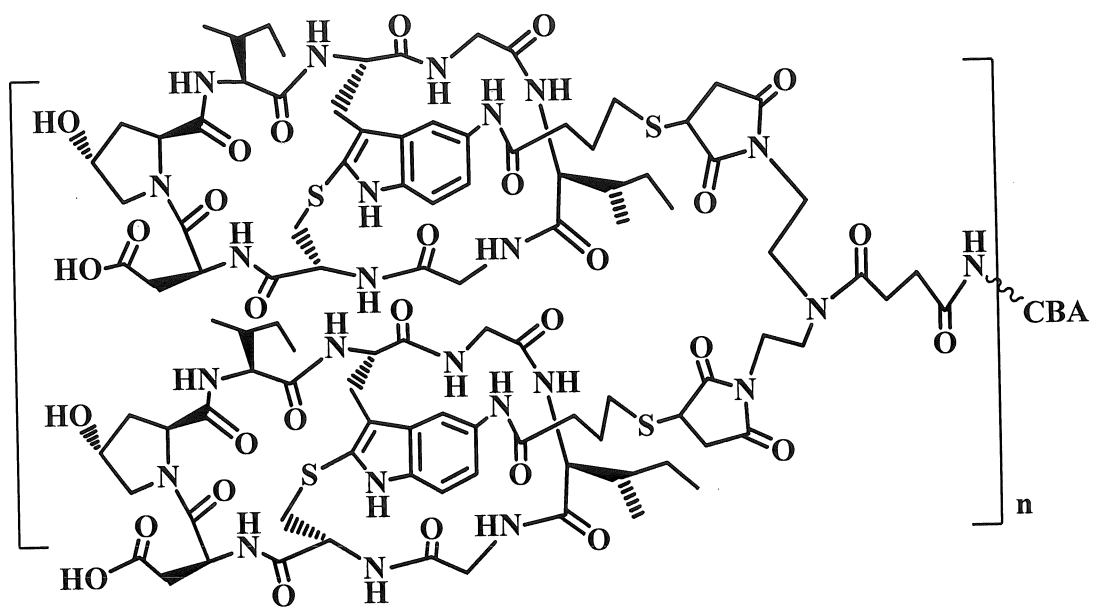


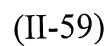
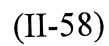
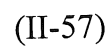


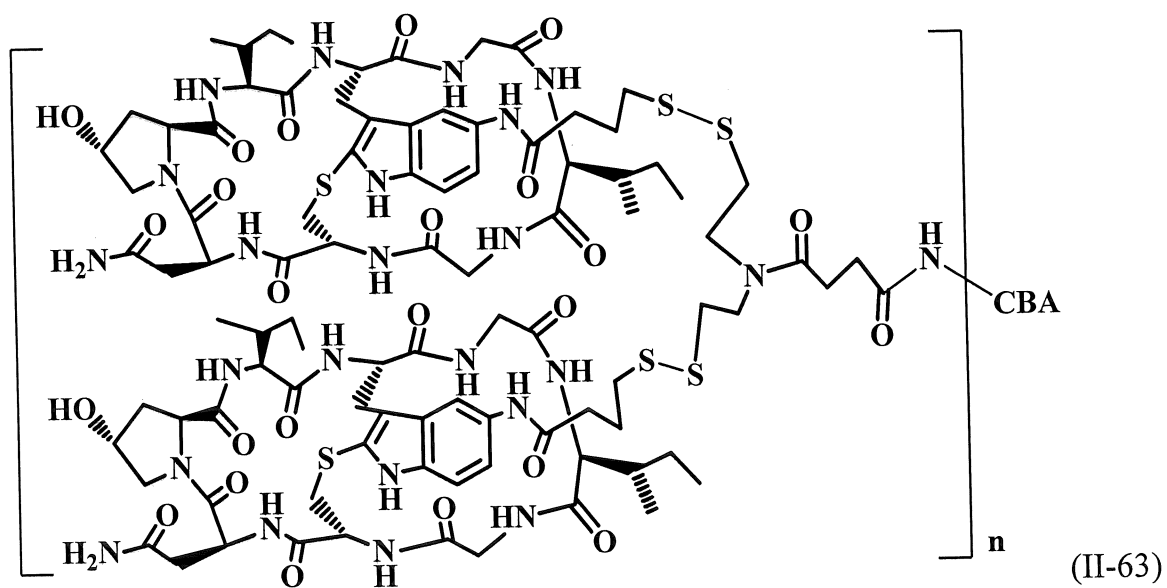
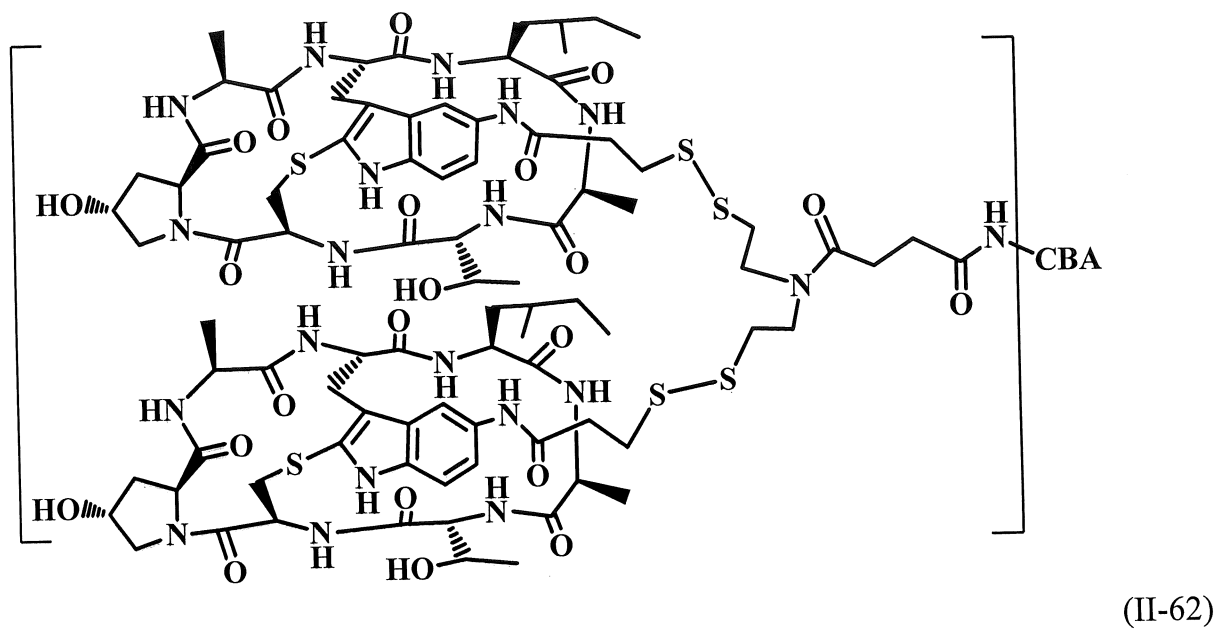
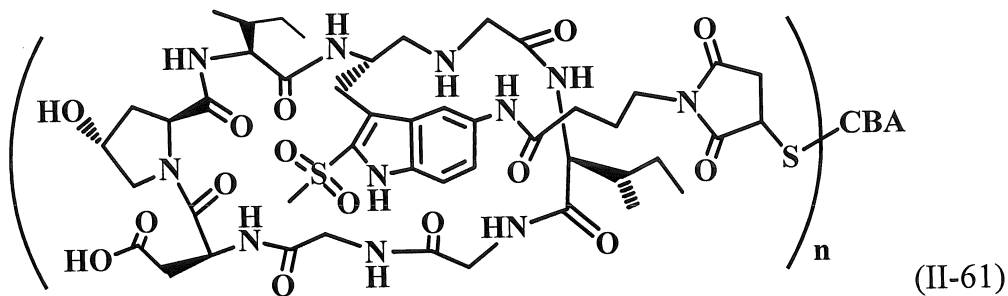
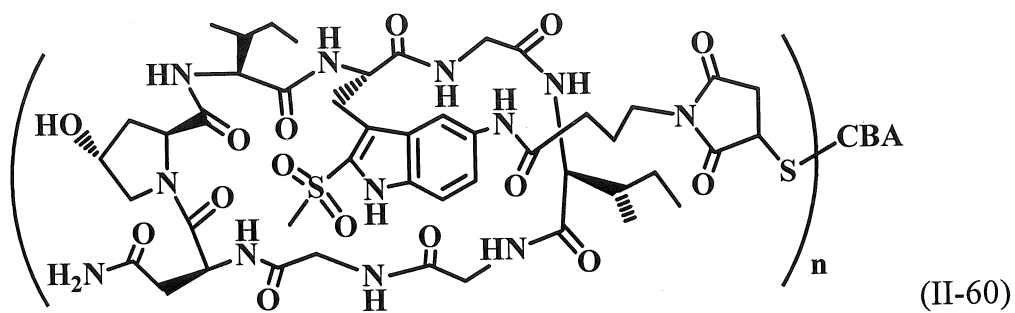


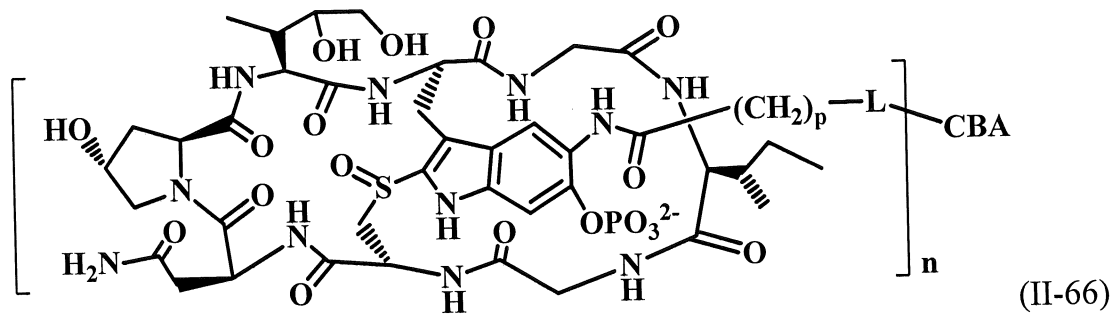
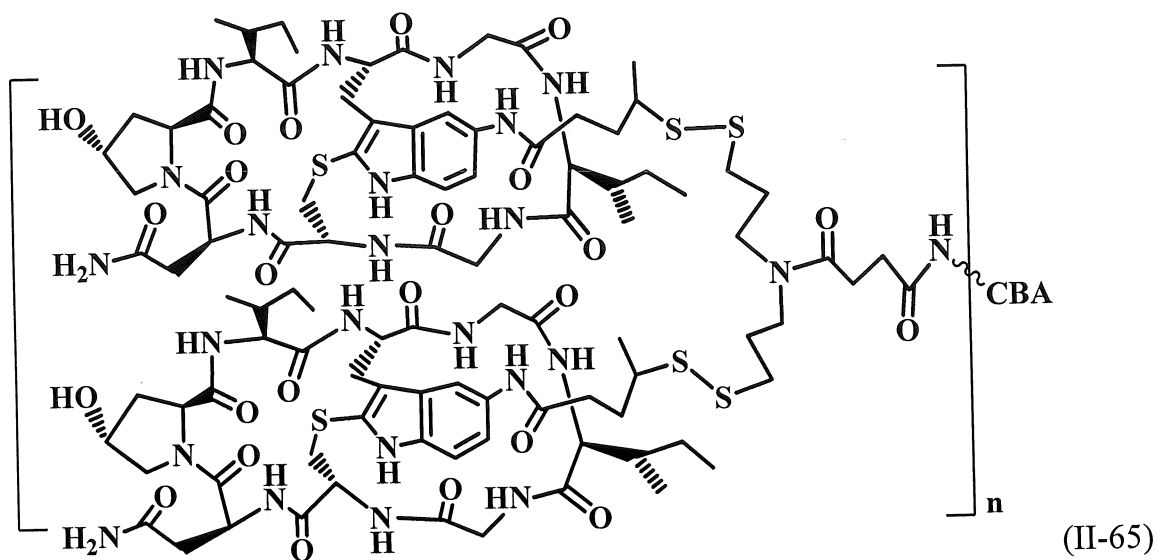
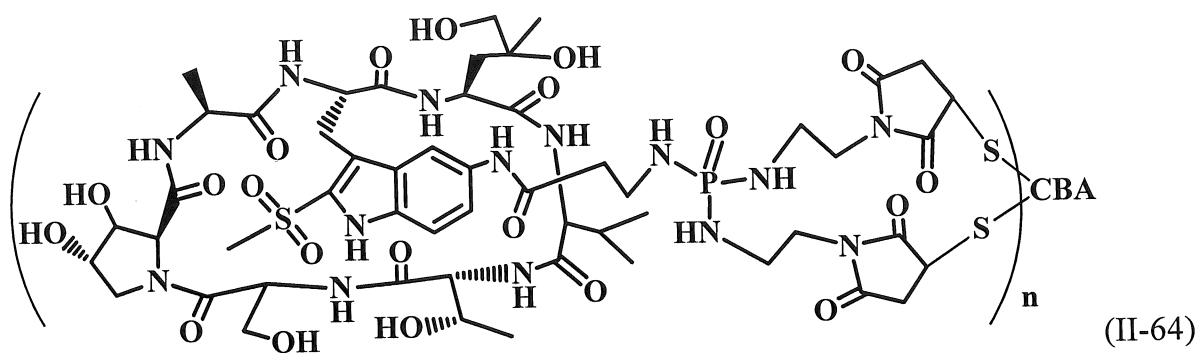


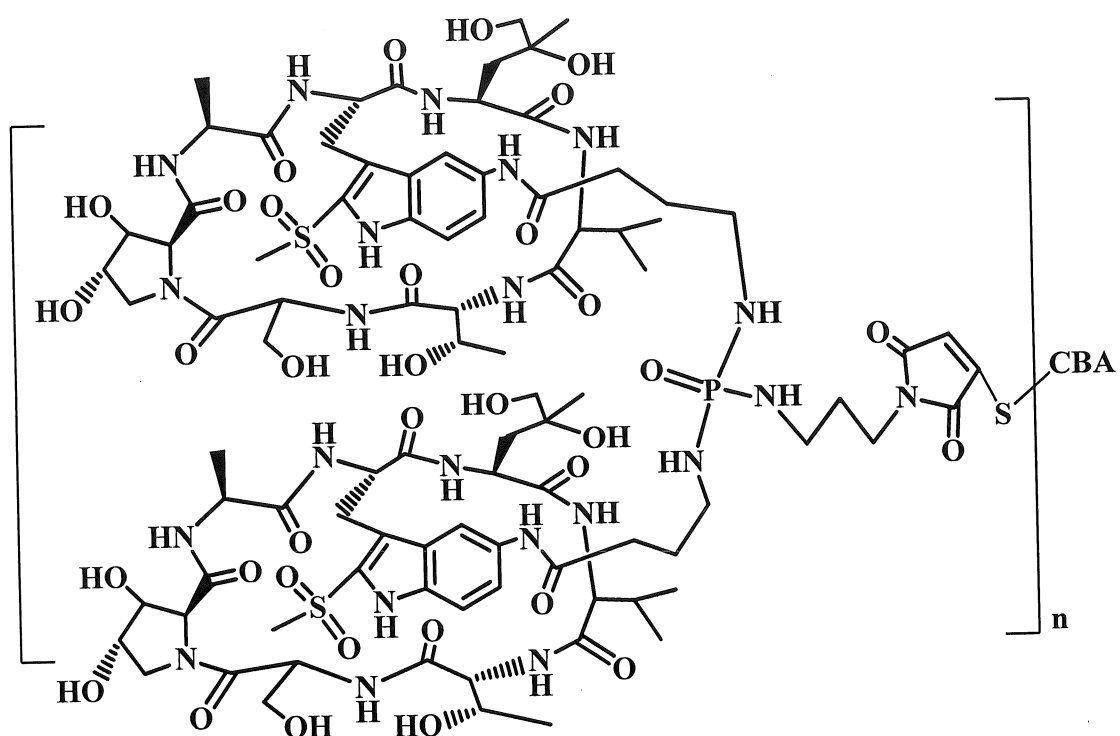




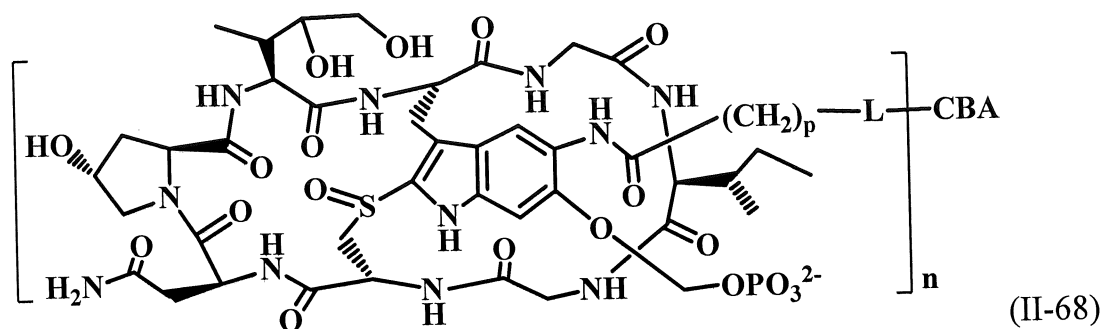




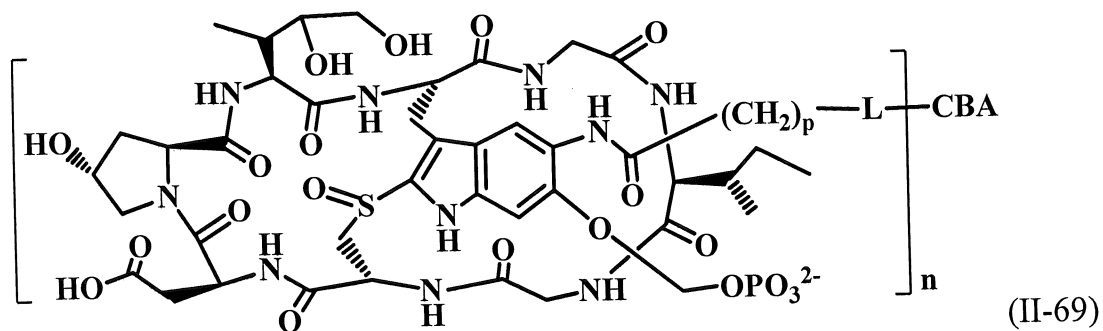




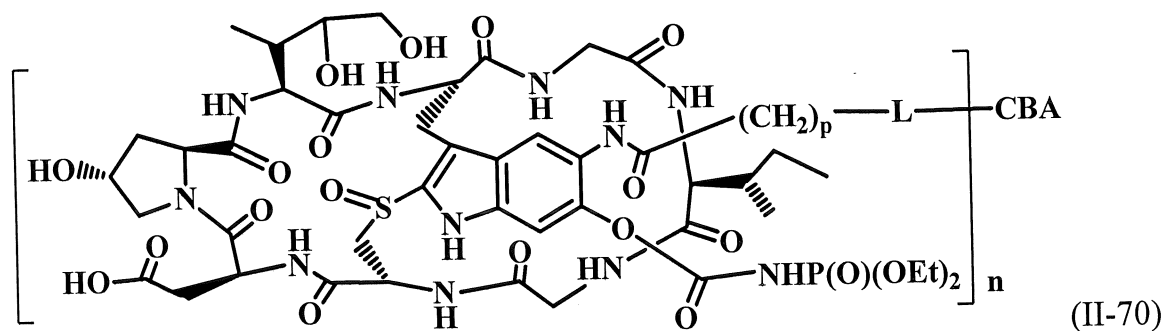
(II-67)



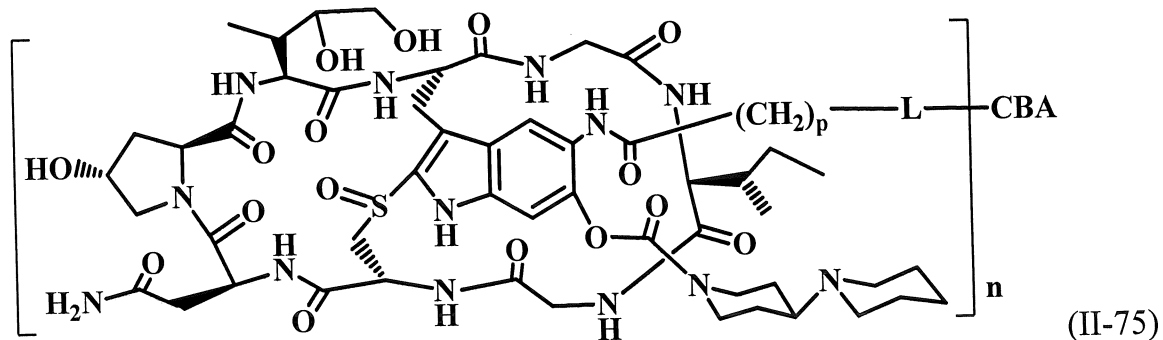
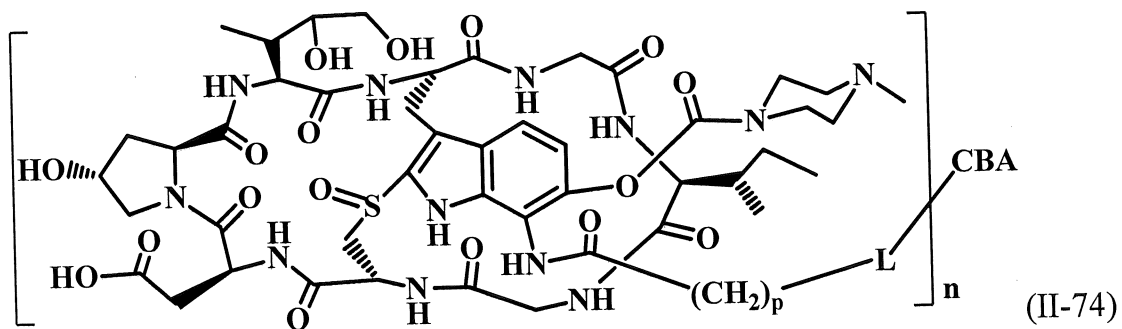
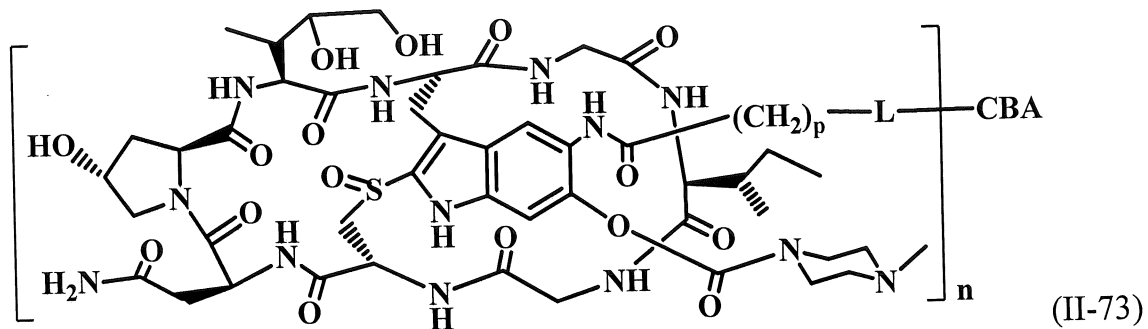
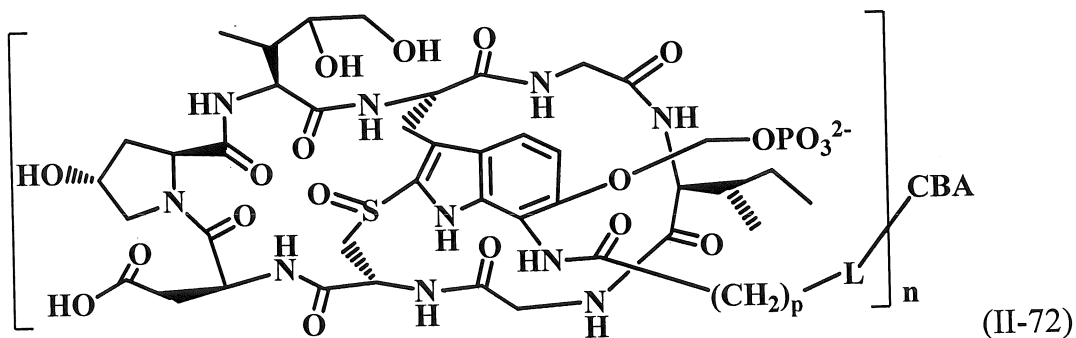
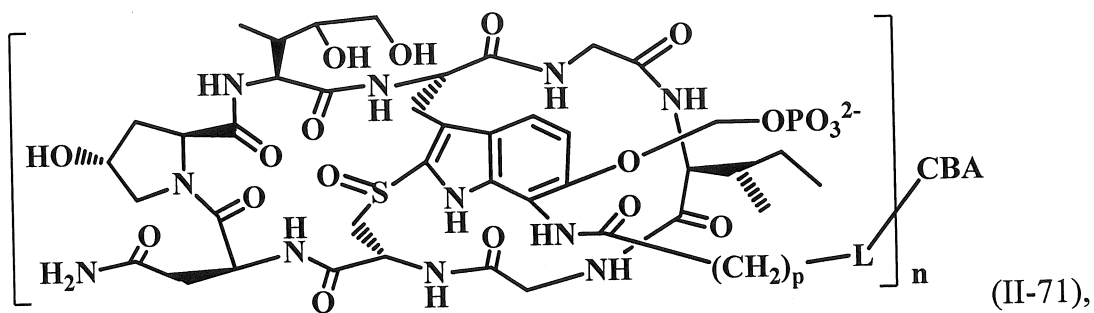
(II-68)

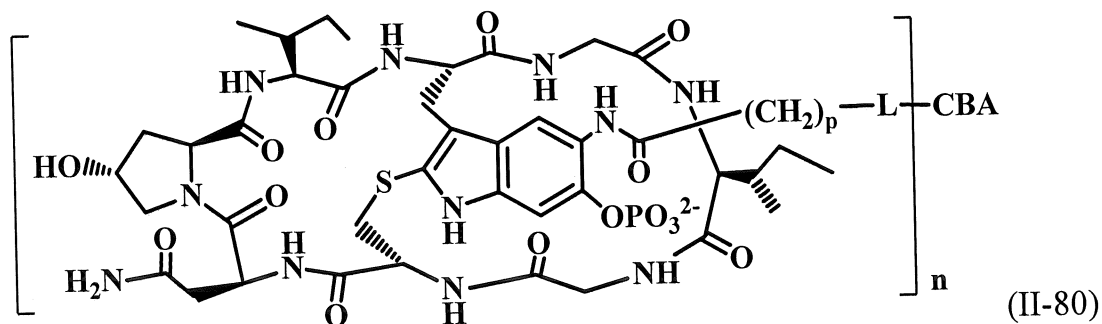
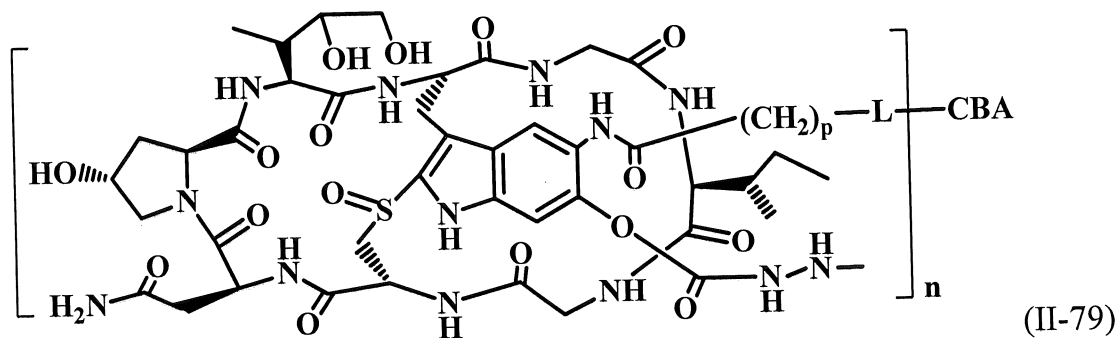
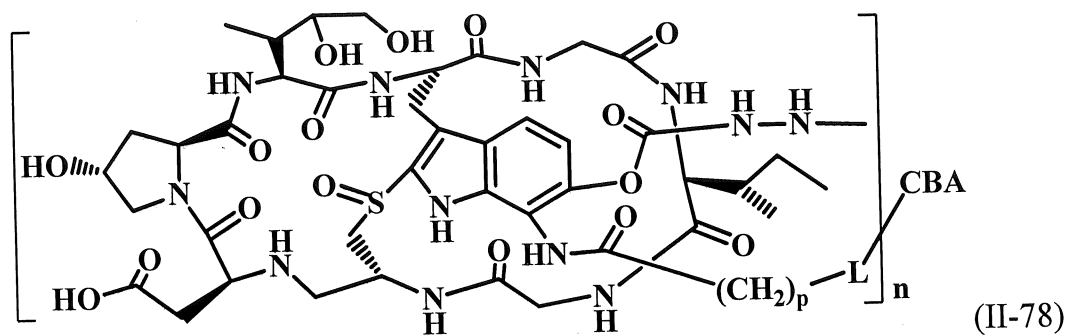
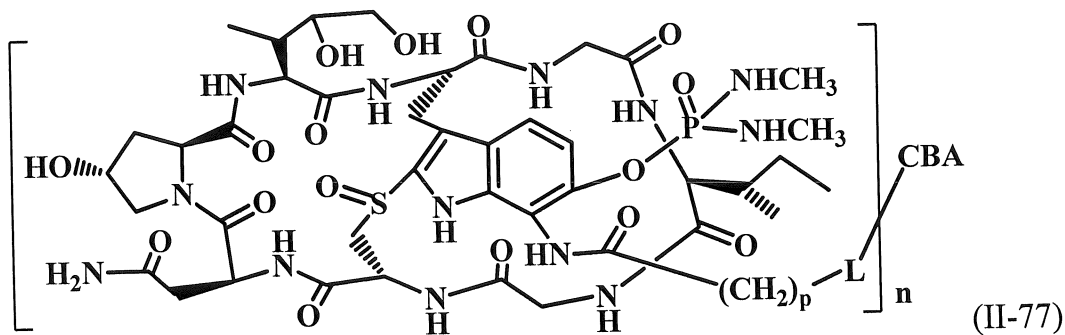
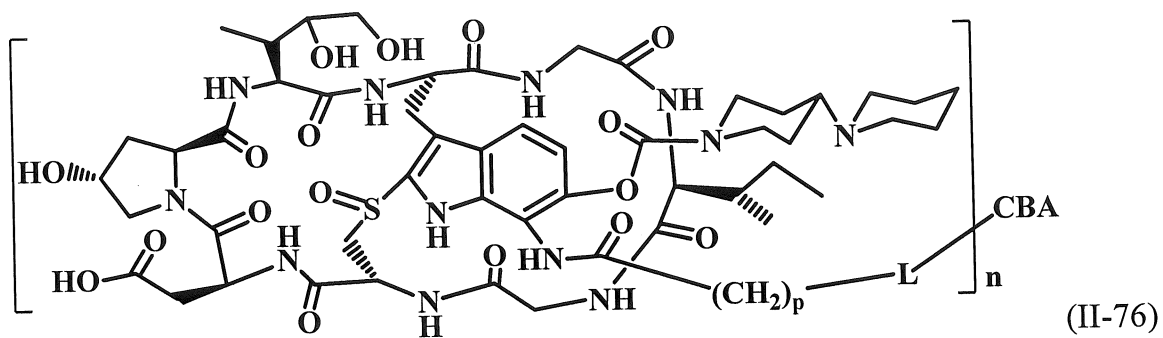


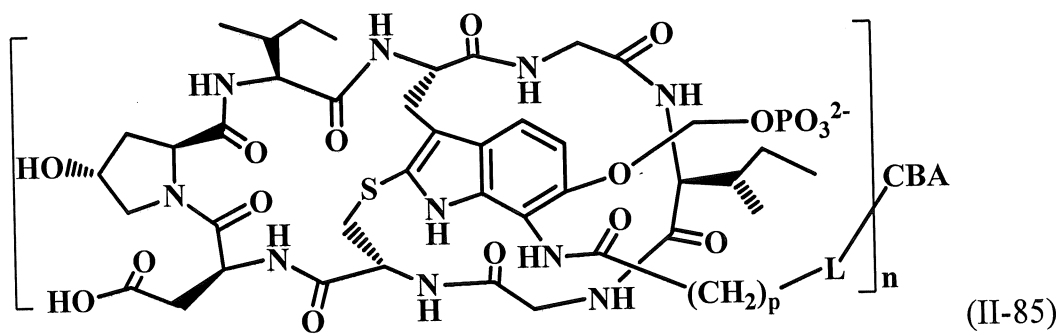
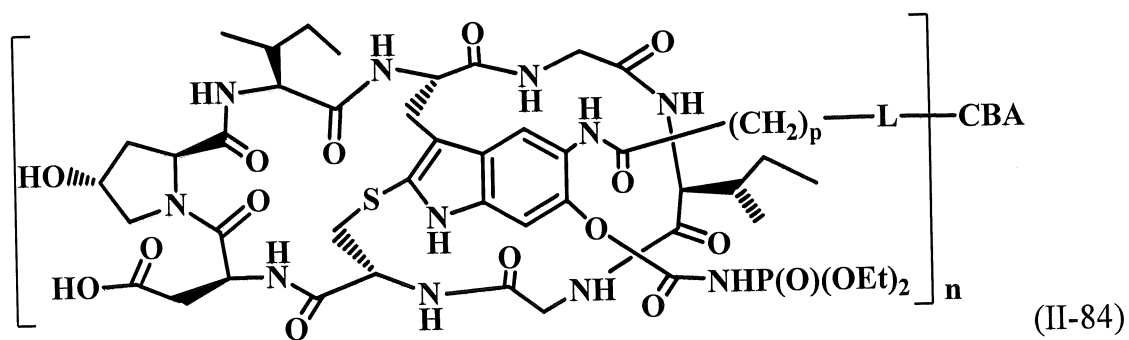
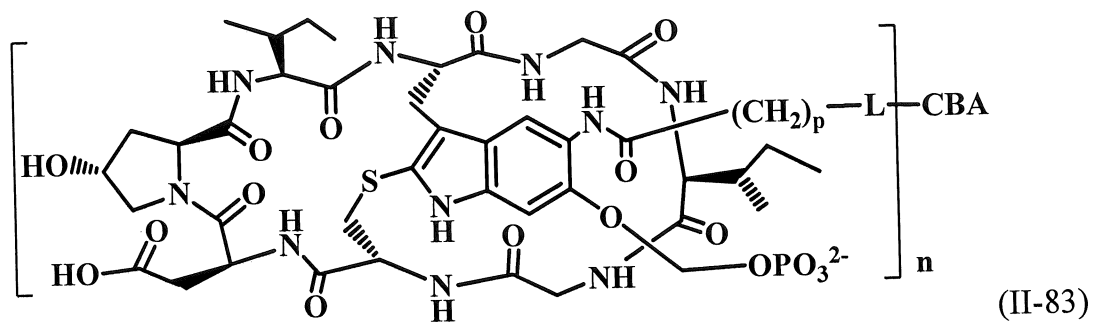
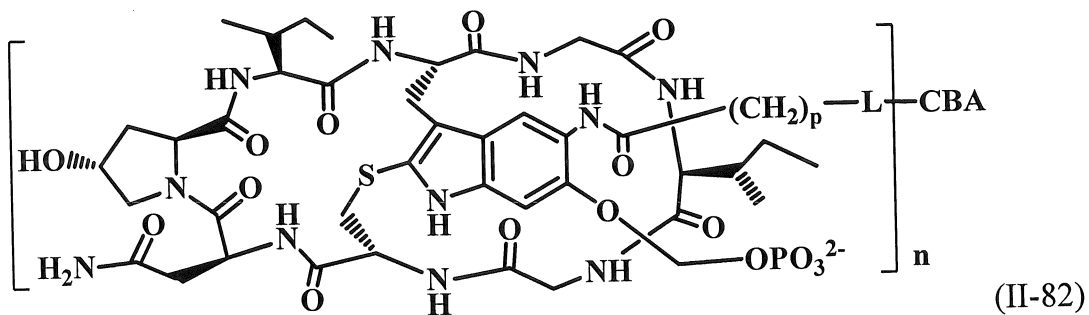
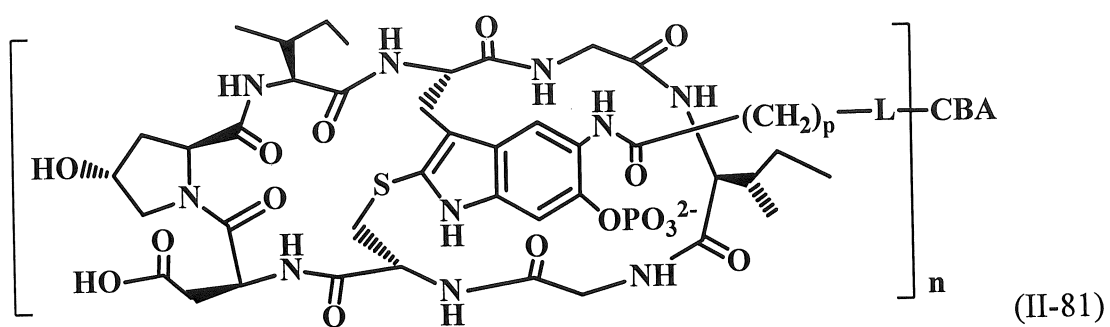
(II-69)

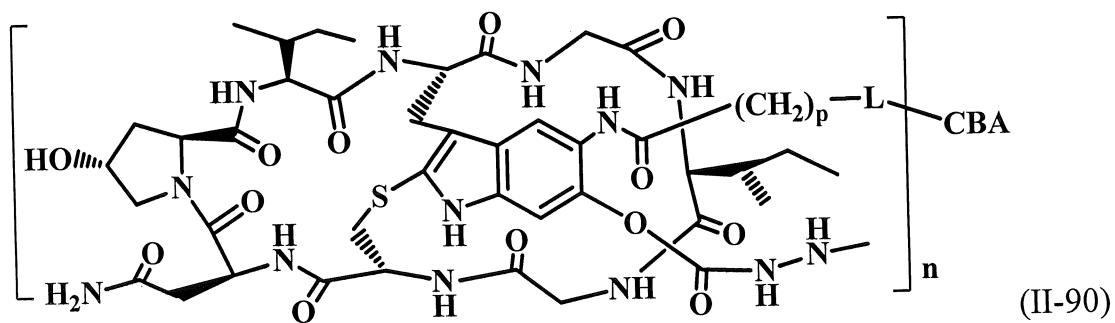
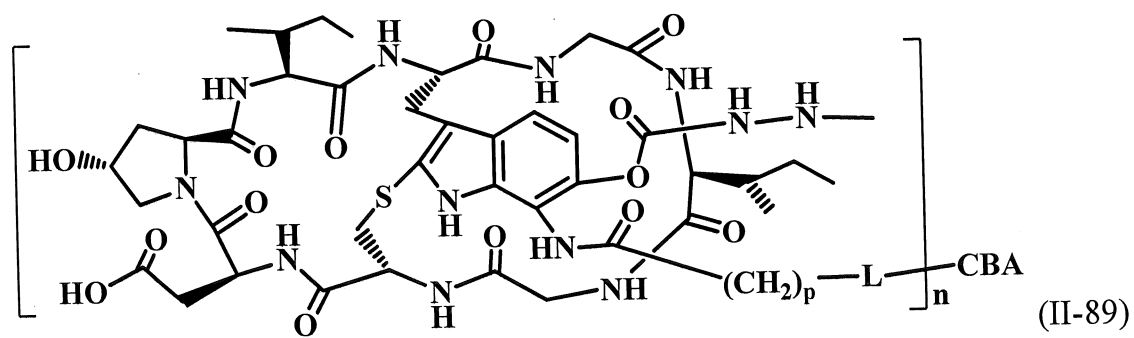
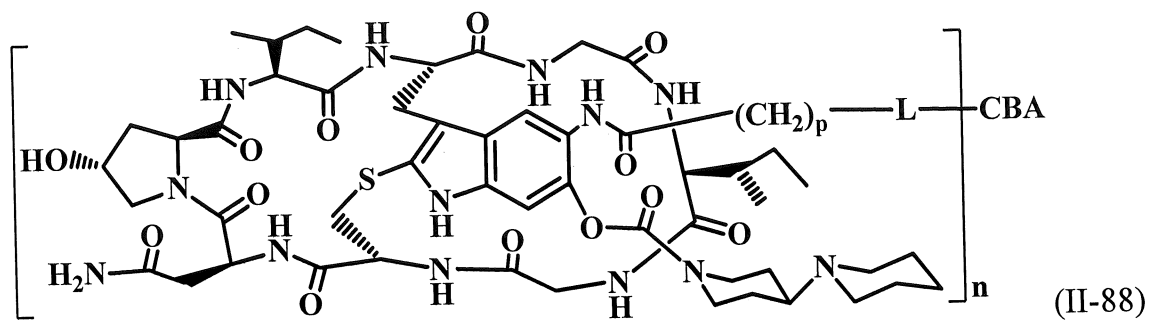
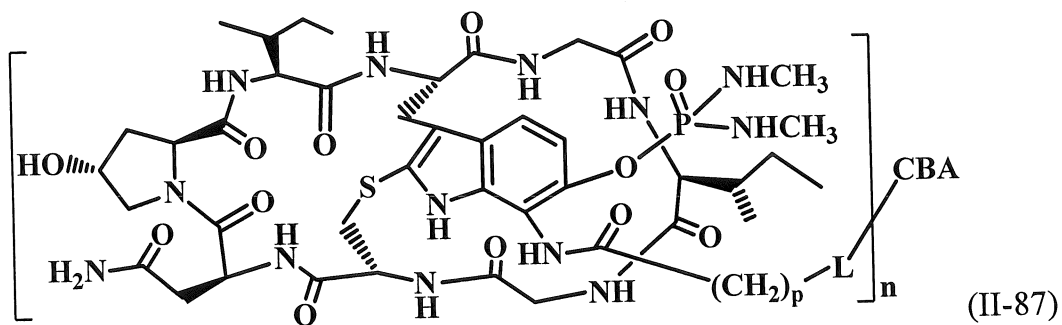
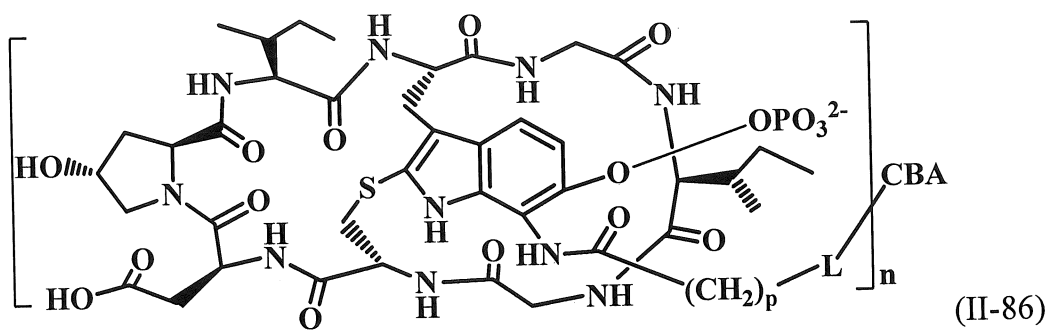


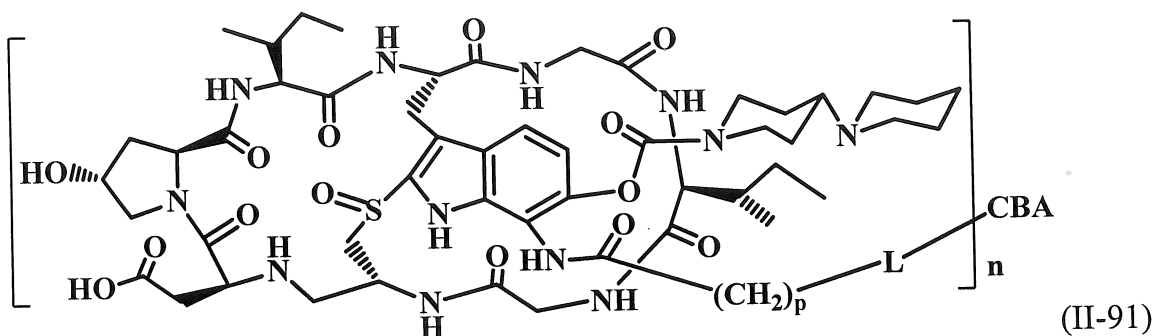
(II-70)











Trong đó Aa, L, m, n, p, Q, r, R₁, và R₂, được mô tả trên đây trong Công thức (I). CBA là chất gắn kết tế bào.

Tỷ lệ tải dược chất (drug loading ratio: DAR) của thể liên hợp có thể nằm trong khoảng từ 1 đến 20 gốc dược chất (D)/chất gắn kết tế bào và tốt hơn nếu giá trị trung bình nằm trong khoảng từ 2 đến 8 gốc dược chất/chất gắn kết tế bào trong phân tử có công thức từ (II-1) đến (II-91). Khi CBA là kháng thể trong chế phẩm chứa ADC, tỷ lệ tải dược chất được ưu tiên nằm trong khoảng từ 3~6 dược chất/kháng thể và giá trị trung bình của các gốc dược chất/kháng thể từ các phản ứng liên hợp có thể được xác định tính chất bằng các phương pháp thông thường như phương pháp phổ khối lượng (HPLC-MS, UPLC-QTOF, HPLC-MS/MS), thử nghiệm ELISA, và HPLC (SEC-HPLC, HIC-HPLC). Sự phân bố định lượng của thể liên hợp về tỷ lệ tải dược chất cũng có thể được xác định. Trong một số trường hợp, sự tách, tinh chế, và xác định tính đồng nhất của thể liên hợp có sự tải dược chất là giá trị nhất định thu được từ thể liên hợp có sự tải dược chất có thể đạt được bằng các phương pháp như HPLC đảo pha hoặc phương pháp điện di.

Các chất gắn kết tế bào (CBA) có thể là loại bất kỳ và bao gồm các peptit và chất không phải peptit. Nói chung, các chất gắn kết tế bào bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các protein có trọng lượng phân tử, ví dụ như các kháng thể (kháng thể đa dòng và kháng thể đơn dòng) có chiều dài đầy đủ; các kháng thể chuỗi đơn; các đoạn kháng thể như Fab, Fab', F(ab')₂, F_v, [Parham, J. Immunol. 131, 2895-2902 (1983)], các đoạn được tạo ra bởi ngân hàng biểu hiện Fab, các kháng thể kháng idiotyp (kháng Id), CDR, và các đoạn gắn kết epitop của thành phần bất kỳ trong số các thành phần trên đây gắn kết đặc hiệu miễn dịch với các kháng nguyên của tế bào ung thư, kháng nguyên của virus hoặc kháng nguyên của vi khuẩn; kháng thể bất chước, như kháng thể ái lực; các kháng thể vùng (dAb); kháng thể nano; kháng thể đồng nhất; DARPin; anticalin; kháng thể đa năng; duocalin; lipocalin; vime; interferon (như typ I, II, III);

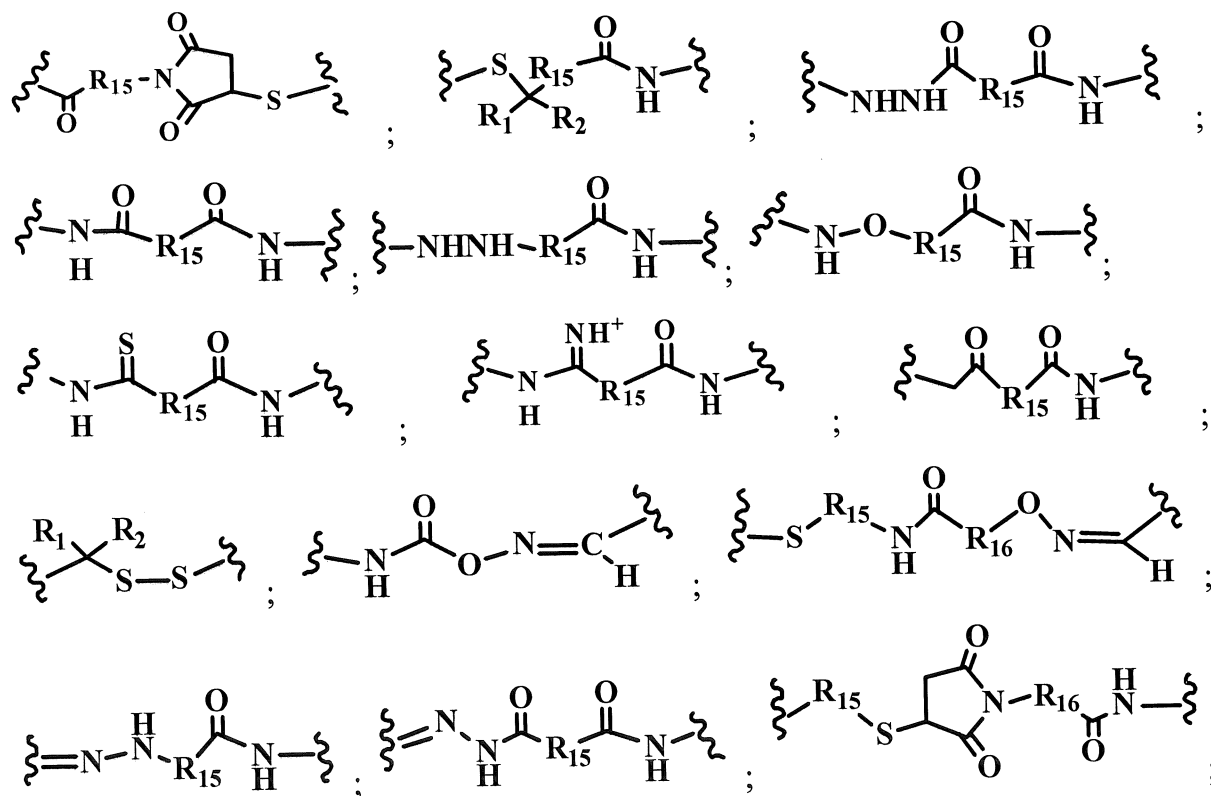
các peptit; các lymphokin như IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, GM-CSF, interferon-gama (IFN- γ); hormon như insulin, TRH (hormon giải phóng thyrotropin), MSH (hormon kích thích tế bào melanin), hormon steroid, như các androgen và estrogen, hormon kích thích tế bào melanin (MSH); các yếu tố sinh trưởng và yếu tố kích thích khuẩn lạc như các yếu tố sinh trưởng biểu bì (EGF), yếu tố kích thích khuẩn lạc-đại thực bào-bạch cầu hạt (GM-CSF), các yếu tố sinh trưởng biến đổi (TGF), như TGF α , TGF β , insulin và các yếu tố sinh trưởng tương tự insulin (IGF-I, IGF-II) G-CSF, M-CSF và GM-CSF [Burgess, Immunology Today, 5, 155-158 (1984)]; các yếu tố sinh trưởng vacinia (VGF); các yếu tố sinh trưởng nguyên bào sợi (FGF); các protein có trọng lượng phân tử nhỏ, poly-peptit, peptit và hormon peptit, như bombesin, gastrin, peptit giải phóng gastrin; các yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc tiểu cầu; các intolokin và xytokin, như intolokin-2 (IL-2), intolokin-6 (IL-6), các yếu tố ức chế bệnh bạch cầu, yếu tố kích thích khuẩn lạc-đại thực bào-bạch cầu hạt (GM-CSF); các vitamin, như folat; các apoprotein và glycoprotein, như transferin {O'Keefe et al, 260 J. Biol. Chem. 932-937 (1985)}; các lipoprotein hoặc protein liên kết đường, như lectin; phân tử vận chuyển chất dinh dưỡng trong tế bào; và các chất ức chế phân tử nhỏ, như chất ức chế kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt (PSMA) và chất ức chế tyrosin kinaza phân tử nhỏ (TKI), chất không phải peptit hoặc phân tử hoặc chất gắn kết tế bào khác bất kỳ như polyme có hoạt tính sinh học (Dhar, et al, Proc. Natl. Acad. Sci. 2008, 105, 17356-61) hoặc polyme có chất gắn kết tế bào trên bề mặt của nó; các dendrime (Lee, et al, Nat. Biotechnol. 2005, 23, 1517-26; Almutairi, et al; Proc. Natl. Acad. Sci. 2009, 106, 685-90) hoặc dendrime chứa chất gắn kết tế bào; các hạt nano (Liong, et al, ACS Nano, 2008, 19, 1309-12; Medarova, et al, Nat. Med. 2007, 13, 372-7; Javier, et al, Bioconjugate Chem. 2008, 19, 1309-12) hoặc các hạt nano có chất gắn kết tế bào trên bề mặt của nó; các liposom (Medinai, et al, Curr. Phar. Des. 2004, 10, 2981-9) hoặc liposom có chất gắn kết tế bào; capsit của virus (Flenniken, et al, Viruses Nanotechnol. 2009, 327, 71-93). Nói chung, các kháng thể đơn dòng được ưu tiên làm chất liên kết bề mặt tế bào, nếu kháng thể thích hợp có thể sử dụng.

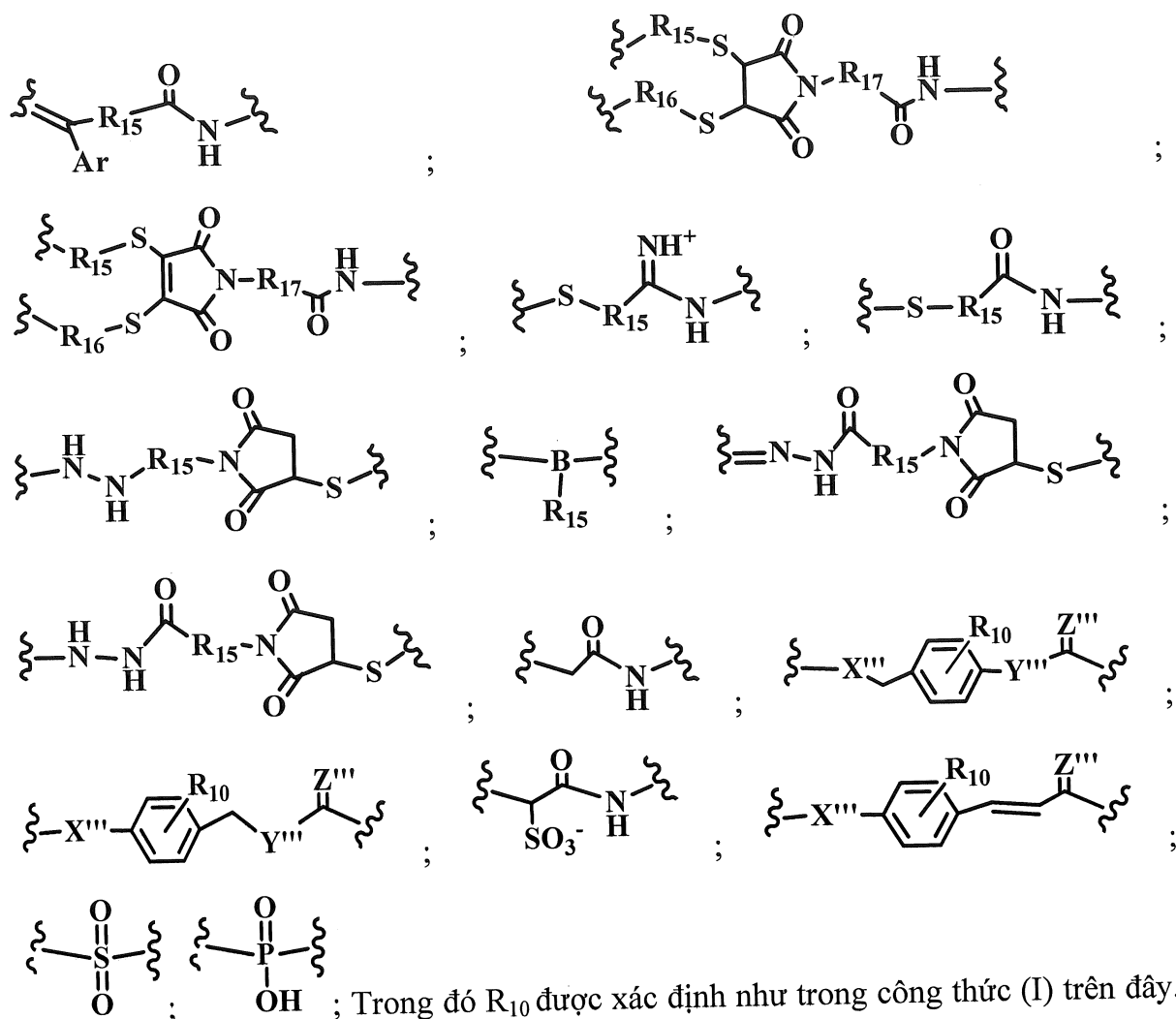
Nhóm liên kết được sử dụng để liên hợp của sáng chế này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, nhóm liên kết disulfua, nhóm liên kết thioete, nhóm liên kết liên kết amit, nhóm liên kết không bền với peptidaza, nhóm liên kết không bền quang học, các nhóm liên kết không bền với axit (như nhóm đệm hydrazon), nhóm liên kết không

bền với esteraza, nhóm liên kết không bền về mặt oxy hóa, nhóm liên kết không bền về mặt chuyển hóa, nhóm liên kết không bền về mặt sinh hóa.

Tốt hơn, nếu nhóm liên kết được liên kết với chất gắn kết tế bào bằng phản ứng chức ví dụ, đối với các chức thiol và amino của chất gắn kết tế bào thu được từ các liên kết disulfua đã khử và gốc lysin tương ứng. Cụ thể hơn, dẫn xuất nêu trên được liên kết qua nhóm $--CO--$ với chức amino của gốc lysin của chất gắn kết tế bào nêu trên, để tạo ra liên kết amit.

Ngoài ra, nhóm liên kết có thể bao gồm một hoặc nhiều thành phần nhóm liên kết. Các thành phần nhóm liên kết làm ví dụ bao gồm 6-maleimidocaproyl ("MC"), maleimidopropanoyl ("MP"), valin-xitrulin ("val-cit" hoặc "vc"), alanin-phenylalanin ("ala-phe" hoặc "af"), glyxin-glyxin, các peptit tự nhiên chứa tối đa là 6 axit amin giống hoặc khác nhau (dipeptit, tripeptit, tetrapeptit, pentapeptit, hexapeptit), p-aminobenzyloxycarbonyl ("PAB"), N-succinimidyl 4-(2-pyridylthio)pentanoat ("SPP"), N-succinimidyl 4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1 carboxylat ("SMCC"), N-succinimidyl 4-iodo-axetylaminobenzoat ("SIAB"), etylenoxy ($--CH_2CH_2O--$) làm một hoặc tối đa là 100 đơn vị lặp lại ("EO" hoặc "PEO"). Nhóm liên kết có thể là "nhóm liên kết có thể phân giải" để tạo điều kiện thuận lợi cho sự giải phóng được chất trong tế bào. Các thành phần nhóm liên kết bổ sung là đã biết trong lĩnh vực này và một số thành phần này được minh họa dưới đây:





Trong đó R_{15} , R_{16} và R_{17} độc lập được chọn từ $-\text{C}_1\sim\text{C}_8$ alkyl hoặc alkylen-, $-\text{C}_1\sim\text{C}_7$ carboxyclo-, $-\text{O}-(\text{C}_1\sim\text{C}_8 \text{ alkyl})-$, $-\text{NH}-(\text{C}_1\sim\text{C}_8 \text{ alkyl})-$, -arylen-, $-\text{C}_1\sim\text{C}_8$ alkylen-arylen-, -arylen-, $-\text{C}_1\sim\text{C}_8$ alkylen-, $-\text{C}_1\sim\text{C}_8$ alkylen-($\text{C}_1\sim\text{C}_8$ carboxyclo)-, $-(\text{C}_3\sim\text{C}_7 \text{ carboxyclo})-\text{C}_1\sim\text{C}_8$ alkylen-, $-\text{C}_3\sim\text{C}_8$ dị vòng-, $-\text{C}_1\sim\text{C}_8$ alkylen-($\text{C}_3\sim\text{C}_8$ dị vòng)-, $-(\text{C}_3\sim\text{C}_8 \text{ dị vòng})-\text{C}_1\sim\text{C}_9$ alkylen-, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_k-$, $-(\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{O})_k-$, và $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_k-\text{CH}_2-$; k là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 30; X''' , Y''' và Z''' độc lập được chọn từ NH, O hoặc S.

Theo phương án ưu tiên, thể liên hợp của sáng chế là kháng thể/chất gây độc tế bào, đoạn kháng thể/chất gây độc tế bào, kháng thể dime/chất gây độc tế bào, kháng thể trime/chất gây độc tế bào, yếu tố sinh trưởng biểu bì (EGF)/chất gây độc tế bào, chất ức chế kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt(PSMA)/chất gây độc tế bào, hormon kích thích tế bào melanin (MSH)/chất gây độc tế bào, hormon kích thích tuyến giáp (TSH)/chất gây độc tế bào, kháng thể đa dòng/chất gây độc tế bào, somatostatin/chất gây độc tế bào, folat/chất gây độc tế bào, chất ức chế

matriptaza/chất gây độc tế bào, estrogen/chất gây độc tế bào, chất tương tự estrogen/chất gây độc tế bào, các protein lặp lại ankyrin được thiết kế (DARPin)/chất gây độc tế bào, androgen/chất gây độc tế bào, và chất tương tự androgen/chất gây độc tế bào.

Theo phương án được ưu tiên hơn nữa, thể liên hợp của sáng chế là kháng thể đơn dòng/chất gây độc tế bào. Ví dụ về các kháng thể được sử dụng để liên hợp các chất gây độc tế bào trong việc phòng ngừa này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, 3F8 (kháng GD2), Abagovomab (kháng CA-125), Abciximab (kháng CD41 (integrin alpha-IIb), Adalimumab (kháng TNF- α), Adecatumumab (kháng EpCAM, CD326), Afelimomab (kháng TNF- α); Afutuzumab (kháng CD20), Alacizumab pegol (kháng VEGFR2), ALD518 (kháng IL-6), Alemtuzumab (Campath, MabCampath, kháng CD52), Altumomab (kháng CEA), Anatumomab (kháng TAG-72), Anrukinzumab (IMA-638, kháng IL-13), Apolizumab (kháng HLA-DR), Arcitumomab (kháng CEA), Aselizumab (kháng L-selectin (CD62L), Atlizumab (tocilizumab, Actemra, RoActemra, kháng thụ thể IL-6), Atorolimomab (kháng yếu tố Rhesus), Bapineuzumab (kháng beta dạng tinh bột), Basiliximab (Simulect, kháng CD25 (chuỗi α của thụ thể IL-2), Bavituximab (kháng phosphatidylserin), Bectumomab (LymphoScan, kháng CD22), Belimumab (Benlysta, LymphoStat-B, kháng BAFF), Benralizumab (kháng CD125), Bertilimumab (kháng CCL11 (eotaxin-1)), Besilesomab (Scintimun, kháng kháng nguyên liên quan đến CEA), Bevacizumab (Avastin, kháng VEGF-A), Biciromab (FibriScint, kháng chuỗi beta của fibrin II), Bivatuzumab (kháng CD44 v6), Blinatumomab (BiTE, kháng CD19), Brentuximab (cAC10, kháng CD30 TNFRSF8), Briakinumab (kháng IL-12, IL-23) Canakinumab (Ilaris, kháng IL-1), Cantuzumab (C242, kháng CanAg), Capromab, Catumaxomab (Removab, kháng EpCAM, kháng CD3), CC49 (kháng TAG-72), Cedelizumab (kháng CD4), Certolizumab pegol (Cimzia kháng TNF- α), Cetuximab (Erbitux, IMC-C225, kháng EGFR), Citatuzumab bogatox (kháng EpCAM), Cixutumumab (kháng IGF-1), Clenoliximab (kháng CD4), Clivatuzumab (kháng MUC1), Conatumumab (kháng TRAIL-R2), CR6261 (kháng ngưng kết tổ hồng cầu của bệnh cúm A), Dacetuzumab (kháng CD40), Daclizumab (Zenapax, kháng CD25 (chain α của thụ thể IL-2)), Daratumumab (kháng CD38 (riboza hydrolaza ADP dạng vòng), Denosumab (Prolia, kháng RANKL), Detumomab (kháng tế bào lymphô- B), Dorlimomab,

Dorlixizumab, Ecomeximab (kháng gangliosit GD3), Eculizumab (Soliris, kháng C5), Edobacomab (kháng nội độc tố), Edrecolomab (Panorex, MAb17-1A, kháng EpCAM), Efalizumab (Raptiva, kháng LFA-1 (CD11a), Efungumab (Mycograb, kháng Hsp90), Elotuzumab (kháng SLAMF7), Elsilimomab (kháng IL-6), Enlimomab pegol (kháng ICAM-1 (CD54)), Eritumomab (kháng episialin), Epratuzumab (kháng CD22), Erlizumab (kháng ITGB2 (CD18)), Ertumaxomab (Rexomun, kháng HER2/neu, CD3), Etaracizumab (Abegrin, kháng integrin $\alpha_v\beta_3$), Exbivirumab (kháng kháng nguyên bề mặt của bệnh viêm gan B), Fanolesomab (NeutroSpec, kháng CD15), Faralimomab (kháng thụ thể interferon), Farletuzumab (kháng thụ thể folat 1), Felvizumab (kháng virus hợp bào đường hô hấp), Fezakinumab (kháng IL-22), Figitumumab (kháng thụ thể IGF-1), Fontolizumab (kháng IFN- γ), Foravirumab (kháng glycoprotein của virus bệnh dại), Fresolimumab (kháng TGF- β), Galiximab (kháng CD80), Gantenerumab (kháng beta dạng tinh bột), Gavilimomab (kháng CD147 (basigin)), Gemtuzumab (kháng CD33), Girentuximab (kháng cacbon anhydraz 9), Glembatumumab (CR011, kháng GPNMB), Golimumab (Simponi, kháng TNF- α), Gomiliximab (kháng CD23 (thụ thể IgE)), Ibalizumab (kháng CD4), Ibritumomab (kháng CD20), Igovomab (Indimacis-125, kháng CA-125), Imciromab (Myoscint, kháng myosin ở tim), Infliximab (Remicade, kháng TNF- α), Intetumumab (kháng CD51), Inolimomab (kháng CD25 (chuỗi α của thụ thể IL-2)), Inotuzumab (kháng CD22), Ipilimumab (kháng CD152), Iratumumab (kháng CD30 (TNFRSF8)), Keliximab (kháng CD4), Labetuzumab (CEA-Cide, kháng CEA), Lebrikizumab (kháng IL-13), Lemalesomab (kháng NCA-90 (kháng nguyên bạch cầu hạt)), Lerdelimumab (kháng TGF beta 2), Lexatumumab (kháng TRAIL-R2), Libivirumab (kháng kháng nguyên bề mặt của bệnh viêm gan B), Lintuzumab (kháng CD33), Lucatumumab (kháng CD40), Lumiliximab (kháng CD23 (thụ thể IgE)), Mapatumumab (kháng TRAIL-R1), Maslimomab (kháng thụ thể tế bào T), Matuzumab (kháng EGFR), Mepolizumab (Bosatria, kháng IL-5), Metelimumab (kháng TGF beta 1), Milatuzumab (kháng CD74), Minretumomab (kháng TAG-72), Mitumomab (BEC-2, kháng gangliosit GD3), Morolimumab (kháng yếu tố Rhesus), Motavizumab (Numax, kháng virus hợp bào đường hô hấp), Muromonab-CD3 (Orthoclone OKT3, kháng CD3), Nacolomab (kháng C242), Naptumomab (kháng 5T4), Natalizumab (Tysabri, kháng integrin α_4), Nebacumab (kháng nội độc tố),

Necitumumab (kháng EGFR), Nerelimomab (kháng TNF- α), Nimotuzumab (Theracim, Theraloc, kháng EGFR), Nofetumomab, Ocrelizumab (kháng CD20), Odulimomab (Afolimomab, kháng LFA-1 (CD11a)), Ofatumumab (Arzerra, kháng CD20), Olaratumab (kháng PDGF-R α), Omalizumab (Xolair, kháng vùng Fc của IgE), Oportuzumab (kháng EpCAM), Oregovomab (OvaRex, kháng CA-125), Otelixizumab (kháng CD3), Pagibaximab (kháng axit lipoteichoic), Palivizumab (Synagis, Abbosynagis, kháng virus hợp bào đường hô hấp), Panitumumab (Vectibix, ABX-EGF, kháng EGFR), Panobacumab (kháng vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa*), Pascolizumab (kháng IL-4), Pemtumomab (Theragyn, kháng MUC1), Pertuzumab (Omnitarg, 2C4, kháng HER2/neu), Pexelizumab (kháng C5), Pintumomab (kháng kháng nguyên caxinom tuyến), Priliximab (kháng CD4), Pritumumab (kháng vimentin), PRO 140 (kháng CCR5), Racotumomab (1E10, kháng (axit N-glycolylneuraminic (NeuGc, NGNA)-gangliosit GM3)), Rafivirumab (kháng glycoprotein của virus bệnh dại), Ramucirumab (kháng VEGFR2), Ranibizumab (Lucentis, kháng VEGF-A), Raxibacumab (kháng độc tố anthrax, kháng nguyên bảo vệ), Regavirumab (kháng glycoprotein B của virus cự bào), Reslizumab (kháng IL-5), Rilotumumab (kháng HGF), Rituximab (MabThera, Rituxanmab, kháng CD20), Robatumumab (kháng thụ thể IGF-1), Rontalizumab (kháng IFN- α), Rovelizumab (LeukArrest, kháng CD11, CD18), Ruplizumab (Antova, kháng CD154 (CD40L)), Satumomab (kháng TAG-72), Sevirumab (kháng virus cự bào), Sibrotuzumab (kháng FAP), Sifalimumab (kháng IFN- α), Siltuximab (kháng IL-6), Siplizumab (kháng CD2), (Smart) MI95 (kháng CD33), Solanezumab (kháng beta dạng tinh bột), Sonepcizumab (kháng sphingosin-1-phosphat), Sontuzumab (kháng episialin), Stamulumab (kháng myostatin), Sulesomab (LeukoScan, (kháng NCA-90 (kháng nguyên bạch cầu hạt), Tacatuzumab (kháng alpha-fetoprotein), Tadocizumab (kháng integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$), Talizumab (kháng IgE), Tanezumab (kháng NGF), Taplitumomab (kháng CD19), Tefibazumab (Aurexis, (kháng yếu tố tạo cục A), Telimomab, Tenatumomab (kháng tenascin C), Teneliximab (kháng CD40), Teplizumab (kháng CD3), TGN1412 (kháng CD28), Ticilimumab (Tremelimumab, (kháng CTLA-4), Tigatuzumab (kháng TRAIL-R2), TNX-650 (kháng IL-13), Tocilizumab (Atlizumab, Actemra, RoActemra, (kháng thụ thể IL-6), Toralizumab (kháng CD154 (CD40L)), Tositumomab (kháng CD20), Trastuzumab (Herceptin, (kháng HER2/neu),

Tremelimumab (kháng CTLA-4), Tucotuzumab celmoleukin (kháng EpCAM), Tuvirumab (kháng virus bệnh viêm gan B), Urtioxazumab (kháng vi khuẩn *Escherichia coli*), Ustekinumab (Stelara, kháng IL-12, IL-23), Vapaliximab (kháng AOC3 (VAP-1)), Vedolizumab, (kháng integrin $\alpha_4\beta_7$), Veltuzumab (kháng CD20), Vepalimomab (kháng AOC3 (VAP-1), Visilizumab (Nuvion, kháng CD3), Vitaxin (kháng integrin ở mạch máu), Volociximab (kháng integrin $\alpha_5\beta_1$), Votumumab (HumaSPECT, kháng kháng nguyên khối u CTAA16.88), Zalutumumab (HuMax-EGFr, (kháng EGFR), Zanolimumab (HuMax-CD4, kháng CD4), Ziralimumab (kháng CD147 (basigin)), Zolimomab (kháng CD5), Etanercept (Enbrel®), Alefacept (Amevive®), Abatacept (Orencia®), Rilonacept (Arcalyst), 14F7 [kháng IRP-2 (protein 2 điều hòa sắt)], 14G2a (kháng gangliosid GD2, từ Viện ung thư quốc gia đối với u melanin và các khối u dạng rắn), J591 (kháng PSMA, Trường y Weill Cornell đối với các bệnh ung thư tuyến tiền liệt), 225.28S [kháng HMW-MAA (kháng nguyên liên quan đến u melanin có trọng lượng phân tử cao), Sorin Radiofarmaci S.R.L. (Milan, Ý) đối với u melanin], COL-1 (kháng CEACAM3, CGM1, từ Viện ung thư quốc gia Mỹ đối với bệnh ung thư kết-trực tràng và bệnh ung thư dạ dày), CYT-356 (Oncolad®, đối với các bệnh ung thư tuyến tiền liệt), HNK20 (OraVax Inc. đối với virus hợp bào đường hô hấp), ImmuRAIT (từ Immunomedics đối với NHL), Lym-1 (kháng HLA-DR10, Peregrine Pharm. đối với các bệnh ung thư), MAK-195F [kháng TNF (yếu tố hoại tử khối u; TNFA, TNF-alpha; TNFSF2), từ Abbott/Knoll đối với hội chứng sốc độc tố nhiễm khuẩn], MEDI-500 [T10B9, kháng CD3, TR $\alpha\beta$ (thụ thể alpha/beta của tế bào T), phức hợp từ MedImmune Inc đối với bệnh mô ghép chống lại tác chủ], RING SCAN [kháng TAG 72 (glycoprotein 72 liên quan đến khối u), từ Neoprobe Corp. đối với các bệnh ung thư vú, ruột kết và trực tràng], Avicidin (kháng EPCAM (phân tử bám dính tế bào biểu mô), kháng TACSTD1 (chất tải nạp tín hiệu canxi liên quan đến khối u 1), kháng GA733-2 (protein 2 liên quan đến khối u dạ dày-ruột), kháng EGP-2 (glycoprotein 2 của biểu mô); kháng KSA; kháng nguyên KS1/4; M4S; kháng nguyên khối u 17-1A; CD326, từ NeoRx Corp. đối với bệnh ung thư ruột kết, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tuyến tiền liệt và NHL]; LymphoCide (Immunomedics, NJ), Smart ID10 (Protein Design Labs), Oncolym (Techniclone Inc, CA), Allomune (BioTransplant, CA), kháng VEGF (Genentech, CA); CEAcide (Immunomedics, NJ), IMC-1C11 (ImClone, NJ) và Cetuximab (ImClone, NJ) .

Các kháng thể khác làm phổi tử gắn kết bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các kháng thể đối với các kháng nguyên sau đây: Amino-peptidaza N (CD13), Annexin A1, B7-H3 (CD276, các bệnh ung thư khác nhau), CA125 (buồng trứng), CA15-3 (caxinom), CA19-9 (caxinom), L6 (caxinom), Lewis Y (caxinom), Lewis X (caxinom), alpha fetoprotein (caxinom), CA242 (kết-trực tràng), phosphatase kiềm ở nhau thai (caxinom), kháng nguyên đặc hiệu tuyến tiền liệt (tuyến tiền liệt), axit phosphatase ở tuyến tiền liệt (tuyến tiền liệt), yếu tố sinh trưởng biểu bì (caxinom), CD2 (bệnh Hodgkin, u lymphô NHL, bệnh đa u tủy), epsilon CD3 (u lymphô tế bào T, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư buồng trứng, các bệnh tự miễn, bệnh cổ trướng ác tính), CD19 (bệnh ác tính tế bào ác tính), CD20 (u lymphô không Hodgkin), CD22 (bệnh bạch cầu, u lymphô, bệnh đa u tủy, SLE), CD30 (u lymphô Hodgkin), CD33 (bệnh bạch cầu, các bệnh tự miễn), CD38 (bệnh đa u tủy), CD40 (u lymphô, bệnh đa u tủy, bệnh bạch cầu (CLL)), CD51 (u melanin di căn, bệnh sacôm), CD52 (bệnh bạch cầu), CD56 (bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, bệnh ung thư buồng trứng, caxinom tế bào Merkel, và khối u dạng lỏng, bệnh đa u tủy), CD66e (các bệnh ung thư), CD70 (caxinom tế bào thận di căn và u lymphô không Hodgkin), CD74 (bệnh đa u tủy), CD80 (u lymphô), CD98 (các bệnh ung thư), mucin (caxinom), CD221 (các khối u dạng rắn), CD227 (bệnh ung thư vú, bệnh ung thư buồng trứng), CD262 (NSCLC và các bệnh ung thư khác), CD309 (bệnh ung thư buồng trứng), CD326 (các khối u dạng rắn), CEACAM3 (bệnh ung thư kết-trực tràng, bệnh ung thư dạ dày), CEACAM5 (kháng nguyên ung thư phổi; CEA, CD66e) (bệnh ung thư vú, bệnh ung thư kết-trực tràng và bệnh ung thư phổi), DLL4 (Δ -tương tự-4), EGFR (thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì, các bệnh ung thư khác nhau), CTLA4 (u melanin), CXCR4 (CD184, Heme-oncology, các khối u dạng rắn), Endoglin (CD105, các khối u dạng rắn), EPCAM (phân tử bám dính tế bào biểu mô, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư vùng đầu, bệnh ung thư vùng cổ, bệnh ung thư ruột kết, NHL, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, và bệnh ung thư buồng trứng), ERBB2 (thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì 2; bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt), FCGR1 (các bệnh tự miễn), FOLR (thụ thể folat, bệnh ung thư buồng trứng), gangliosid GD2 (các bệnh ung thư), G-28 (kháng nguyên bề mặt tế bào glycolipid, u melanin), idiotyp GD3 (các bệnh ung thư), các protein sốc nhiệt (các bệnh ung thư), HER1 (bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư dạ dày), HER2 (bệnh ung thư vú, bệnh ung thư

phổi và bệnh ung thư buồng trứng), HLA-DR10 (NHL), HLA-DRB (NHL, bệnh bạch cầu tế bào B), gonadotropin màng đệm của người (caxinom), IGF1R (thụ thể yếu tố sinh trưởng tương tự insulin 1, các khối u dạng rắn, bệnh ung thư máu), thụ thể IL-2 (thụ thể intolokin 2, bệnh bạch cầu tế bào T và u lymphô), IL-6R (thụ thể intolokin 6, bệnh đa u tủy, RA, bệnh Castleman, các khối u phụ thuộc IL6), các integrin ($\alpha\beta3$, $\alpha5\beta1$, $\alpha6\beta4$, $\alpha11\beta3$, $\alpha5\beta5$, $\alpha\nu\beta5$, đối với các bệnh ung thư khác nhau), MAGE-1 (caxinom), MAGE-2 (caxinom), MAGE-3 (caxinom), MAGE 4 (caxinom), thụ thể kháng transferin (caxinom), p97 (u melanin), MS4A1 (thành viên 1 của họ phụ A của 4 vùng xuyên màng, u lymphô tế bào B không phải dạng Hodgkin, bệnh bạch cầu, MUC1 hoặc MUC1-KLH (bệnh ung thư vú, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư cổ tử cung, bệnh ung thư phế quản và bệnh ung thư dạ dày-ruột), MUC16 (CA125) (bệnh ung thư buồng trứng), CEA (kết-trực tràng), gp100 (u melanin), MART1 (u melanin), MPG (u melanin), MS4A1 (họ phụ A của 4 vùng xuyên màng, bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, NHL), Nucleolin, sản phẩm gen gây ung thư Neu (caxinom), P21 (caxinom), Paratop kháng axit N-glycolylneuraminic (bệnh ung thư vú, bệnh ung thư u melanin), phosphataza kiềm ở tinh hoàn tương tự PLAP (bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tinh hoàn), PSMA (các khối u tuyến tiền liệt), PSA (tuyến tiền liệt), ROBO4, TAG 72 (glycoprotein liên quan đến khối u 72, AML, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư kết-trực tràng, bệnh ung thư buồng trứng), protein xuyên màng tế bào T (bệnh ung thư), Tie (CD202b), TNFRSF10B (thành viên 10B của siêu họ thụ thể yếu tố hoại tử khối u, các bệnh ung thư), TNFRSF13B (thành viên 13B của siêu họ thụ thể yếu tố hoại tử khối u, bệnh đa u tủy, NHL, các bệnh ung thư khác, RA và SLE), TPBG (glycoprotein lá nuôi phôi, caxinom tế bào thận), TRAIL-R1 (thụ thể 1 của phổi tử gây chết tế bào theo chương trình và gây hoại tử khối u, u lymphô, NHL, bệnh ung thư kết-trực tràng, bệnh ung thư phổi), VCAM-1 (CD106, u melanin), VEGF, VEGF-A, VEGF-2 (CD309) (các bệnh ung thư khác nhau). Một số kháng nguyên liên quan đến khối u khác được nhận biết bởi các kháng thể đã được xem xét (Gerber, et al, mAbs 1:3, 247-253 (2009); Novellino et al, Cancer Immunol Immunother. 54(3), 187-207 (2005). Franke, et al, Cancer Biother Radiopharm. 2000, 15, 459-76). Ví dụ về các kháng nguyên này là các kháng thể đối với nhiều cụm biệt hóa khác (CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD9, CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CD12w, CD14, CD15, CD16, CDw17, CD18, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD25, CD26, CD27,

CD28, CD29, CD30, CD31, CD32, CD34, CD35, CD36, CD37, CD38, CD41, CD42, CD43, CD44, CD45, CD46, CD47, CD48, CD49b, CD49c, CD53, CD54, CD55, CD56, CD58, CD59, CD61, CD62E, CD62L, CD62P, CD63, CD68, CD69, CD70, CD71, CD72, CD79, CD81, CD82, CD83, CD86, CD87, CD88, CD89, CD90, CD91, CD95, CD96, CD100, CD103, CD105, CD106, CD109, CD117, CD120, CD125, CD127, CD133, CD134, CD135, CD138, CD141, CD142, CD143, CD144, CD147, CD151, CD152, CD154, CD156, CD158, CD163, CD166, CD168, CD184, CDw186, CD195, CD202 (a, b), CD209, CD235a, CD271, CD303, CD304), Annexin A1, Nucleolin, Endoglin (CD105), ROBO4, Amino-peptidaza N, Δ -tương tự-4 (DLL4), VEGFR-2 (CD309), CXCR4 (CD184), Tie2, B7-H3, WT1, MUC1, LMP2, HPV E6 E7, EGFRvIII, HER-2/neu, Idiotyp, MAGE A3, thể không đột biến p53, NY-ESO-1, GD2, CEA, MelanA/MART1, thể đột biến Ras, gp100, thể đột biến p53, Proteinaza3 (PR1), bcr-abl, Tyrosinaza, Survivin, hTERT, điểm bắt đầu chuyển đoạn của bệnh sắcôm, EphA2, PAP, ML-IAP, AFP, EpCAM, ERG (gen dung hợp TMPRSS2 ETS), NA17, PAX3, ALK, thụ thể androgen, cyclin B1, axit polysialic, MYCN, RhoC, TRP-2, GD3, Fucosyl GM1, Mesothelin, PSCA, MAGE A1, sLe(a), CYP11B1, PLAC1, GM3, BORIS, Tn, GloboH, ETV6-AML, NY-BR-1, RGS5, SART3, STn, Cacbon anhydraza IX, PAX5, OY-TES1, protein 17 của tinh trùng, LCK, HMWMAA, AKAP-4, SSX2, XAGE 1, B7H3, Legumain, Tie 2, Page4, VEGFR2, MAD-CT-1, FAP, PDGFR- β , MAD-CT-2, kháng nguyên 1 liên quan đến Fos.

Phương pháp tạo ra các kháng thể được sử dụng trong sáng chế bao gồm các phương pháp *in vivo* hoặc *in vitro* hoặc tổ hợp của chúng. Các phương pháp sản xuất các kháng thể đa dòng kháng thụ thể peptit là đã được biết rõ trong lĩnh vực này, như trong patent Mỹ số 4.493.795 (của Nestor và các đồng tác giả). Kháng thể đơn dòng thường được tạo ra bằng cách dung hợp các tế bào u tuỷ với các tế bào lách từ chuột nhắt đã được gây miễn dịch bằng kháng nguyên mong muốn (Köhler, G.; Milstein, C. (1975). Nature 256: 495-497). Các quy trình chi tiết được mô tả trong tài liệu “Antibodies --A Laboratory Manual”, Harlow and Lane, eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (1988), tài liệu này được đưa vào ở đây để tham khảo. Cụ thể, các kháng thể đơn dòng được tạo ra bằng cách gây miễn dịch chuột nhắt, chuột cống, chuột đồng hoặc động vật có vú khác bất kỳ bằng kháng nguyên quan tâm như tế bào đích nguyên vẹn, các kháng nguyên được phân lập từ tế bào đích, virut

toàn phần, virus toàn phần đã bị giảm độc tính, và các protein của virus. Các tế bào đơn nhân lách thường được dung hợp với các tế bào u tủy bằng cách sử dụng polyetylen glycol (PEG) 6000. Các thể lai đã dung hợp được chọn theo độ tính miễn cảm của chúng với HAT (hypoxanthin-aminopterin-thymine). Các tế bào lai tạo ra kháng thể đơn dòng hữu ích để thực hành sàng chế được nhận biết theo khả năng phản ứng miễn dịch của chúng với các thụ thể đặc biệt hoặc ức chế hoạt tính của thụ thể đối với các tế bào đích.

Kháng thể đơn dòng được sử dụng trong sàng chế có thể được tạo ra bằng cách khơi mào môi trường tế bào lai đơn dòng chứa môi trường chất dinh dưỡng có tế bào lai để tiết ra các phân tử kháng thể có độ đặc hiệu kháng nguyên thích hợp. Môi trường này được duy trì trong các điều kiện và trong khoảng thời gian đủ để tế bào lai tiết ra các phân tử kháng thể vào môi trường này. Sau đó, môi trường chứa kháng thể được thu gom. Tiếp đó, các phân tử kháng thể được phân lập tiếp bằng các kỹ thuật đã biết rõ, như bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký ái lực protein-A, hoặc protein-G; phương pháp sắc ký loại trừ theo anion, cation, tính kỵ nước, hoặc kích thước (cụ thể là theo ái lực đối với kháng nguyên cụ thể sau khi sắc ký cột theo protein A hoặc G, và kích thước); phương pháp sự ly tâm, khả năng hoà tan khác nhau, hoặc bằng kỹ thuật chuẩn khác bất kỳ để tinh chế các protein.

Môi trường hữu ích để điều chế các chế phẩm này đã được biết rõ trong lĩnh vực này và có sẵn trên thị trường và bao gồm cả môi trường nuôi cấy tổng hợp. Môi trường tổng hợp làm ví dụ là môi trường thiết yếu tối thiểu Dulbecco (DMEM; Dulbecco et al., Virol. 8:396 (1959)) được bổ sung glucoza 4,5 gm/l, 20 mM glutamin, huyết thanh bào thai bê 20% và bổ sung chất chống tạo bọt, như copolyme khối polyoxyetylen-polyoxypropylen.

Ngoài ra, các dòng tế bào tạo ra kháng thể cũng có thể được tạo ra bằng kỹ thuật khác với kỹ thuật dung hợp tế bào, như biến nạp trực tiếp các tế bào lymphô B bằng ADN của gen gây ung thư, hoặc chuyển nhiễm bằng virus gây ung thư, như Epstein-Barr (Epstein-Barr virus: EBV, còn được gọi là virus Epstein typ 4 ở người (human herpesvirus 4: HHV-4)) hoặc virus Epstein liên quan đến bệnh sarcoma Kaposi (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus: KSHV). Ví dụ, xem các patent Mỹ số 4.341.761; 4.399.121; 4.427.783; 4.444.887; 4.451.570; 4.466.917; 4.472.500; 4.491.632; 4.493.890. Kháng thể đơn dòng cũng có thể được tạo ra bởi một hoặc nhiều peptit

kháng thụ thể chứa đầu tận cùng carboxyl như đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Xem tài liệu: Niman et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80: 4949-4953 (1983); Geysen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82: 178-182 (1985); Lei et al. *Biochemistry* 34(20): 6675-6688, (1995). Thông thường, peptit hoặc chất tương tự peptit kháng thụ thể được sử dụng một mình hoặc được liên hợp với chất mang tạo miễn dịch, làm chất sinh miễn dịch để sản xuất các kháng thể đơn dòng kháng thụ thể peptit.

Cũng có nhiều kỹ thuật đã biết rõ để tạo ra các kháng thể đơn dòng làm các phân tử gắn kết trong sáng chế. Đặc biệt hữu ích là các phương pháp các kháng thể của người có chiều dài đầy đủ. Một phương pháp là công nghệ biểu hiện thể thực khuẩn, công nghệ này có thể được sử dụng để chọn lọc khoảng các kháng thể của người gắn kết đặc hiệu với kháng nguyên bằng cách sử dụng phương pháp làm giàu ái lực. Công nghệ biểu hiện thể thực khuẩn đã được mô tả đầy đủ trong tài liệu chuyên ngành và phương pháp tạo cấu trúc và sàng lọc thư viện biểu hiện thể thực khuẩn là đã được biết rõ trong lĩnh vực này, ví dụ, xem các tài liệu: Dente et al, *Gene*. 148(1):7-13 (1994); Little et al, *Biotechnol Adv.* 12(3):539-55 (1994); Clackson et al., *Nature* 352:264-268 (1991); Huse et al., *Science* 246:1275-1281 (1989), Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (2001) (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, N.J.), và theo một số phương án, nội dung này được mô tả trong tài liệu: Lee et al. *J. Mol. Biol.* 340:1073-1093 (2004).

Các kháng thể đơn dòng thu được bằng kỹ thuật tế bào lai từ các loài khác với người, như chuột nhắt, có thể được làm cho giống với kháng thể của người để tránh các các kháng thể người kháng kháng thể của chuột nhắt khi được dung hợp vào người. Các phương pháp phổ biến hơn để làm cho các kháng thể giống với kháng thể của người là phương pháp ghép và tái tạo bề mặt của vùng quyết định tính bổ trợ. Các phương pháp này đã được mô tả rộng rãi, ví dụ, xem các tài liệu: các patent Mỹ số 5.859.205 và 6.797.492; Liu et al, *Immunol Rev.* 222:9-27 (2008); Almagro et al, *Front Biosci.* 1;13:1619-33 (2008); Lazar et al, *Mol Immunol.* 44(8):1986-98 (2007); Li et al, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103(10):3557-62 (2006), mỗi tài liệu này được đưa vào đây để tham khảo. Các kháng thể đầy đủ của người cũng có thể được tạo ra bằng cách gây miễn dịch chuột chuyển gen, thỏ, khỉ, hoặc động vật có vú khác, mang phần lớn chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch của người, bằng tác nhân gây miễn dịch. Các ví dụ về chuột nhắt này là: chuột Xenomouse (Abgenix/Amgen.),

chuột HuMAb-Mouse (Medarex/BMS), chuột VelociMouse (Regeneron), xem thêm các patent Mỹ số số 6.596.541, 6.207.418, 6.150.584, 6.111.166, 6.075.181, 5.922.545, 5.661.016, 5.545.806, 5.436.149 và 5.569.825. Trong liệu pháp ở người, các vùng biến đổi của chuột và các vùng ổn định của người cũng có thể được dung hợp với cấu trúc được gọi là “các kháng thể thể khảm” có khả năng gây miễn dịch ở người ít hơn đáng kể so với các kháng thể mAb của chuột (Kipriyanov et al, Mol Biotechnol. 26: 39-60 (2004); Houdebine, Curr Opin Biotechnol. 13: 625-9 (2002) mỗi tài liệu này được đưa vào đây để tham khảo). Ngoài ra, phương pháp gây đột biến định hướng vị trí trong các vùng biến đổi của kháng thể có thể tạo ra kháng thể có ái lực và độ đặc hiệu cao hơn đối với kháng nguyên của nó (Brannigan et al, Nat Rev Mol Cell Biol. 3: 964-70, (2002)); Adams et al, J Immunol Methods. 231: 249-60 (1999)) và sự trao đổi các vùng ổn định của kháng thể mAb có thể cải thiện khả năng của nó để làm trung gian cho chức năng hiệu ứng của sự gắn kết và độc tính tế bào.

Các kháng thể đặc hiệu miễn dịch đối với kháng nguyên của tế bào ác tính cũng có thể mua được trên thị trường hoặc được tạo ra bằng phương pháp bất kỳ đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, ví dụ như phương pháp tổng hợp hóa học hoặc phương pháp biểu hiện tái tổ hợp. Các kháng thể mã hóa trình tự nucleotit đặc hiệu miễn dịch đối với kháng nguyên của tế bào ác tính có thể mua được trên thị trường, ví dụ, từ cơ sở dữ liệu của GenBank hoặc cơ sở dữ liệu tương tự, các tài liệu công bố, hoặc bằng phương pháp tách dòng và giải trình tự thông thường.

Các kháng thể đơn dòng thu được từ tế bào lai mã hóa ADN hoặc các dòng Fv biểu hiện thể thực khuẩn của kháng thể này có thể được phân lập hoặc giải trình tự dễ dàng bằng cách sử dụng các phương pháp thông thường (ví dụ, bằng cách sử dụng các đoạn mồi oligonucleotit được thiết kế khuếch đại đặc hiệu các vùng mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ quan tâm từ khuôn AND của tế bào lai hoặc thể thực khuẩn). Khi được phân lập, ADN có thể được đưa vào các vector biểu hiện, sau đó các vector này được chuyển nhiễm vào các tế bào chủ như các tế bào E. coli, các tế bào COS của khỉ, các tế bào buồng trứng chuột đồng Trung Quốc (Chinese hamster ovary:CHO), hoặc các tế bào u tủy, các tế bào này không tạo ra protein globulin miễn dịch theo cách khác, để thu được quá trình tổng hợp các kháng thể đơn dòng mong muốn trong các tế bào chủ tái tổ hợp (Skerra et al., Curr. Opinion in Immunol., 5: 256 (1993) và Pluckthun, Immunol. Revs, 130: 151 (1992)). Các kháng thể cũng có thể được tạo ra

bằng cách sử dụng hệ biểu hiện trong đó tỷ lệ định lượng của các thành phần polypeptit được biểu hiện có thể được điều biến để làm tăng tối đa hiệu suất của các kháng thể được tiết ra và lắp ráp thích hợp. Sự điều biến này được thực hiện ít nhất một phần bằng cách điều biến đồng thời mức độ dịch mã của các thành phần polypeptit. Sau quá trình lên men đã được biết trong lĩnh vực này, protein của kháng thể tạo thành được tinh chế thêm để thu được sản phẩm gần như đồng nhất để thử nghiệm và sử dụng tiếp. Các phương pháp tinh chế protein chuẩn đã biết trong lĩnh vực này có thể được sử dụng. Các phương pháp tinh chế làm ví dụ: phương pháp cắt phân đoạn ái lực miễn dịch (như các cột protein A) hoặc cột trao đổi ion, phương pháp kết tủa bằng etanol, phương pháp HPLC pha ngược, phương pháp sắc ký trên silic oxit hoặc trên nhựa trao đổi cation như DEAE, phương pháp sắc ký theo điểm đẳng điện, phương pháp điện di SDS-PAGE, phương pháp kết tủa amoni sulfat, và phương pháp lọc gel bằng cách sử dụng, ví dụ, Sephadex G-75.

Ngoài kháng thể, peptit hoặc protein gắn kết/ngăn chặn/hướng đích hoặc theo một số cách khác tương tác với các epitop hoặc thụ thể tương ứng trên tế bào được hướng đích có thể được sử dụng làm phân tử gắn kết. Các peptit hoặc protein này có thể là peptit hoặc các protein ngẫu nhiên bất kỳ có ái lực đối với các epitop hoặc thụ thể tương ứng và chúng không nhất thiết phải là họ globulin miễn dịch. Các peptit này có thể được phân lập bằng các kỹ thuật tương tự như đối với các kháng thể biểu hiện thể thực khuẩn (Szardenings, J Recept Signal Transduct Res. 23(4): 307-49, 2003). Việc sử dụng các peptit từ thư viện peptit ngẫu nhiên này có thể tương tự với các kháng thể và đoạn kháng thể. Các phân tử gắn kết của peptit hoặc protein có thể được liên hợp trên hoặc được liên kết với các phân tử hoặc chất lớn hơn, ví dụ như, nhưng không chỉ giới hạn ở, albumin, polyme, liposom, hạt nano, miễn là sự gắn kết này cho phép peptit hoặc protein này vẫn duy trì được độ đặc hiệu gắn kết kháng nguyên của nó.

Nhóm bất kỳ trong số vài nhóm có khả năng phản ứng khác nhau trên chất gắn kết tế bào, tốt hơn là trên kháng thể, có thể là vị trí liên hợp, như các nhóm ϵ -amin trong gốc lysin, các gốc hydrat cacbon ở nhóm biên, nhóm axit carboxylic, nhóm disulfua, và nhóm thiol. Để xem xét các các nhóm kháng thể có khả năng phản ứng thích hợp để liên hợp, ví dụ, xem các tài liệu: Hermanson, G.T. (2008). Bioconjugate Techniques, Academic Press; Garnett, Adv. Drug Delivery Rev. 53 (2001), 171-216

và Dubowchik and Walker, *Pharmacology & Therapeutics* 83 (1999), 67-123, các tài liệu trong số các tài liệu này được đưa vào đây để tham khảo.

Các chất gây độc tế bào của sáng chế này có thể được liên hợp (liên kết) trực tiếp với chất gắn kết tế bào, hoặc bằng nhóm liên kết hai chức hoặc chất tạo liên kết ngang với chất gắn kết tế bào. Nhóm liên kết hai chức có hai nhóm có khả năng phản ứng; một trong hai nhóm này có khả năng phản ứng chất gắn kết tế bào trong khi nhóm còn lại phản ứng với một hoặc nhiều phân tử của chất gây độc tế bào theo sáng chế. Nhóm liên kết ngang hai chức là đã được biết rõ trong lĩnh vực này (ví dụ, xem các tài liệu: patent Mỹ số 5.208.020; Isalm and Dent in "Bioconjugation" chapter 5, p 218-363, Groves Dictionaries Inc. New York, 1999). Ví dụ về nhóm liên kết hai chức bao gồm: N-succinimidyl-3-(2-pyridyldithio)propionat (SPDP), N-succinimidyl-4-(2-pyridyldithio)butyrat (SPDB), N-succinimidyl-4-(2-pyridyldithio)pentanoat (SPP), N-succinimidyl-3-(2-pyridyldithio)-butyrat (SDPB), 2-iminothiolan, N-succinimidyl-4-(5-nitro-2-pyridyldithio) butyrat (SNPB), N-succinimidyl 4-(5-nitro-2-pyridyldithio)-pentanoat (SNPP), N-sulfosuccinimidyl-4-(5-nitro-2-pyridyldithio) butyrat (SSNPB), N-succinimidyl-4-metyl-4-(5-nitro-2-pyridyldithio)pentanoat (SMNP), N-sulfosuccinimidyl 4-(5-nitro-2-pyridyldithio)-pentanoat (SSNPP), 4-succinimidyl-oxycarbonyl- α -metyl- α -(2-pyridyldithio)-toluen (SMPT), N-sulfosuccinimidyl-4-metyl-4-(5-nitro-2-pyridyldithio)pentanoat (SSMNP); N-succinimidyl-4-metyl-4-(2-pyridyldithio)pentanoat (SMPDP), N-succinimidyl-4-(5-N,N-dimetyl-carboxamido-2-pyridyldithio) butyrat (SCPB), N-sulfosuccinimidyl-4-(5-N,N-dimetyl-carboxamido-2-pyridyldithio) butyrat (SSCPB), N-succinimidyl-4,4-dimetyl-4-(2-pyridyldithio)pentanoat (SDMPDP), succinimidyl-4-(N-maleimidometyl)xyclohexan-1-carboxylat (SMCC), N-succinimidyl-4-(iodoaxetyl)-aminobenzoat (SIAB), bis-maleimidopolyetylglycol (BMPEG), BM(PEG)₁₋₂₀, este N-(β -maleimidopropyl-oxyl)-succinimit (BMPS), iminothiolan (IT), dimetyl adipimidat HCl hoặc dẫn xuất của imidoeste, các este hoạt tính (như disuccinimidyl suberat), các aldehyt (như glutaraldehyt), các hợp chất bis-azido (như bis(p-azidobenzoyl) hexandiamin), dẫn xuất bis-diazoni (như bis-(p-diazonibenzoyl)-etylendiamin), các hợp chất diizoxyanat (như toluen 2,6-diizoxyanat), và các hợp chất flo có hoạt tính bis (như 1,5-diflo-2,4-dinitrobenzen), gamma-maleimidobutyric axit N-succinimidyl ester (GMBS), este N-hydroxysuccinimit của axit E-maleimidocaproic (EMCS), axit 5-

maleimidovaleric, NHS, HBVS, N-succinimidyl-4-(N-maleimidometyl)-xyclohexan-1-carboxy-(6-amidocaproat) (chất tương tự "mạch dài" của SMCC (LC-SMCC)), este m-maleimidobenzoyl-N-hydroxysuccinimit (MBS), hydrazit axit 4-(4-N-maleimidophenyl)-butyric hoặc muối HCl (MPBH), N-succinimidyl 3-(bromaxetamido)propionat (SBAP), N-succinimidyl iodoaxetat (SIA), este N-succinimidyl của axit kappa-maleimidoundecanoic (KMUA), N-succinimidyl 4-(p-maleimidophenyl)-butyrat (SMPB), succinimidyl-6-(beta-maleimidopropionamido)-hexanoat (SMPH), succinimidyl-(4-vinylsulfonyl)benzoat (SVSB), dithiobis-maleimidoetan (DTME), 1,4-bis-maleimidobutan (BMB), 1,4 bismaleimidyl-2,3-dihydroxybutan (BMDB), bis-maleimidohexan (BMH), bis-maleimidoetan (BMOE), sulfosuccinimidyl 4-(N-maleimido-metyl)xyclohexan-1-carboxylat (sulfo-SMCC), sulfosuccinimidyl(4-iodo-axetyl)aminobenzoat (sulfo-SIAB), este m-maleimidobenzoyl-N-hydroxysulfosuccinimit (sulfo-MBS), este N-(gamma-maleimidobutryloxy)sulfo-succinimit (sulfo-GMBS), este N-(epsilon-maleimidocaproyloxy)sulfosuccimido (sulfo-EMCS), este N-(kappa-maleimidoundecanoyloxy)sulfosuccinimit (sulfo-KMUS), và sulfosuccinimidyl 4-(p-maleimidophenyl)butyrat (sulfo-SMPB); hoặc các nhóm liên kết có bán trên thị trường (như từ Thermo Scientific's Pierce: Imidoester Crosslinkers: DMA (Dimetyl adipimidat•2 HCl), DMP (Dimetyl pimelimidat•2 HCl), DMS (Dimetyl Suberimidat•2 HCl), DTBP (Dimetyl 3,3'-dithiobispropionimidat•2 HCl); NHS-nhóm liên kết ngang este-Amin có khả năng phản ứng: BS(PEG)₅ (Bis(succinimidyl) penta(etylen glycol), BS(PEG)₉ (Bis(succinimidyl) nona(etylen glycol), BS³ (Bis[sulfosuccinimidyl] suberat), BSOCOES (Bis[2-(succinimidooxycacbonxyloxy)etyl]sulfon), DSG (Disuccinimidyl glutarat), DSP (Dithiobis[succinimidyl propionat]), DSS (Disuccinimidyl suberat), DST (Disuccinimidyl tartrat), DTSSP (3,3'-Dithiobis[sulfosuccinimidylpropionat]), EGS (Etylen glycol bis[succinimidylsuccinat]), Sulfo-EGS (Etylen glycol bis[sulfosuccinimidylsuccinat]), TSAT (Tris-succinimidyl aminotriaxetat), DFDNB (1,5-Diflo-2,4-dinitrobenzen); Amin-với-nhóm liên kết ngang Sulfhydryl: Sulfo-SIAB (Sulfosuccinimidyl (4-iodoaxetyl)aminobenzoat), SIAB (Succinimidyl (4-iodoaxetyl)aminobenzoat), SBAP(Succinimidyl 3-(bromoaxetamido)propionat), SIA (Succinimidyl iodoaxetat), Sulfo-SMCC (Sulfosuccinimidyl-4-(N-maleimidometyl)-

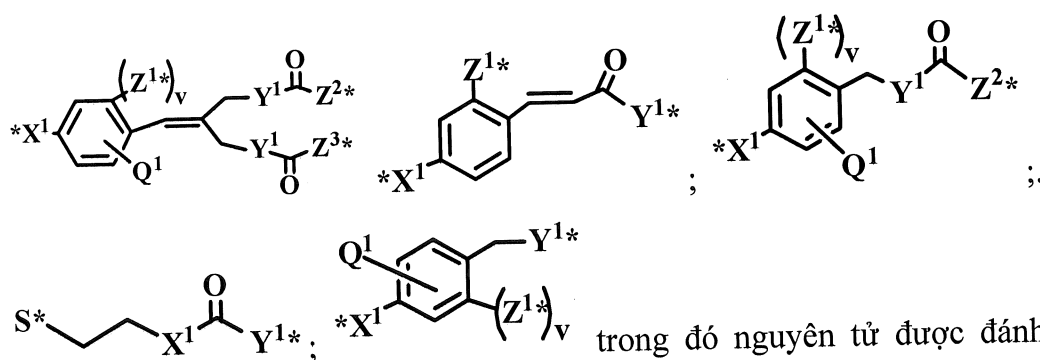
cyclohexan-1-carboxylat), SM(PEG)_n (NHS-PEG-Maleimide nhóm liên kết ngang:
 Succinimidyl-([N-maleimidopropionamido])-#ethylenglycol)este, # = 1 2, 3, 4, 5, 6, 7,
 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 20, 22, 24), LC-SMCC (Succinimidyl 4-(N-
 maleimidomethyl) cyclohexan-1-carboxy-(6-amidocaproate)), Sulfo-EMCS (N-epsilon-
 Maleimidocaproyl-oxysulfosuccinimide este), EMCS (N-epsilon-Maleimidocaproyl-
 oxysuccinimide este), Sulfo-GMBS (N-gamma-Maleimidobutyryl-oxysulfosuccinimide
 este), GMBS (N-gamma-Maleimidobutyryl-oxysuccinimide este), Sulfo-KMUS (N-
 kappa-Maleimidoundecanoyl-oxysulfosuccinimide este), Sulfo-MBS (m-
 Maleimidobenzoyl-N-hydroxysulfosuccinimide este), MBS (m-Maleimidobenzoyl-N-
 hydroxysuccinimide este), Sulfo-SMPB ((Sulfosuccinimidyl 4-(p-
 maleimidophenyl)butyrate), SMPB (Succinimidyl 4-(p-maleimidophenyl)butyrate),
 AMAS N-(alpha-Maleimidoacetoxysuccinimide este), BMPS (N-beta-Maleimidopropyl-
 oxysuccinimide este), SMPH (Succinimidyl 6-[(beta-
 maleimidopropionamido)hexanoate]), PEG12-SPDP (2-Pyridyldithiol-
 tetraoxaocatriacontan-N-hydroxysuccinimide), PEG4-SPDP (2-Pyridyldithiol-
 tetraoxatetradecan-N-hydroxysuccinimide), Sulfo-LC-SPDP (Sulfosuccinimidyl 6-[3'-
 (2-pyridyldithio)propionamido]hexanoate), LC-SPDP (Succinimidyl 6-[3-(2-
 pyridyldithio)propionamido]hexanoate), SMPT (4-Succinimidyl-oxycarbonyl-alpha-
 methyl-alpha(2-pyridyldithio)toluene); Carboxyl-to-Amine Nhóm liên kết ngang: DCC
 (Dicyclohexylcarbodiimide), EDC (1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide);
 Nhóm liên kết ngang có khả năng phản ứng quang học : ANB-NOS (N-5-Azido-2-
 nitrobenzoyloxysuccinimide), Nhóm liên kết ngang NHS-Diazirine (SDA): SDA (NHS-
 Diazirine) (Succinimidyl 4,4'-azipentanoate), LC-SDA (NHS-LC-
 Diazirine) (Succinimidyl 6-(4,4'-azipentanamide)hexanoate), SDAD (NHS-SS-
 Diazirine) (Succinimidyl 2-([4,4'-azipentanamide]ethyl)-1,3'-dithiopropionate), Sulfo-
 SDA (Sulfo-NHS-Diazirine) (Sulfosuccinimidyl 4,4'-azipentanoate), Sulfo-LC-SDA
 (Sulfo-NHS-LC-Diazirine) (Sulfosuccinimidyl 6-(4,4'-azipentanamide)hexanoate),
 Sulfo-SDAD (Sulfo-NHS-SS-Diazirine) (Sulfosuccinimidyl 2-([4,4'-
 azipentanamide]ethyl)-1,3'-dithiopropionate), Sulfo-SANPAH (Sulfosuccinimidyl 6-(4'-
 azido-2'-nitrophenylamino)-hexanoate), SPB (Succinimidyl-[4-(psoralen-8-yloxy)]-
 butyrate); Sulfhydryl-với-nhóm liên kết ngang hydrat cacbon: BMPH (hydrazide axit N-
 beta-Maleimidopropionic -TFA), EMCH (hydrazide axit N-epsilon-Maleimidocaproic-

TFA), KMHU (hydrazit axit N-kappa-Maleimidoundecanoic-TFA), MPBH (hydrazit axit 4-(4-N-Maleimidophenyl)butyric-HCl), PDPH (3-(2-Pyridyldithio)propionyl hydrazit); Sulfhydryl-với-nhóm liên kết ngang hydroxyl: PMPI (p-Maleimidophenyl izoxyanat); Sulfhydryl-với-nhóm liên kết ngang Sulfhydryl: BM(PEG)2 (1,8-Bismaleimido-dietylglycol), BM(PEG)3 (1,11-Bismaleimido-trietylglycol), BMB (1,4-Bismaleimidobutan), BMDB (1,4-Bismaleimidyl-2,3-dihydroxybutan), BMH (Bismaleimidohehexan), BMOE (Bismaleimidoetan), DTME (Dithiobismaleimido-etan), TMEA (Tris(2-maleimidoetyl)amin) và SVSB (succinimidyl-(4-vinylsulfon)benzoat).

Các chất phản ứng bis-Maleimit hoặc bis-2-pyridyldithiol cho phép sự gắn kết nhóm thiol của chất gắn kết tế bào chứa thiol (như kháng thể) với gốc được chất chứa thiol, nguyên tử đánh dấu, hoặc hợp chất trung gian của nhóm liên kết, theo kiểu lần lượt hoặc đồng thời. Các nhóm chức khác, ngoài maleimit và pyridyldithiol, có khả năng phản ứng với nhóm thiol của chất gắn kết tế bào, gốc được chất, nguyên tử đánh dấu, hoặc hợp chất trung gian của nhóm liên kết bao gồm iodoaxetamit, bromaxetamit, vinyl pyridin, disulfua, pyridyl disulfua, izoxyanat, và isothioxyanat.

Theo các phương án bổ sung, nhóm liên kết có thể bao gồm một hoặc nhiều thành phần nhóm liên kết. Các thành phần nhóm liên kết làm ví dụ bao gồm:

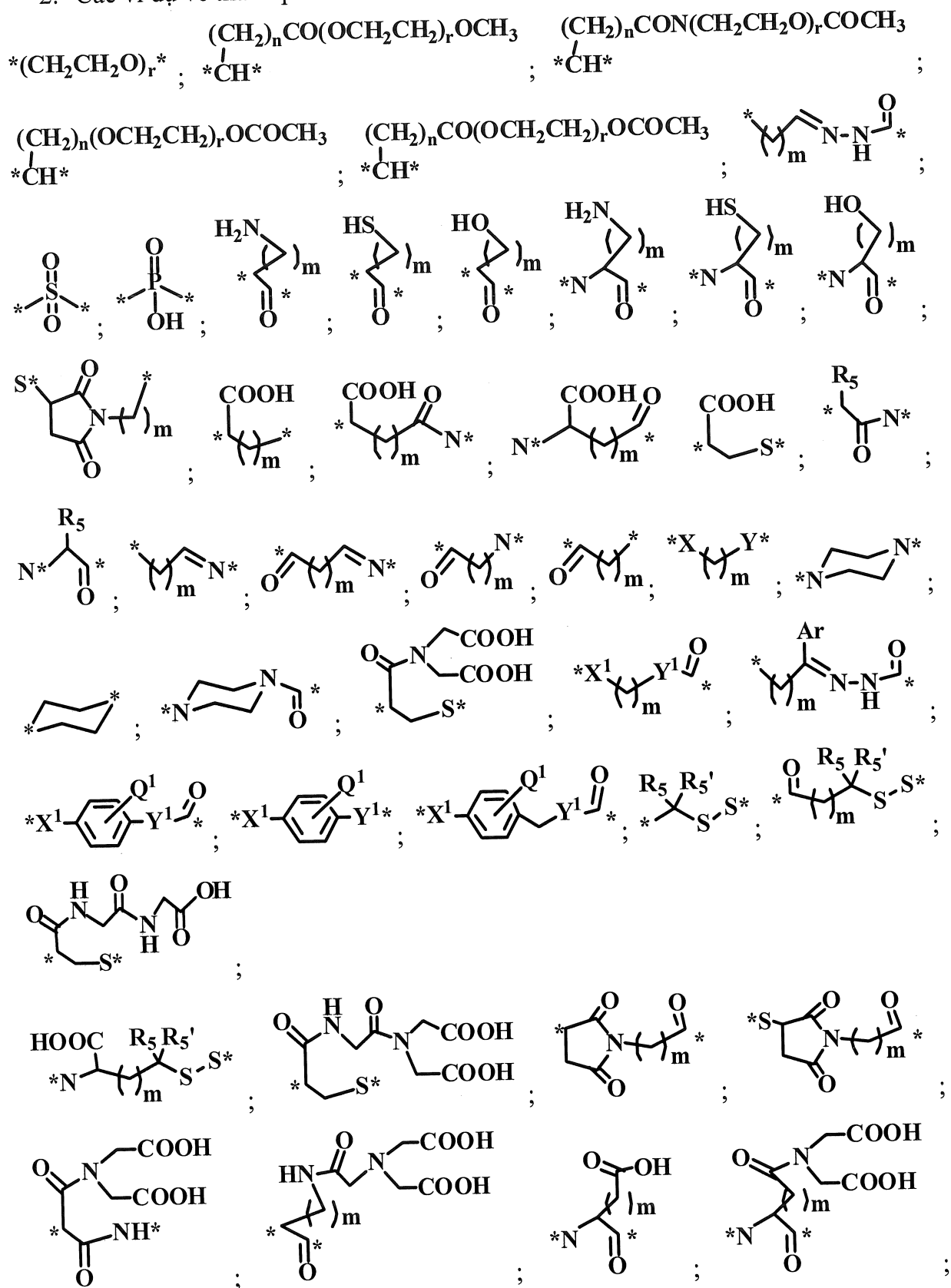
1. Các thành phần nhóm liên kết tự phân hủy:

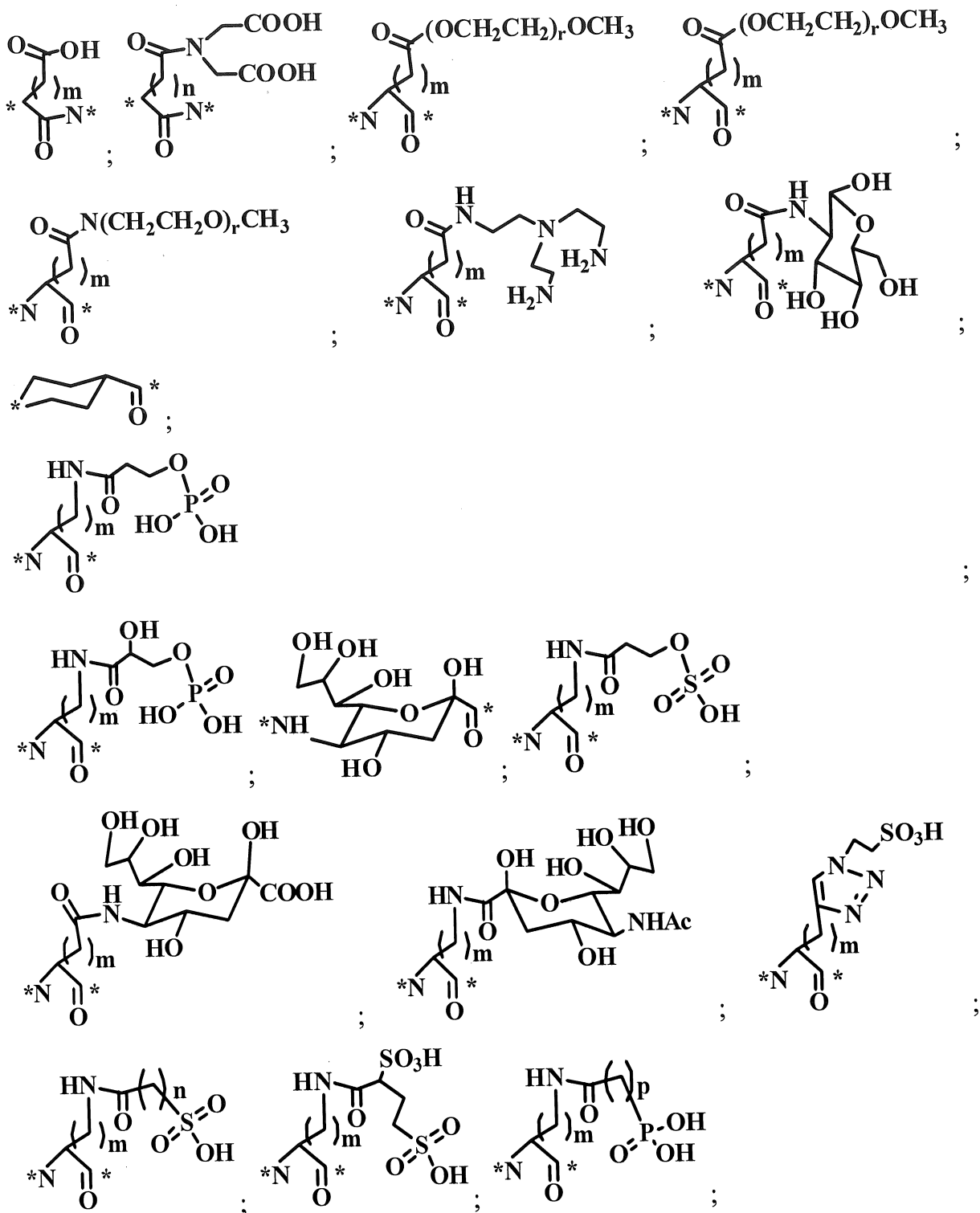


trong đó nguyên tử được đánh dấu (*) là điểm gắn kết của nhóm đệm bổ sung hoặc đơn vị của nhóm liên kết có thể giải phóng, hoặc chất gây độc tế bào, và/hoặc phân tử gắn kết tế bào (CBA); X^1 , Y^1 , Z^2 và Z^3 độc lập là NH, hoặc O, hoặc S; Z^1 là H, hoặc NH, hoặc O hoặc S độc lập. v bằng 0 hoặc 1; Q^1 độc lập là H, OH, $C_1\sim C_6$ alkyl, $(OCH_2CH_2)_n$ F, Cl, Br, I, OR_5 , hoặc SR_5 , NR_5R_5 , $N=NR_5$, $N=R_5$, NR_5R_5 , NO_2 , SOR_5R_5 , SO_2R_5 , SO_3R_5 , OSO_3R_5 , PR_5R_5 , POR_5R_5 , $PO_2R_5R_5$, $OPO(OR_5)(OR_5)$, hoặc $OCH_2PO(OR_5)(OR_5)$ trong đó R_5 và R_5 được mô tả trong Công thức (I), tốt hơn nếu R_5 và R_5 độc lập được chọn từ H, $C_1\sim C_8$ alkyl;

C₂~C₈ alkenyl, alkynyl, heteroalkyl; C₃~C₈ aryl, dị vòng, vòng cacbon, xycloalkyl, heteroxycloalkyl, heteroaralkyl, alkylcarbonyl; hoặc các muối cation được dùng

2. Các ví dụ về thành phần nhóm liên kết không tự phân hủy:





Trong đó nguyên tử được đánh dấu (*) là điểm gắn kết của nhóm đệm hoặc nhóm liên kết có thể giải phóng bổ sung, các chất gây độc tế bào, và/hoặc phân tử gắn kết; X^1 , Y^1 , Q^1 , R_5 , R_5 , và R là như được xác định trong Công thức (I); m , n và p nằm trong khoảng từ 0 đến 6.

3. Các thành phần nhóm liên kết làm ví dụ có thể bao gồm 6-maleimidocaproyl ("MC"), maleimidopropanoyl ("MP"), valin-xitruin ("val-cit" hoặc "vc"), alanin-phenylalanin ("ala-phe" hoặc "af"), p-aminobenzyloxy-cacbonyl ("PAB"), N-

succinimidyl 4-(2-pyridylthio)pentanoat ("SPP"), N-succinimidyl 4-(N-maleimidomethyl)xyclohexan-1 carboxylat ("SMCC"), N-Succinimidyl (4-iodo-axetyl)amino-benzoat ("SIAB"), etylenoxy ($--CH_2CH_2O--$) làm một hoặc nhiều đơn vị lặp lại ("EO" hoặc "PEO"). Các thành phần nhóm liên kết bổ sung là đã biết trong lĩnh vực này và một số thành phần được mô tả trong đơn sáng chế này.

Theo các phương án bổ sung, nhóm liên kết có thể chứa các gốc axit amin. Các thành phần nhóm liên kết chứa axit amin làm ví dụ bao gồm dipeptit, tripeptit, tetrapeptit hoặc pentapeptit. Các dipeptit làm ví dụ bao gồm: valin-xitruilin (VC hoặc val-cit), alanin-phenylalanin (af hoặc ala-phe). Các tripeptit làm ví dụ bao gồm: glyxin-valin-xitruilin (gly-val-cit) và glyxin-glyxin-glyxin (gly-gly-gly). Các gốc axit amin mà thành phần nhóm liên kết chứa bao gồm các gốc axit amin có trong tự nhiên, cũng như các axit amin nhỏ và các chất tương tự axit amin không có trong tự nhiên, như xitruilin. Các thành phần nhóm liên kết có axit amin có thể được thiết kế và tối ưu hóa theo độ chọn lọc của chúng đối với sự phân giải enzym bằng các enzym cụ thể, ví dụ, proteaza liên quan đến khối u, cathepsin B, C và D, hoặc plasmin proteaza.

Trong các thể liên hợp tế bào-chất liên kết-được chất theo sáng chế, chất liên kết tế bào (CBA) được liên hợp với một hoặc nhiều gốc được chất (được chất, hoặc dẫn xuất PBD), ví dụ khoảng từ 1 đến 20 gốc được chất/chất liên kết tế bào, qua nhóm liên kết hai chức (L). Thể liên hợp có công thức từ (II-1) đến (II-91) có thể được điều chế bằng một số cách, bằng cách sử dụng các phản ứng hoá hữu cơ, các điều kiện, và chất phản ứng đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, bao gồm: (1) trước tiên, cải biến chất liên kết tế bào (CBA) bằng nhóm liên kết ngang (L) trong dung dịch trong nước có độ pH nằm trong khoảng từ 3 đến 9, tùy ý có chất đồng dung môi hữu cơ 0 ~ 30% để đưa các nhóm disulfua, maleimido, haloaxetyl, hydrazit, nitril, alkynyl, alkyloxyamino hoặc aldehyt có khả năng phản ứng vào chất liên kết tế bào, để tạo ra CBA-L được liên kết cộng hoá trị. Sau đó, phân tử CBA-L phản ứng với gốc được chất (được chất) có công thức (I) để tạo ra thể liên hợp chất gắn kết tế bào – được chất; hoặc (2) trước tiên, cải biến gốc được chất (được chất) có công thức (I) bằng nhóm liên kết ngang (L) trong môi trường hữu cơ hoặc trong dung dịch đậm trong nước có độ pH nằm trong khoảng từ 3 đến 9, tùy ý có chất đồng dung môi hữu cơ 0 ~ 99% để đưa nhóm disulfua, maleimido, haloaxetyl, hydrazit, nitril, alkynyl, alkyloxyamino, aldehyt, N-hydroxysuccinimit (NHS) hoặc pentaflorophenyl este vào

gốc dược chất (phân tử -dược chất L được liên kết cộng hoá trị). Sau đó, phân tử dược chất-L phản ứng với chất gắn kết tế bào (CBA), hoặc CBA được cải biến sơ bộ để tạo ra thể liên hợp chất gắn kết tế bào – dược chất; hoặc (3) cho chất liên kết tế bào phản ứng trực tiếp với các gốc dược chất có công thức (I) mang các nhóm chức có khả năng phản ứng của disulfua, maleimido, haloaxetyl, hydrazit, nitril, alkynyl, alkyloxyamino, aldehyt, N-hydroxysuccinimit (NHS) hoặc pentaflorophenyl este trong dung dịch đậm trong nước ở độ pH nằm trong khoảng từ 3 đến 9, tùy ý có chất đồng dung môi hữu cơ 0 ~ 30%.

Các nhóm thiol hoặc amin trên chất gắn kết tế bào, như kháng thể, là nhóm ái nhân và có khả năng phản ứng để tạo ra các liên kết cộng hoá trị với các nhóm ái điện tử trên các chất phản ứng của nhóm liên kết và các hợp chất trung gian dược chất-nhóm liên kết bao gồm: (i) các este hoạt tính như các este NHS, các este HOBt, haloformat, và halogenua axit; (ii) các hợp chất halogenua alkyl và benzyl, như haloaxetamit; (iii) các aldehyt, keton, carboxyl, và nhóm maleimit; và (iv) các hợp chất disulfua, bao gồm pyridyl disulfua, bằng cách trao đổi sulfua. Các nhóm ái nhân trên gốc dược chất bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: các nhóm amin, thiol, hydroxyl, hydrazit, oxim, hydrazin, thiosemicarbazon, hydrazin carboxylat, và arylhydrazit có khả năng phản ứng để tạo ra liên kết cộng hoá trị với các nhóm ái điện tử trên các gốc của nhóm liên kết và các chất phản ứng của nhóm liên kết.

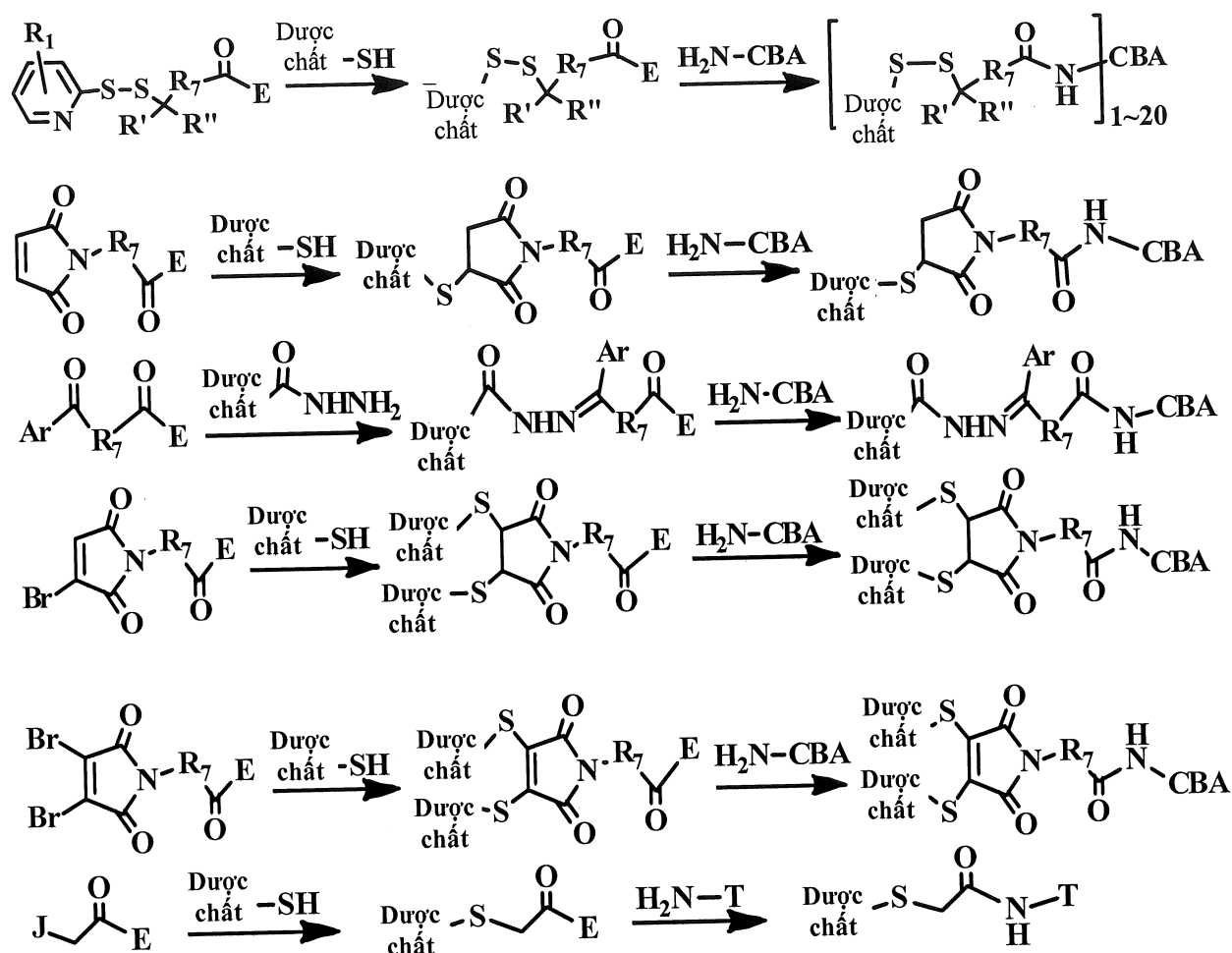
Các nhóm ái nhân trên các kháng thể hoặc protein có thể phản ứng các nhóm ái điện tử trên nhóm liên kết chức năng, sau đó phản ứng với chất gây độc tế bào, hoặc phản ứng trực tiếp với nhóm liên kết-gốc của chất gây độc tế bào để tạo ra thể liên hợp liên kết cộng hoá trị của chất gắn kết tế bào-chất gây độc tế bào. Các nhóm ái nhân trên các kháng thể hoặc protein bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: (i) các nhóm amin ở đầu tận cùng N, (ii) các nhóm amin ở mạch bên, ví dụ, lysin, (iii) các nhóm thiol ở mạch bên, ví dụ, xystein, và (iv) các nhóm hydroxyl đường hoặc nhóm amino trong đó kháng thể được glycosyl hóa. Các nhóm amin, thiol, và hydroxyl là nhóm ái nhân và có khả năng phản ứng để tạo ra liên kết cộng hoá trị với các nhóm ái điện tử trên các gốc của nhóm liên kết và nhóm liên kết-các gốc của chất gây độc tế bào bao gồm: (i) các este hoạt tính như các este NHS, các este HOBt, haloformat, và halogenua axit; (ii) các hợp chất halogenua alkyl và benzyl như haloaxetamit; (iii) các hợp chất aldehyts, keton, carboxyl, và nhóm maleimit. Một số kháng thể có liên kết

disulfua giữa các mạch có thể khử, tức là các liên kết cầu xystein có thể được làm cho có khả năng phản ứng bằng cách xử lý bằng chất khử như DTT (dithiotreitol), L-glutathion (GSH), dithioerythritol (DTE), 2-mercaptoethylamin (β -MEA), beta mercaptoetanol (β -ME, 2-ME), hoặc tricarbonyletylphosphin (TCEP) (Getz et al (1999) Anal. Biochem. Vol 273:73-80; Soltec Ventures, Beverly, Mass.). Do đó, về mặt lý thuyết, mỗi liên kết cầu xystein sẽ tạo ra hai ái nhân thiol có khả năng phản ứng. Theo cách khác, các nhóm sulfhydryl có thể được đưa vào các kháng thể bằng cách cải biến các gốc lysin, ví dụ bằng cách cho các gốc lysin phản ứng với 2-iminothiolan (chất phản ứng Traut), dẫn đến sự chuyển hoá của amin thành thiol. Các nhóm thiol có khả năng phản ứng có thể được đưa vào kháng thể bằng cách đưa một, hai, ba, bốn, hoặc nhiều gốc xystein (ví dụ, bằng cách tạo ra các kháng thể của biến thể chứa một hoặc nhiều gốc axit amin xystein không tự nhiên). Do đó, thiol tự do trên các chất gắn kết tế bào có thể được liên hợp với các nhóm có khả năng phản ứng thiol như maleimit, iodoacetamid, pyridyl disulfua, hoặc các nhóm có khả năng phản ứng thiol khác trên các chất gây độc tế bào, hoặc các sản phẩm trung gian nhóm liên kết-chất gây độc tế bào theo sáng chế. Một số thiol tự do không được liên hợp trên các kháng thể có thể là oxy hóa lại để tái tạo ra các liên kết disulfua giữa mạch và trong mạch.

Các thể liên hợp kháng thể-được chất theo sáng chế cũng có thể được tạo ra bằng phản ứng giữa nhóm ái điện tử trên kháng thể, như nhóm aldehyt hoặc keton cacbonyl, với nhóm ái nhân trên chất phản ứng của nhóm liên kết hoặc được chất. Các nhóm ái nhân hữu ích trên chất phản ứng của nhóm liên kết bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, hydrazit, oxim, amino, hydrazin, thiosemicarbazon, hydrazin carboxylat, và arylhydrazit. Theo một phương án, kháng thể được cải biến để đưa các gốc ái điện tử có khả năng phản ứng với các nhóm ái nhân trên chất phản ứng của nhóm liên kết hoặc được chất. Theo phương án khác, các đường của kháng thể được glycosyl hóa có thể được oxy hóa, ví dụ, bằng các chất phản ứng oxy hoá periodat, để tạo ra các nhóm aldehyt hoặc keton có thể phản ứng với nhóm amin của các chất phản ứng của nhóm liên kết hoặc các gốc được chất. Các nhóm bazơ imin Schiff tạo thành có thể tạo ra sự liên kết ổn định, hoặc có thể được khử, ví dụ bằng các chất phản ứng bohydrua để tạo ra liên kết amin ổn định. Theo một phương án, phản ứng của phần hydrat cacbon của kháng thể được glycosyl hóa với galactosa oxidaza hoặc natri meta-periodat có thể tạo

ra các nhóm cacbonyl (aldehyt và keton) trong kháng thể có thể phản ứng với các nhóm thích hợp trên dược chất (Hermanson, Bioconjugate Techniques). Theo phương án khác, các kháng thể chứa gốc serin hoặc threonin ở đầu tận cùng N có thể phản ứng với natri meta-periodat, dẫn đến tạo ra aldehyt thay cho axit amin ban đầu (Geoghegan & Stroh, (1992) Bioconjugate Chem. 3:138-146; patent Mỹ số 5.362.852). Aldehyt này có thể được cho phản ứng với gốc dược chất hoặc ái nhân của nhóm liên kết.

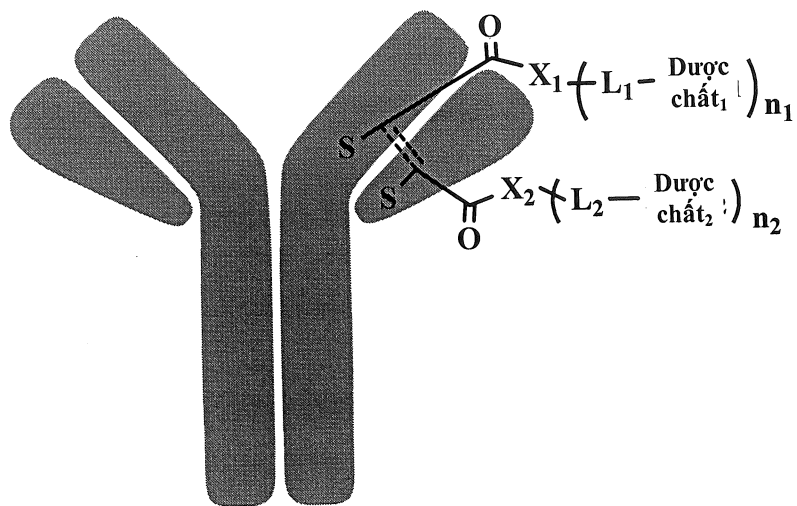
Ví dụ về sự liên hợp thông thường mà nhóm liên kết phản ứng với dược chất để trước tiên tạo ra sản phẩm trung gian nhóm liên kết-dược chất, sau đó phản ứng liên hợp với phân tử gắn kết tế bào được mô tả dưới đây:



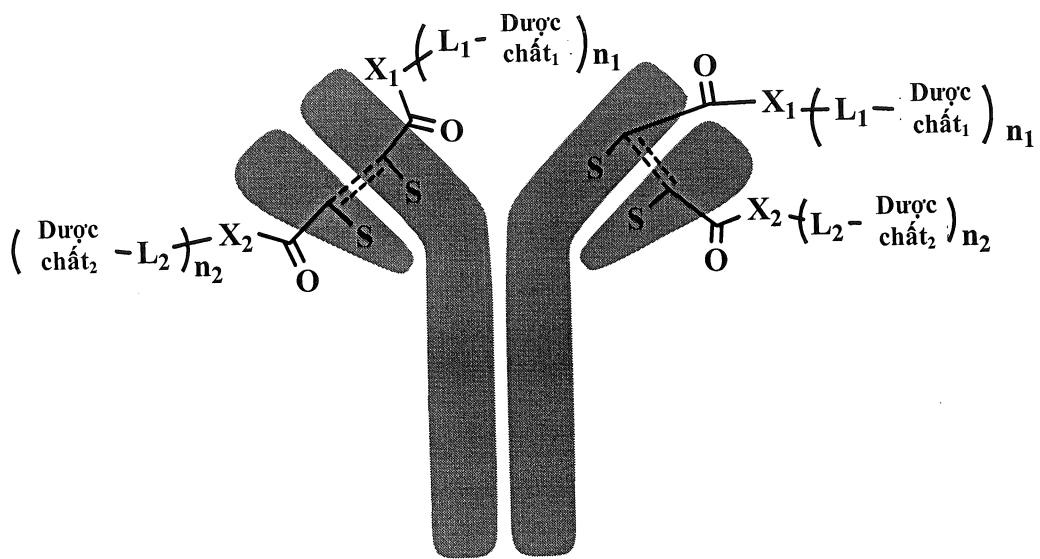
trong đó E bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các este hydroxysuccinimidyl như (NHS, Sulfo-NHS, v.v.), các este 4-nitrophenyl, các este pentaflorophenyl, các este tetraflorophenyl (bao gồm sulfo-tetraflorophenyl), các anhydrit, axit clorua, sulfonyl clorua, izoxyanat và izothioxyanat. R' và R'' độc lập là H hoặc CH_3 , hoặc C_2H_5 ; J là F, Cl, Br, I, tosylat (TsO), mesylat (MsO), nitrophenol, dinitrophenol, hoặc pentaflorophenol; trong đó dược chất là hợp chất có công thức có công thức (I), (Ia), (Ib), (Ic) hoặc (Id) của sáng chế này.

Cần hiểu rằng nếu có nhiều hơn một nhóm ái nhân trên chất gắn kết tế bào, như kháng thể, phản ứng với sản phẩm trung gian được chất-nhóm liên kết hoặc chất phản ứng của nhóm liên kết, sau đó là chất phản ứng của gốc được chất, tiếp đó sản phẩm tạo thành là hỗn hợp chứa thể liên hợp chất gắn kết tế bào-chất gây độc tế bào có sự phân bố của một hoặc nhiều gốc được chất được gắn với kháng thể. Số lượng được chất trung bình/kháng thể có thể được tính từ hỗn hợp bằng thử nghiệm kháng thể ELISA kép, đặc hiệu với kháng thể và đặc hiệu với được chất. Các phân tử của thể liên hợp riêng biệt có thể được các định trong hỗn hợp bằng phương pháp phổ khối lượng và được tách bằng phương pháp HPLC, ví dụ, phương pháp sắc ký tương tác kỵ nước. Theo một số phương án, thể liên hợp có một giá trị tải có thể được phân lập từ hỗn hợp liên hợp bằng phương pháp điện di hoặc sắc ký.

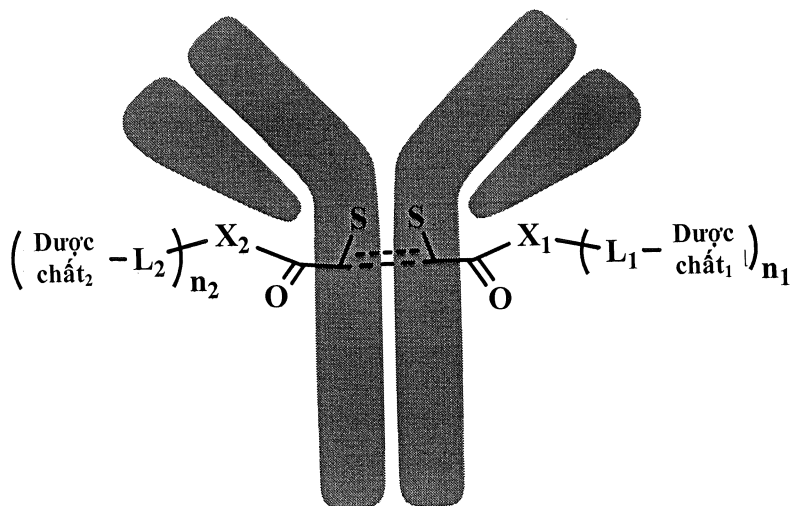
Theo phương án khác nữa, khi kháng thể IgG thể được liên hợp với một, hoặc hai, hoặc nhiều dẫn xuất có độc tố của nấm *Amanita* giống nhau hoặc khác nhau có công thức (I), (Ia), (Ib), (Ic) hoặc (Id), tùy ý cùng với các phân tử chức năng hoặc các chất gây độc tế bào khác nhau khác, bằng cặp thiol trên kháng thể IgG, ví dụ như trong các công thức (II-11), (II-12), (II-13), (II-14), (II-17), (II-18), (II-19), (II-20), (II-24), (II-25), (II-29), (II-30), (II-32), (II-33), (II-34), (II-35), (II-36), (II-37), (II-38), (II-39), (II-40), (II-41), (II-42), (II-43), (II-44), (II-45), (II-46), (II-47), (II-48), (II-49), (II-50), (II-51), (II-52), (II-53), và (II-64), các ADC chứa độc tố của nấm *Amanita* có công thức (I), (Ia), (Ib), (Ic) hoặc (Id) được ưu tiên tạo ra bằng nhóm liên kết cầu đặc hiệu ở cặp thiol (bằng cách khử các liên kết disulfua) giữa chuỗi nhẹ và chuỗi nặng, và/hoặc các liên kết disulfua phía trên giữa hai chuỗi nặng, và/hoặc các liên kết disulfua phía dưới giữa hai chuỗi nặng. Các ADC chứa một, hoặc hai, hoặc nhiều dẫn xuất có độc tố của nấm *Amanita* giống hoặc khác nhau có công thức (I), (Ia), (Ib), (Ic) hoặc (Id) có nhóm liên kết cầu được ưu tiên có công thức (III-1), (III-2), (III-3), (III-4), (III-5), (III-6), (III-7), (III-8), (III-9), (III-10), (III-11), hoặc (III-12) sau đây:



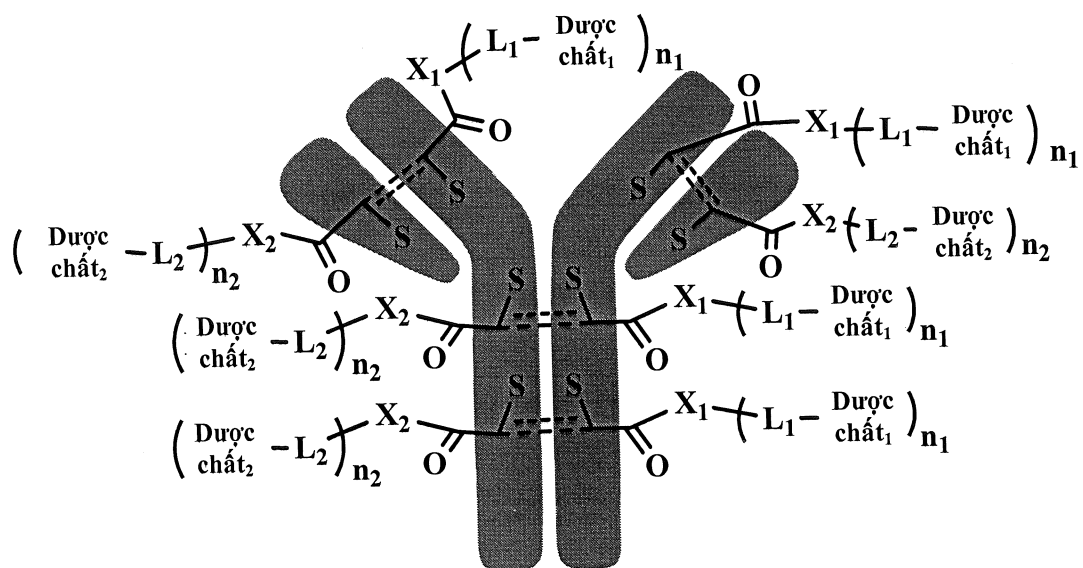
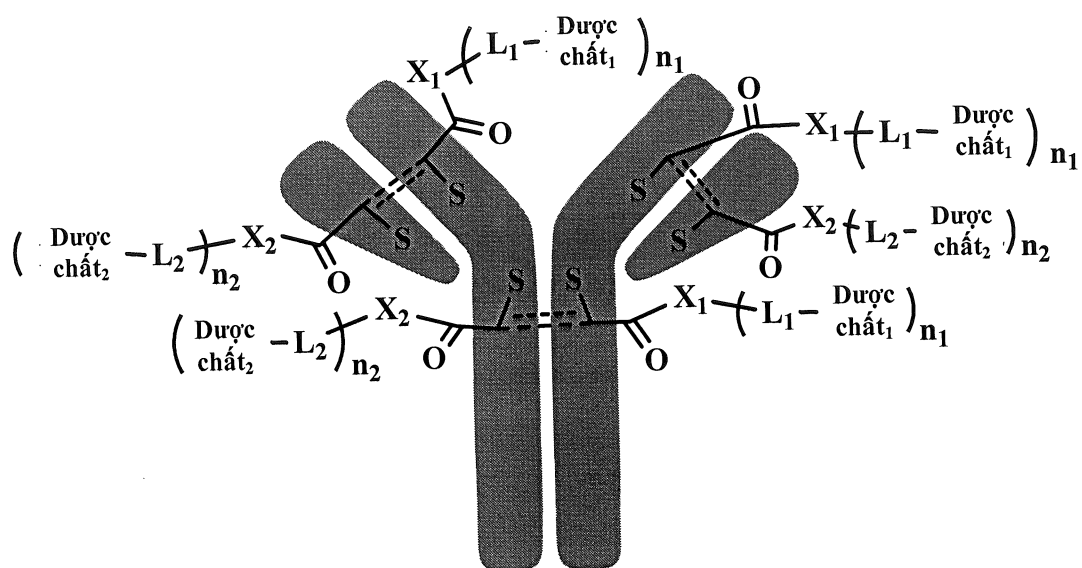
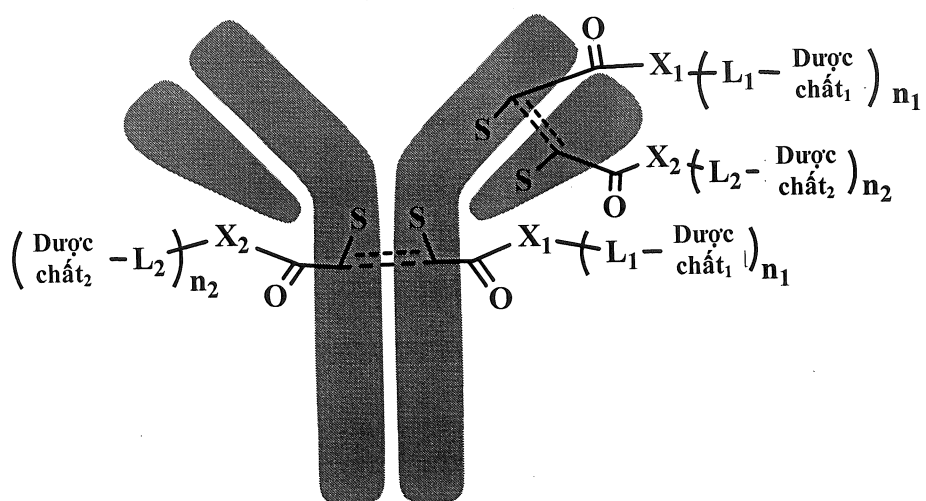
(III-1)

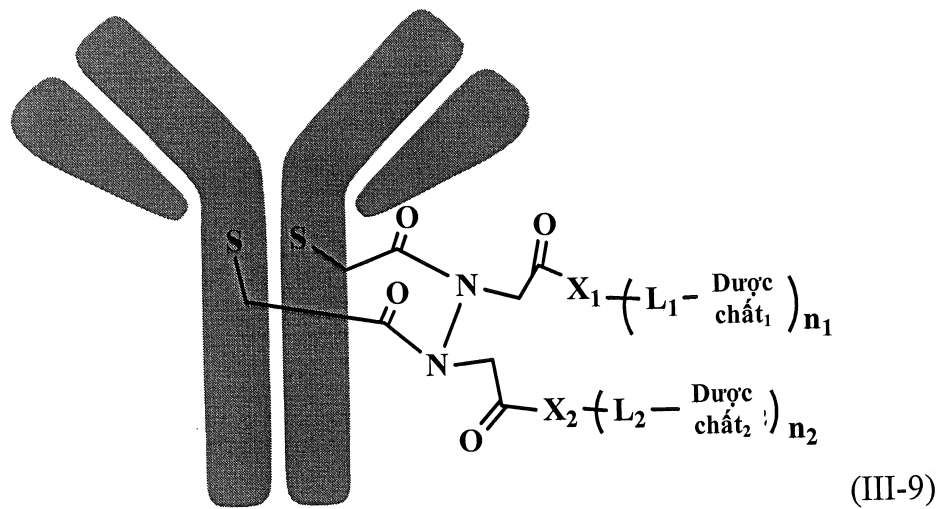
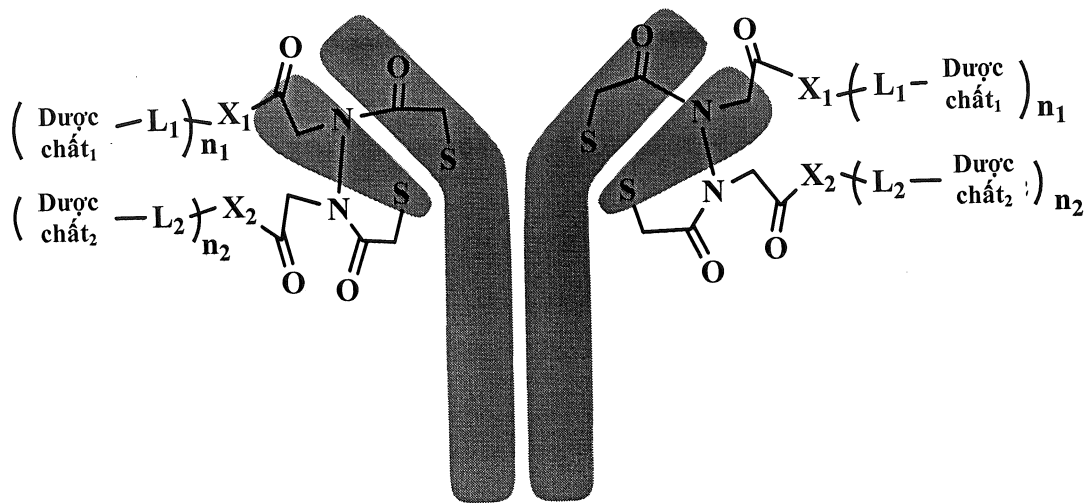
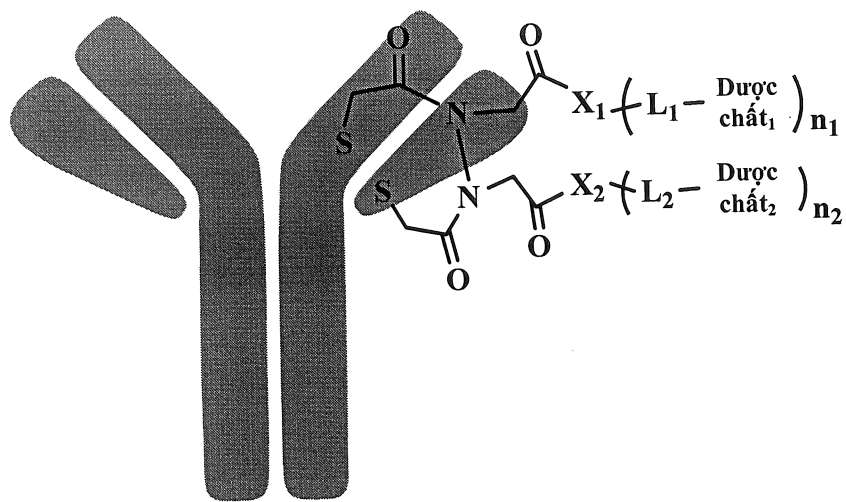


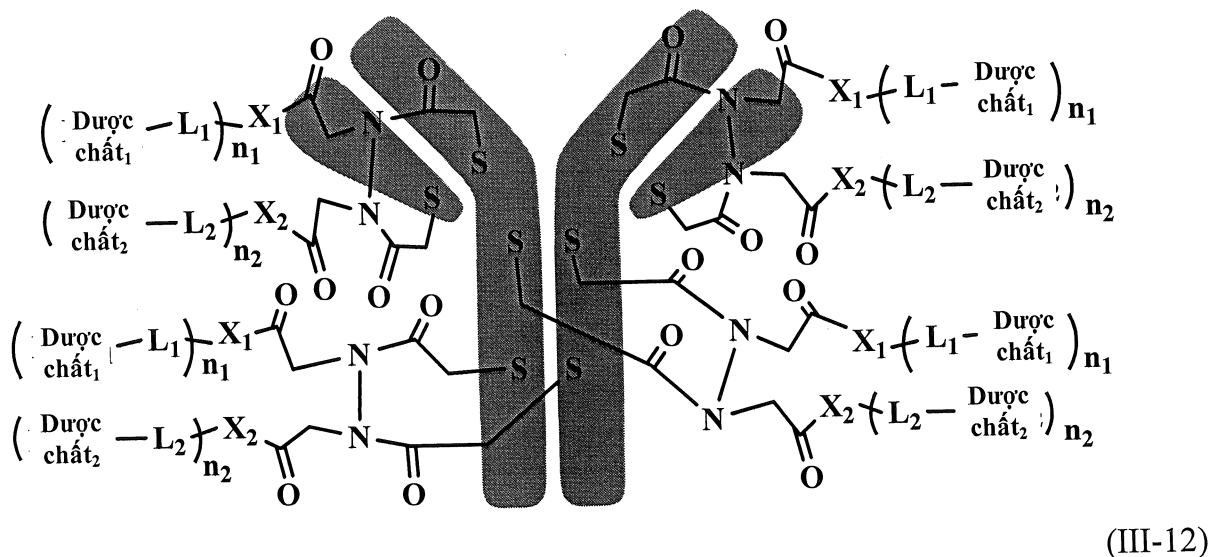
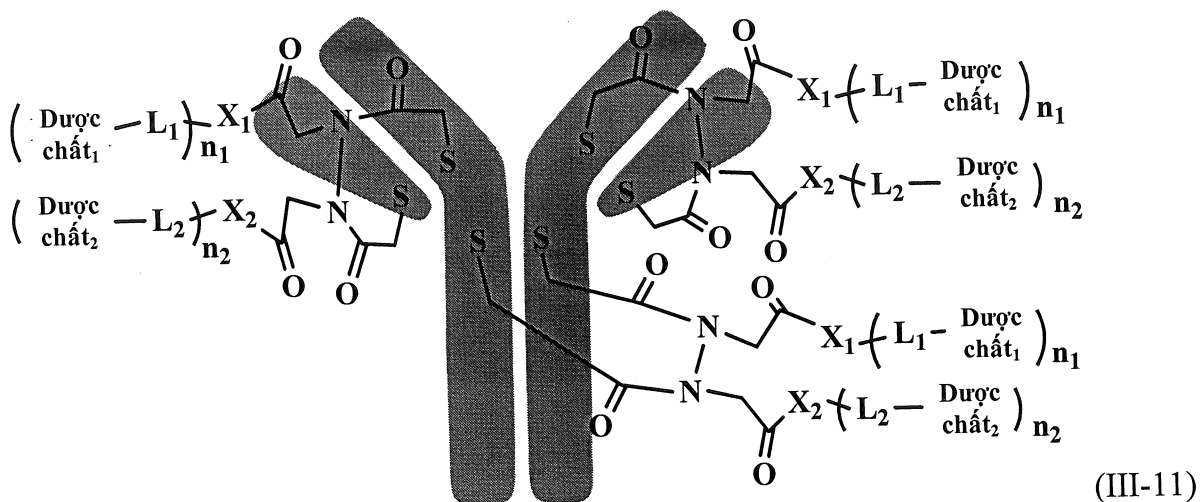
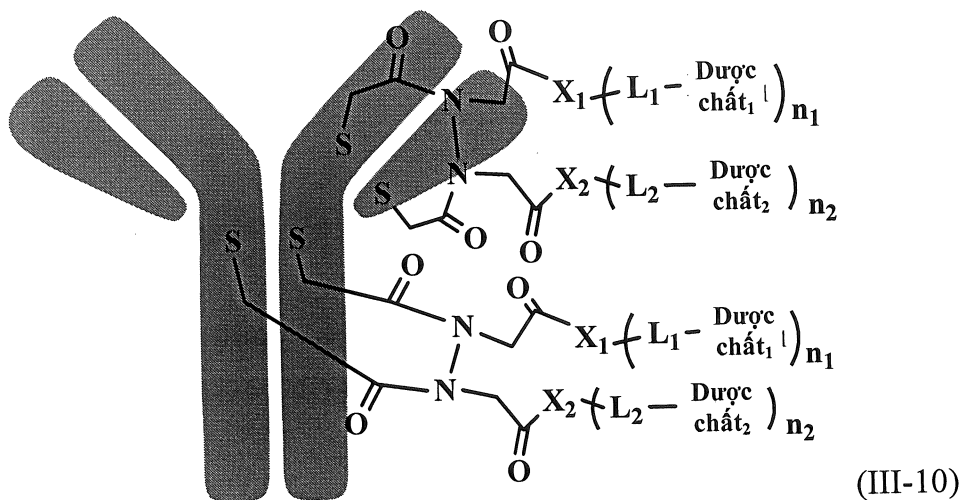
(III-2)



(III-3)



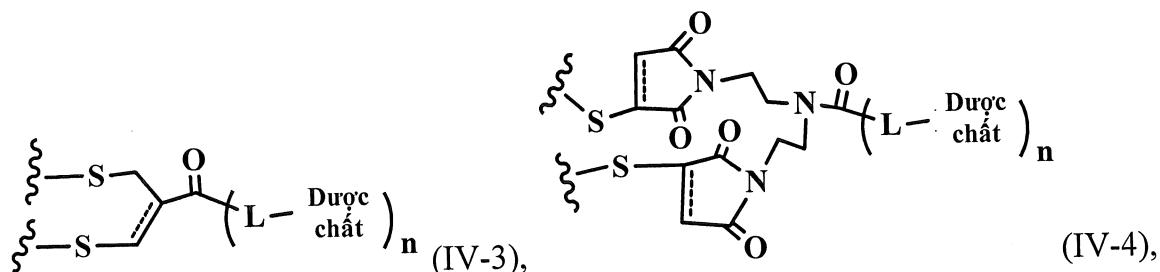
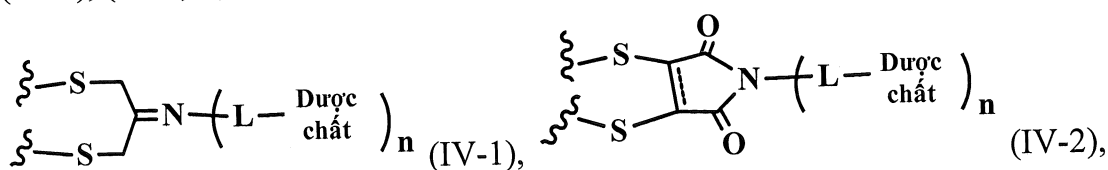


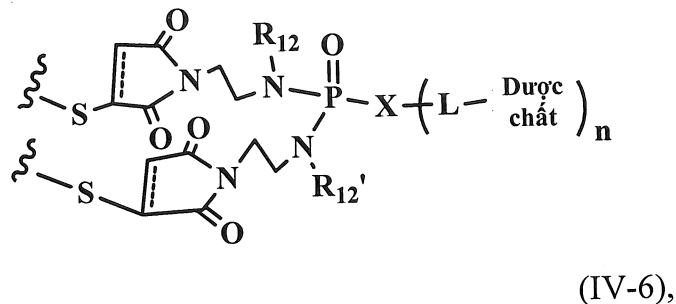
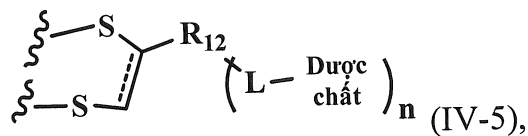


Trong đó cấu trúc in đậm  là kháng thể IgG, tốt hơn nếu là kháng thể IgG1, IgG2, IgG3 hoặc IgG4; “-----” thể hiện liên kết đơn hoặc liên kết đôi; L₁ và L₂ giống nhau hoặc khác nhau, độc lập được xác định giống như nhóm L trong Công thức (I);

X_1 và X_2 , giống nhau hoặc khác nhau, độc lập được chọn từ NH, N(R_1), O, S, CH₂, hoặc Ar, trong đó R_1 là C₁-C₆ alkyl, Ar là vòng thơm hoặc dị thơm; trong đó dược chất₁ và dược chất₂ là giống nhau hoặc khác nhau, dẫn xuất có độc tố của nấm Amanita có công thức (I), (Ia), (Ib), (Ic) hoặc (Id). Ngoài ra, hoặc dược chất₁ hoặc dược chất₂ có thể không có mặt nhưng không đồng thời không có mặt. Khi một thành phần bất kỳ trong số dược chất₁ hoặc dược chất₂ là dẫn xuất có độc tố của nấm Amanita có công thức (I), (Ia), (Ib), (Ic) hoặc (Id), nhóm còn lại trong dược chất₁ hoặc dược chất₂ có thể được chọn từ (OCH₂CH₂)_rOR₁₀, hoặc (OCH₂CH(CH₃))_pOR₁₀, hoặc NH(CH₂CH₂O)_pR₁₀, hoặc NH(CH₂CH(CH₃)O)_pR₁₀, hoặc N[(CH₂CH₂O)_pR₁₀][(CH₂CH₂O)_rR₅], hoặc (OCH₂CH₂)_pCOOR₁₀, hoặc CH₂CH₂(OCH₂CH₂)_pCOOR₁₀, trong đó p, r, R₁₀ được mô tả trong nhiều phương án trong toàn bộ đơn sáng chế này. Theo phương án khác nữa, dược chất₂ và L₂ có thể không có mặt, do đó X₂ là NH₂ hoặc OH.

Theo phương án khác nữa, khi kháng thể IgG được thể liên hợp với một dẫn xuất có độc tố của nấm Amanita có công thức (I), (Ia), (Ib), (Ic) hoặc (Id) bằng cặp thiol của kháng thể IgG, các ADC chứa độc tố của nấm Amanita có công thức (I), (Ia), (Ib), (Ic) hoặc (Id) cũng được ưu tiên tạo thành bằng nhóm liên kết cầu đặc hiệu ở cặp thiol của kháng thể IgG (bằng cách khử các liên kết disulfua) giữa chuỗi nhẹ và chuỗi nặng, các liên kết disulfua phía trên giữa hai chuỗi nặng, và các liên kết disulfua phía dưới giữa hai chuỗi nặng. Sự liên kết cầu được ưu tiên có cấu trúc của công thức (IV-1), (IV-2), (IV-3), (IV-4), (IV-5), và (IV-6) sau đây:



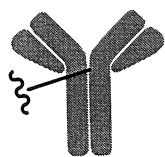


trong đó “ --- ” thể hiện liên kết đơn hoặc liên kết đôi; dược chất là dẫn xuất có độc tố của nấm Amanita có công thức (I), (Ia), (Ib), (Ic) hoặc (Id); --- thể hiện các vị trí trên kháng thể; L, X, n và R_{12} được xác định giống như trong công thức (I).

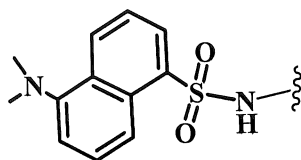
Cặp thiol trên kháng thể được ưu tiên cần được khử bằng chất khử được chọn từ dithiothreitol (DTT), dithioerythritol (DTE), L-glutathion (GSH), tris (2-carboxyetyl) phosphin (TCEP), 2-mercaptoethylamin (β -MEA), và/hoặc beta mercaptoetanol (β -ME, 2-ME). Tốt hơn nữa nếu các chất khử này được tải hoặc liên kết cộng hoá trị với polyme dạng rắn hoặc hạt dạng rắn. Polyme hoặc hạt này có thể là polyeten, polyacrylat, silican, silic oxit có liên kết ngang (ví dụ 2-mercaptoetyl)silic oxit, (aminoetyl)silic oxit, (aminopropyl)silic oxit, polyetylen terephthalat, polyetylen glycol, polystyren, poly(isopropyl acrylat), dextran (ví dụ sephadex, dextran có liên kết ngang), copolyme isopropylacrylamit butyl metacrylat, polyme polysacarit (ví dụ agaroza, aga, agaropectin, sepharoza). Trong khi khử polyme được liên kết với chất khử, cặp liên kết disulfua có thể được khử theo cách chọn lọc ở vị trí nhất định, ví dụ, ở vùng bản lề của kháng thể IgG1, IgG2, IgG3 hoặc IgG4, hoặc liên kết disulfua giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể IgG1, IgG2, IgG3 hoặc IgG4, hoặc một số bề mặt ngoài của protein hoặc phân tử gắn kết tế bào. Do đó, tỷ lệ tải cũng như các vị trí của dẫn xuất có độc tố của nấm Amanita được liên hợp trên phân tử gắn kết tế bào được kiểm soát.

Ngoài ra, khi một thành phần bất kỳ trong số dược chất₁ hoặc dược chất₂ có công thức (III-1), (III-2), (III-3), (III-4), (III-5), (III-6), (III-7), (III-8), (III-9), (III-10), (III-11), hoặc (III-12), là dẫn xuất có độc tố của nấm Amanita có công thức (I), dược chất còn lại trong số dược chất₁ hoặc dược chất₂ có thể được chọn từ protein, kháng thể, kháng thể dime, kháng thể multime, kháng thể hai giá hoặc ba giá, kháng thể chuỗi đơn, đoạn kháng thể gắn kết với tế bào đích, kháng thể đơn dòng hoặc kháng thể đa dòng, phân tử mang màu, dẫn xuất tubulysin, maytansinoid, taxanoid (taxan), chất

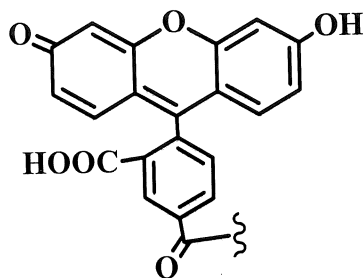
trong tự CC-1065, hợp chất daunorubixin hoặc doxorubixin, dime benzodiazepin (ví dụ, các dime của pyrolobenzodiazepin (PBD), tomaymyxin, anthramyxin, indolinobenzodiazepin, imidazobenzothiadiazepin, hoặc oxazolidinobenzodiazepin), calicheamixin hoặc chất kháng sinh enediyn, actinomycin, azaserin, bleomycin, epirubixin, tamoxifen, idarubicin, dolastatin, dẫn xuất auristatin (ví dụ, monomethyl auristatin E, MMAE, MMAF, auristatin PYE, auristatin TP, Auristatins 2-AQ, 6-AQ, EB (AEB), và EFP (AEFP)), duocarmyxin, thiotepa, vincristine, hemiasterlin, nazumamit, microginin, radiosumin, alterobactin, microsclerodermin, theonellamit, esperamixin, PNU-159682, geldanamycin, metotrexat, vindesin, ARN can thiệp kích thước nhỏ, enzym nucleolytic. Ví dụ về các cấu trúc được ưu tiên của một số thành phần trong số các phân tử chức năng hoặc dược chất gây độc tế bào này được thể hiện dưới đây:



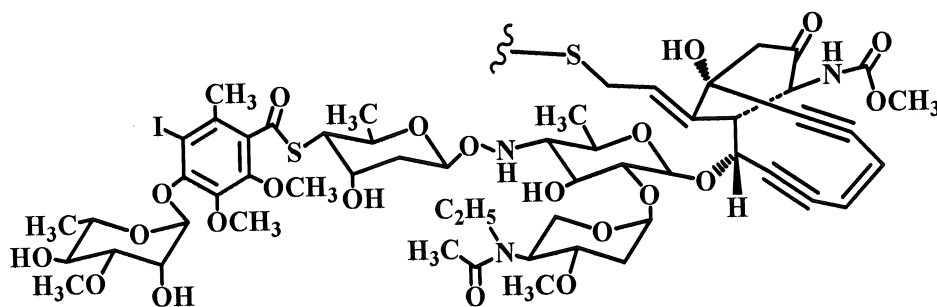
(V-1, kháng thể),



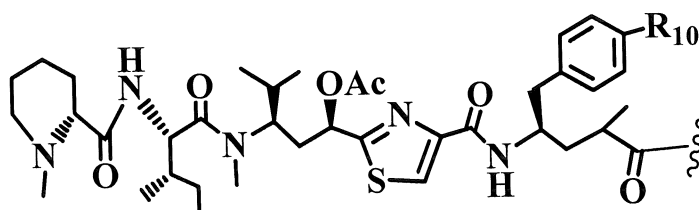
(V-2, phân tử mang màu),



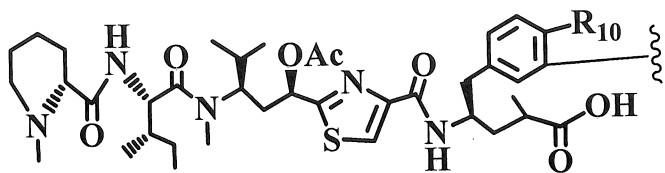
(V-3, phân tử mang màu),



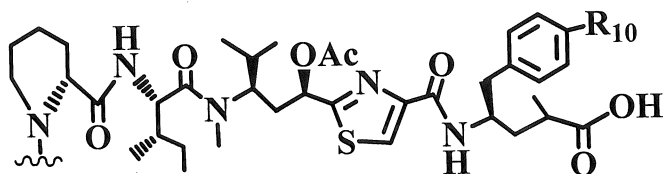
(V-4, calicheamixin),



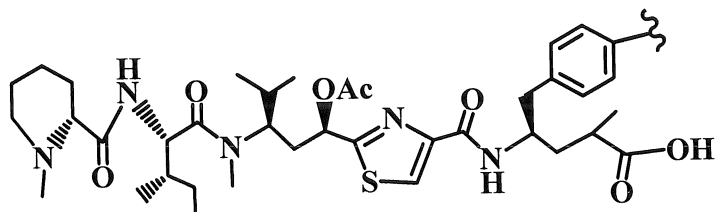
(V-5, dẫn xuất tubulysin),



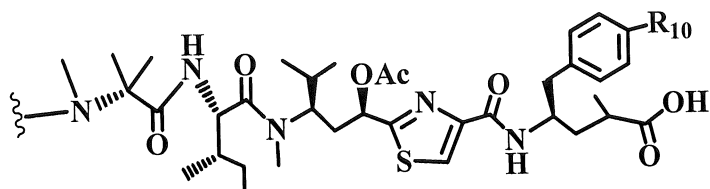
(V-6, dẫn xuất tubulysin),



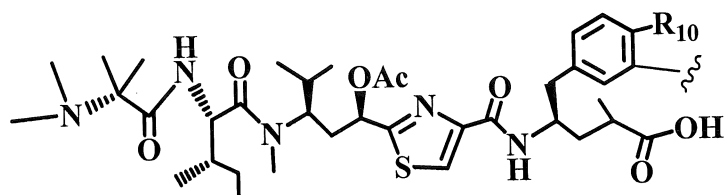
(V-7, dẫn xuất tubulysin),



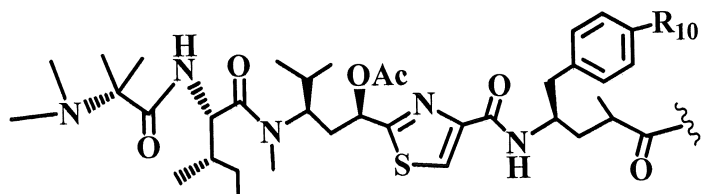
(V-8, dẫn xuất tubulysin),



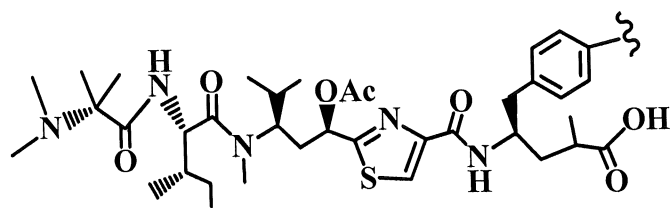
(V-9, dẫn xuất tubulysin),



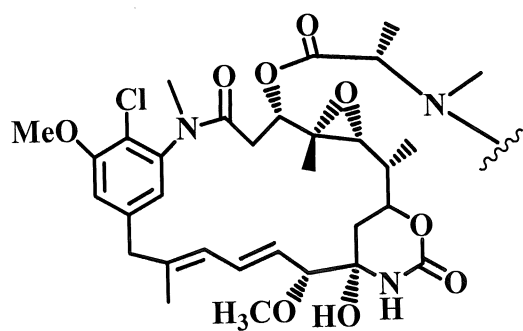
(V-10, dẫn xuất tubulysin),



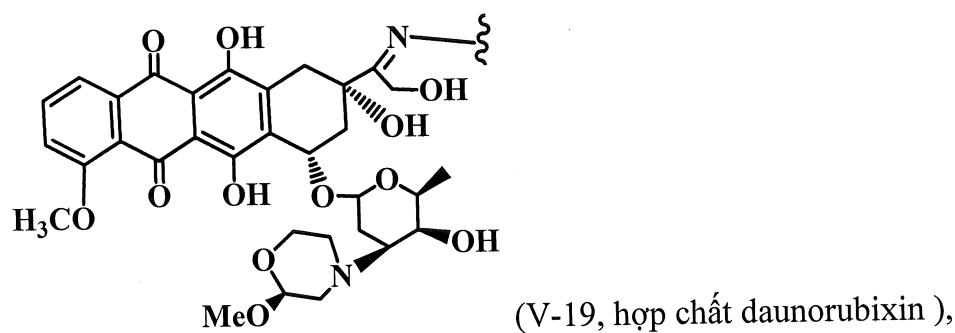
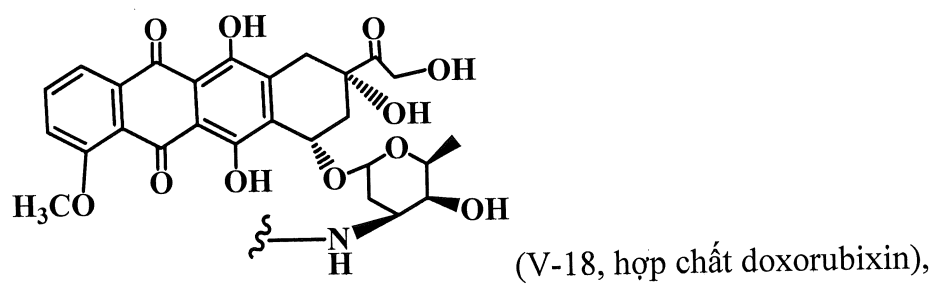
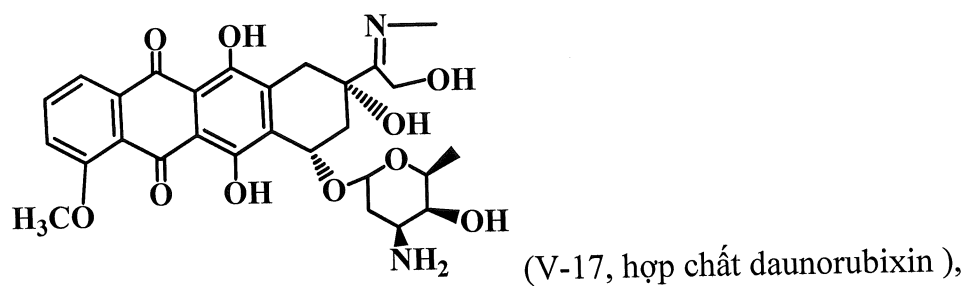
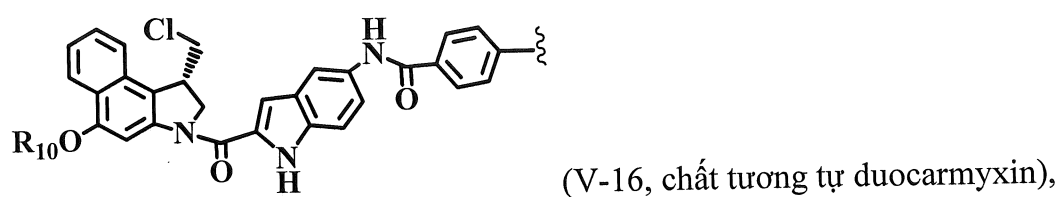
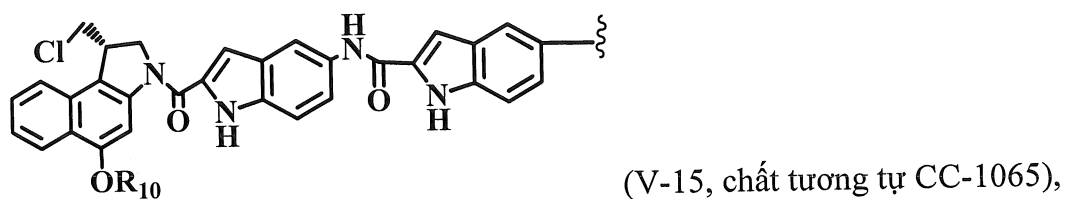
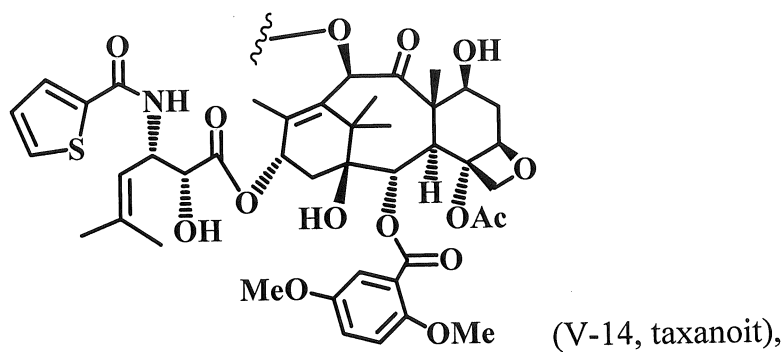
(V-11, dẫn xuất tubulysin),

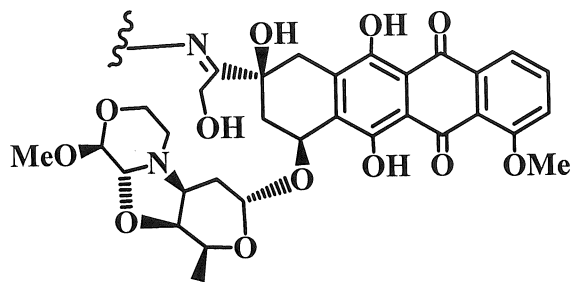


(V-12, dẫn xuất tubulysin),



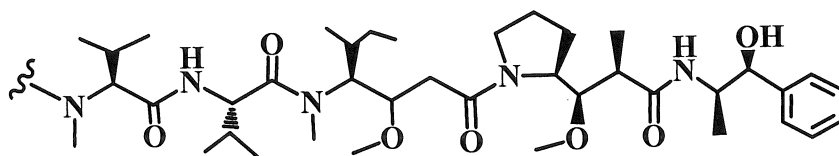
(V-13, maytansinoit),



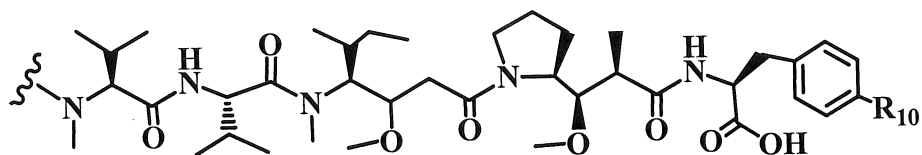


(V-20, hợp chất daunorubicin hoặc

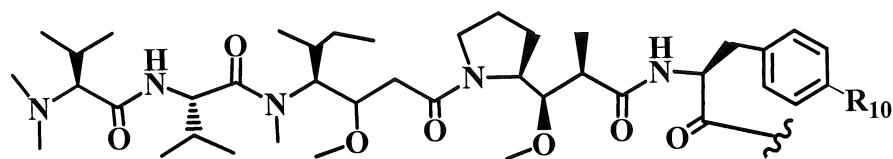
doxorubicin),



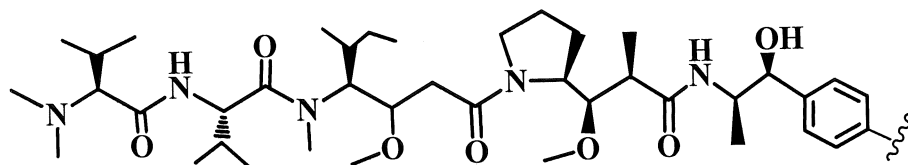
(V-21, dẫn xuất auristatin),



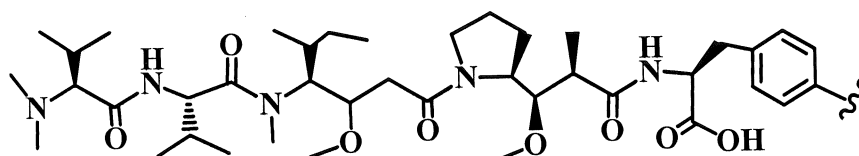
(V-22, dẫn xuất auristatin),



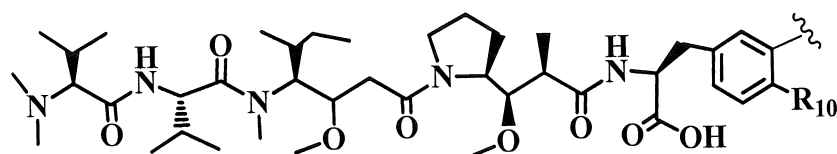
(V-23, dẫn xuất auristatin)



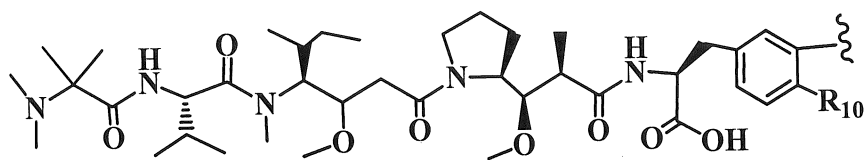
(V-24, dolastatin hoặc dẫn xuất auristatin (MMAE))



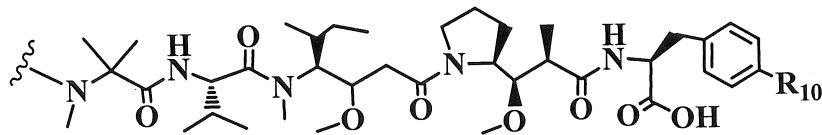
(V-25, dolastatin hoặc dẫn xuất auristatin),



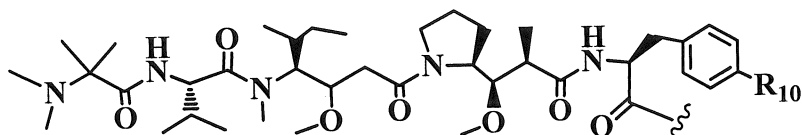
(V-26, dẫn xuất auristatin),



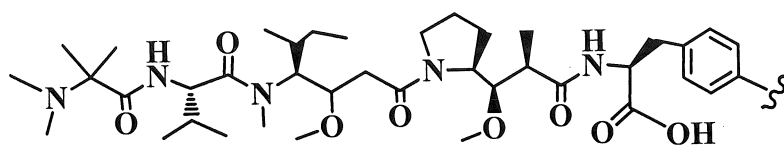
(V-27, dẫn xuất auristatin),



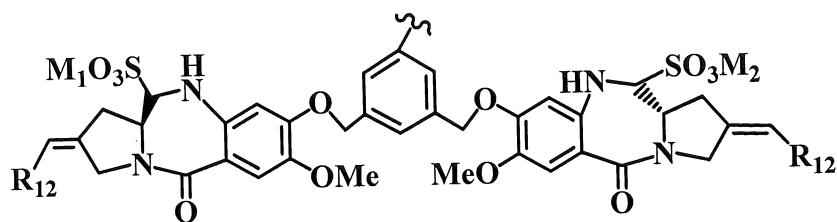
(V-28, dẫn xuất auristatin),



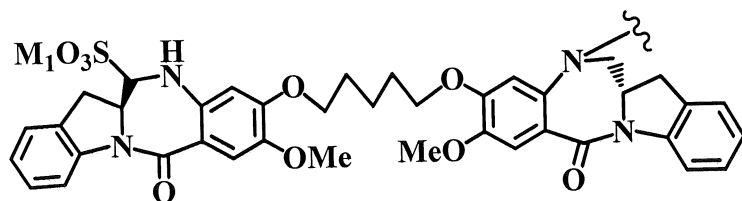
(V-29, dẫn xuất auristatin),



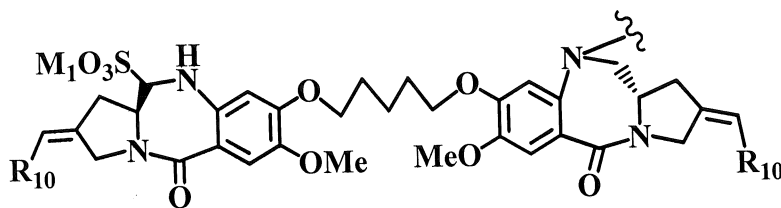
(V-30, dẫn xuất auristatin),



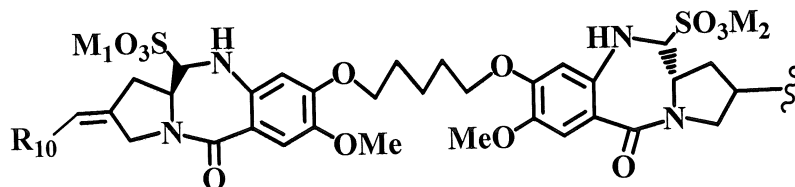
(V-31, dime benzodiazepin),



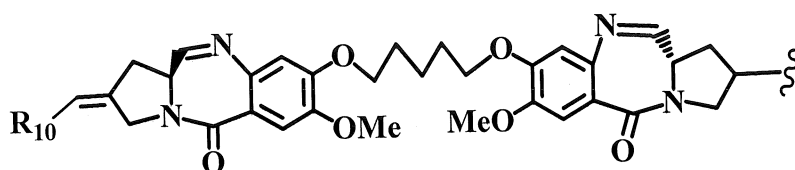
(V-32, dime benzodiazepin),



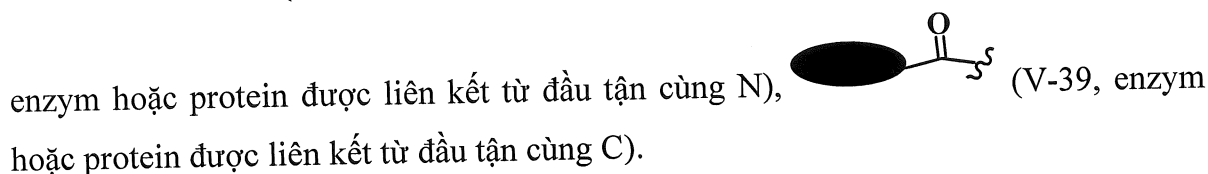
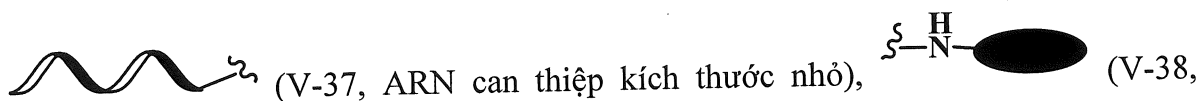
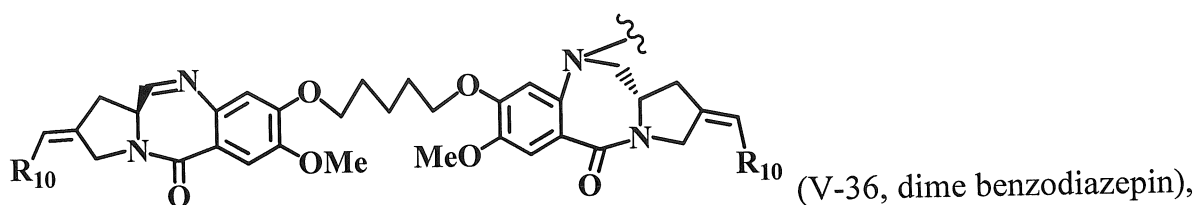
(V-33, dime benzodiazepin),



(V-34, dime benzodiazepin),



(V-35, dime benzodiazepin),



trong đó R_{10} được mô tả trong Công thức (I), $\text{---}\zeta$ là vị trí để liên kết hoặc với nhóm liên kết L_1 hoặc nhóm liên kết L_2 .

Khi liên hợp, tải lượng (tỷ lệ dược chất/kháng thể) và/hoặc vị trí của ADC với các dẫn xuất này của độc tố của nấm *Amanita* của sáng chế này có thể được kiểm soát theo các cách khác nhau khác, ví dụ bằng cách: (i) giới hạn lượng mol dư của sản phẩm trung gian dược chất-nhóm liên kết hoặc chất phản ứng của nhóm liên kết so với kháng thể, (ii) giới hạn thời gian hoặc nhiệt độ phản ứng liên hợp, (iii) các điều kiện khử một phần hoặc giới hạn để cải biến xystein thiol, (iv) thiết kế bằng kỹ thuật tái tổ hợp trình tự axit amin của kháng thể sao cho số lượng và vị trí của lysin, hydrat cacbon, serin, tyrosin, glutamin, histidin, xystein hoặc phần cận được cải biến, hoặc các axit amin không tự nhiên được chèn vào trình tự kháng thể. Các phương pháp thiết kế này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, thioMab, thioFab, thiohydrat cacbon, selenoxystein, phương pháp trên cơ sở tế bào của các axit amin không tự nhiên, phương pháp tổng hợp không có tế bào mở (open cell-free synthesis: OCFS) của các axit amin không tự nhiên, phương pháp oxy hoá hoặc cải biến bằng enzym hóa học glycan, enzym tạo ra formylglyxin (Formylglycine generating enzyme: FGE), Sortaza hoặc Transglutaminaza, phương pháp liên hợp bằng vùng gắn kết Fc (Fc-Binding Domain: FcBD) hoặc bằng vị trí gắn kết nucleotit, hoặc các kháng thể xúc tác (Dennler, P. et al, Antibodies 2015, 4, 197-224)

Các phương pháp làm ví dụ khác để điều chế ADC của các dẫn xuất có độc tố của nấm *Amanita* này được thể hiện trên các hình vẽ từ Fig.1 đến Fig.28 và được mô tả trong các ví dụ từ 1 đến 70 trong bản mô tả của sáng chế này.

Điều trị bằng thể liên hợp chất liên kết tế bào-dược chất của các dẫn xuất có độc tố

của nấm Amanita

Dự định rằng thể liên hợp chất liên kết tế bào – được chất, tốt hơn nếu là thể liên hợp kháng thể–được chất (ADC) của sáng chế có thể được sử dụng để điều trị nhiều loại bệnh hoặc rối loạn khác nhau, ví dụ, được đặc trưng bởi, sự biểu hiện quá mức của kháng nguyên khối u. Các tình trạng hoặc các rối loạn tăng sinh làm ví dụ bao gồm các khối u lành tính hoặc ác tính; bệnh bạch cầu và các bệnh ác tính dạng bạch huyết. Các ví dụ khác bao gồm các rối loạn tế bào thần kinh, thần kinh đệm, tế bào hình sao, vùng dưới đồi, tế bào tuyến, đại thực bào, biểu mô, mô đệm, khoang phổi, bệnh viêm, rối loạn tạo mạch và miễn dịch, bao gồm cả rối loạn tự miễn.

Theo phương án cụ thể, các thể liên hợp của sáng chế được sử dụng trong các chế phẩm và phương pháp của sáng chế để điều trị bệnh ung thư. Các bệnh ung thư bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh caxinom vô thương thận, bệnh ung thư hậu môn, bệnh ung thư bàng quang, khối u não (u thần kinh đệm thân não ở người trưởng thành, u tế bào hình sao tiểu não ở trẻ em, u tế bào hình sao ở não, u tế bào màng ống nội tủy, u nguyên tủy bào, khối u tuyến tủy và khối u ngoại bì thần kinh nguyên thủy trên lều, u thần kinh đệm vùng dưới đồi và đường thị giác), bệnh ung thư vú, khối u caxinoit dạ dày-ruột, bệnh caxinom chưa rõ nguyên nhân, bệnh ung thư cổ tử cung, bệnh ung thư ruột kết, bệnh ung thư nội mạc tử cung, bệnh ung thư thực quản, bệnh ung thư ống mật ngoài gan, khối u họ Ewings (PNET), khối u tế bào mầm ngoài sọ, bệnh ung thư mắt, u melanin trong mắt, bệnh ung thư túi mật, bệnh ung thư dạ dày (vùng dạ dày), khối u tế bào mầm ngoài tuyến sinh dục, khối u lá nuôi thời kỳ thai nghén, bệnh ung thư vùng đầu và cổ, bệnh ung thư hạ hầu, caxinom tế bào tiểu đảo, bệnh ung thư thận (bệnh ung thư tế bào thận), bệnh ung thư thanh quản, bệnh bạch cầu (bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô cấp tính, bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính, bệnh bạch cầu tủy bào mạn tính, bệnh bạch cầu dòng tủy cấp tính, bệnh bạch cầu tế bào lông), bệnh ung thư môi và khoang miệng, bệnh ung thư gan, bệnh ung thư phổi (bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ, bệnh ung thư phổi tế bào, u lymphô (liên quan đến hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải (AIDS), u lymphô hệ thần kinh trung ương, u lymphô tế bào T ở da, u lymphô Hodgkin, u lymphô không Hodgkin, u trung biểu mô ác tính, u melanin, caxinom tế bào Merkel, bệnh ung thư cổ dạng vảy di căn nguyên phát ần, bệnh đa u tủy, và các khối u tương bào khác, bệnh u sùi dạng nấm, hội chứng loạn sản tủy, rối loạn tăng sinh tủy, bệnh ung thư mũi hầu, u nguyên

bào thần kinh, bệnh ung thư miệng, bệnh ung thư miệng hầu, bệnh sarcôm xương, bệnh ung thư buồng trứng (biểu mô, khối u tế bào mầm, khối u có khả năng ác tính ở mức thấp), bệnh ung thư tụy (ngoại tiết, caxinom tế bào tiểu đảo), bệnh ung thư khoang mũi và xoang cạnh mũi, bệnh ung thư tuyến cận giáp, bệnh ung thư dương vật, bệnh ung thư tế bào ưa crom, bệnh ung thư tuyến yên, khối u tương bào, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh sacôm cơ vân, bệnh ung thư trực tràng, bệnh ung thư tế bào thận (bệnh ung thư thận), bể thận và niệu quản (tế bào chuyển tiếp), bệnh ung thư tuyến nước bọt, hội chứng Sezary, bệnh ung thư da, bệnh ung thư da (u lymphô tế bào T ở da, bệnh sacôm Kaposi, u melanin), bệnh ung thư ruột non, bệnh sacôm mô mềm, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư tinh hoàn, u tuyến ức (ác tính), bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư niệu đạo, bệnh ung thư (bệnh sacôm) tử cung, bệnh ung thư hiếm gặp ở trẻ em, bệnh ung thư âm đạo, bệnh ung thư âm hộ, khối u Wilms.

Theo phương án cụ thể khác, các hợp chất và thể liên hợp của sáng chế được sử dụng trong các chế phẩm và phương pháp của sáng chế để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh tự miễn. Các bệnh tự miễn bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh viêm gan mạn tính có hoạt tính tự miễn Achlorhydra, bệnh viêm não tủy rải rác cấp tính, bệnh viêm chất trắng não xuất huyết cấp tính, bệnh Addison, bệnh vô gamma globulin huyết, bệnh rụng tóc từng vùng, bệnh xơ cứng cột bên teo cơ, bệnh viêm đốt sống dạng thấp, bệnh viêm thận kháng GBM/TBM, hội chứng kháng phospholipit, hội chứng kháng synthetaza, bệnh viêm khớp, bệnh dị ứng cơ địa, bệnh viêm da cơ địa, bệnh thiếu máu không tái tạo tự miễn, bệnh cơ tim tự miễn, bệnh thiếu máu tan huyết bẩm sinh tự miễn, bệnh viêm gan tự miễn, bệnh ở tai trong tự miễn, hội chứng tăng sinh mô bạch huyết tự miễn, bệnh thần kinh ngoại vi tự miễn, bệnh viêm tụy tự miễn, hội chứng đa nội tiết tự miễn typ I, II, & III, bệnh viêm da progesteron tự miễn, bệnh ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự miễn, bệnh viêm màng mạch nho tự miễn, bệnh Balo/ bệnh xơ cứng đồng tâm Balo, hội chứng Bechets, bệnh Berger, bệnh viêm não Bickerstaff, hội chứng Blau, dạng pemphigut có bọt nước, bệnh Castleman, bệnh Chagas, hội chứng suy giảm miễn dịch một mối mạn tính, bệnh đa thần kinh mất myelin do viêm mạn tính, bệnh viêm xương tủy nhiều ổ tái phát mạn tính, bệnh Lyme mạn tính, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, hội chứng Churg-Strauss, dạng pemphigut sọc, bệnh không dung nạp gluten, hội chứng Cogan, bệnh agglutinin lạnh, bệnh thiếu hụt thành phần bổ thể 2, bệnh viêm động mạch sọ, hội chứng CREST, bệnh Crohns

(một loại bệnh viêm ruột tự phát), hội chứng Cushing, Cutaneous bạch cầu cổ điển, bệnh viêm mạch bạch cầu cổ điển ở da, bệnh Dego, bệnh Dercum, bệnh viêm da dạng ecpet, bệnh viêm da-cơ, bệnh đái tháo đường typ 1, bệnh xơ cứng toàn thân ở da lan tỏa, hội chứng Dressler, Bệnh lupút ban đỏ dạng đĩa, bệnh eczema, bệnh lạc màng trong tử cung, bệnh viêm khớp liên quan đến chỗ bám gân, bệnh viêm mạc ưa eosin, chứng bong biểu bì dạng bong nước mắc phải, hạch ban đỏ, bệnh crioglobulin-huyết hỗn hợp chủ yếu, hội chứng Evan, bệnh Loạn sản xơ cốt hóa tiến triển, bệnh đau cơ, bệnh viêm xơ cơ, viêm phế nang xơ hóa, chứng viêm dạ dày, dạng pemphigut ở dạ dày-ruột, bệnh viêm động mạch tê bào khổng lồ, bệnh viêm thận-tiểu cầu, hội chứng Goodpasture, bệnh Graves, hội chứng Guillain-Barré, bệnh viêm não Hashimoto, bệnh viêm tuyến giáp Hashimoto, bệnh thiếu máu tan huyết bẩm sinh, bệnh ban xuất huyết Henoch-Schonlein, bệnh ecpet giai đoạn thai kỳ, bệnh viêm tuyến mồ hôi mưng mủ, hội chứng Hughes (xem hội chứng kháng phospholipit), bệnh giảm gamma globulin huyết, bệnh mất myelin do viêm tự phát, bệnh xơ hóa phổi tự phát, bệnh ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát (xem bệnh ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự miễn), bệnh thận IgA (còn được gọi là bệnh Berge), bệnh viêm cơ thể vùi, bệnh đa thần kinh mất myelin do viêm, bệnh viêm bàng quang kẽ, hội chứng ruột kích thích, bệnh bệnh khớp tự phát tuổi thiếu niên, bệnh viêm đa khớp dạng thấp tuổi thiếu niên, bệnh Kawasaki, hội chứng nhược cơ Lambert-Eaton, bệnh viêm mạch bạch cầu cổ điển, bệnh liken phẳng, bệnh liken xơ cứng, bệnh IgA thành dải (LAD), bệnh Lou Gehrig (còn được gọi là bệnh xơ cứng cột bên teo cơ), bệnh viêm gan lupoit, bệnh luput ban đỏ, hội chứng Majeed, bệnh Ménière, bệnh viêm đa mạch tế vi, hội chứng Miller-Fisher, bệnh mô liên kết hỗn hợp, bệnh cứng bì khu trú, bệnh Mucha-Habermann, hội chứng Muckle-Wells, bệnh đa u tủy, bệnh xơ cứng rải rác, bệnh nhược cơ năng, bệnh viêm cơ, cơn ngủ kịch phát, bệnh viêm tủy sống-thần kinh thị giác (bệnh Devic), bệnh tăng lực trương cơ thần kinh, dạng pemphigut sẹo ở mắt, hội chứng rung giật mắt, bệnh viêm tuyến giáp Ord, bệnh viêm khớp hồi quy, các rối loạn thần kinh-tâm thần tự miễn ở trẻ em liên quan đến vi khuẩn *Streptococcus*) (Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated with Streptococcus: PANDAS) (sự thoái hóa tiểu não cận ung thư, bệnh về hemoglobin-niêu kịch phát ban đêm, hội chứng Parry Romberg, hội chứng Parsonnage-Turner, viêm màng bồ đào ngoại vi, bệnh pemphigut, bệnh pemphigut thông thường, bệnh thiếu máu ác tính, bệnh viêm não tủy

quanh tĩnh mạch, hội chứng POEMS, bệnh viêm đa động mạch dạng hạch, bệnh thấp khớp dạng đau nhiều cơ, bệnh viêm đa cơ, bệnh xơ gan mật nguyên phát, bệnh viêm đường mật xơ hóa nguyên phát, bệnh thần kinh do viêm tiềm triển, bệnh vảy nến, bệnh viêm khớp vảy nến, bệnh mụn da hoại thư, bệnh bất sản hồng cầu tinh khiết, bệnh viêm não Rasmussen, hiện tượng Raynaud, bệnh viêm đa sụn tái phát, hội chứng Reiter, hội chứng chân không yên, chứng xơ hóa sau màng bụng, bệnh viêm đa khớp dạng thấp, bệnh sốt dạng thấp, bệnh sacoit, bệnh tâm thần phân liệt, hội chứng Schmidt, hội chứng Schnitzler, bệnh viêm củng mạc, bệnh cứng bì, hội chứng Sjögren, bệnh khớp-đốt sống, hội chứng máu dính, bệnh Still, hội chứng người cứng đờ, viêm màng trong tim do vi khuẩn bán cấp, hội chứng Susac, hội chứng Sweet, chứng mùa giật Sydenham, bệnh viêm mắt đồng cảm, bệnh viêm động mạch Takayasu, bệnh viêm động mạch thái dương (bệnh viêm động mạch tế bào khổng lồ), hội chứng Tolosa-Hunt, bệnh viêm tủy ngang, bệnh viêm ruột kết mạn loét (một loại bệnh viêm ruột tự phát), bệnh mô liên kết không biệt hóa, bệnh khớp-đốt sống không biệt hóa, bệnh viêm mạch, bệnh bạch biến, bệnh u hạt Wegener, hội chứng Wilson, hội chứng Wiskott-Aldrich.

Theo phương án cụ thể khác, phân tử gắn kết được sử dụng cho thể liên hợp để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh tự miễn bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, kháng thể kháng elastin; kháng thể tế bào biểu mô kháng Abys; kháng thể protein kháng collagen màng nền typ IV ; kháng thể kháng nhân; kháng ds ADN; kháng ss ADN, kháng thể IgM, IgG kháng Cardiolipin; kháng thể kháng celiac; kháng thể IgK, IgG kháng phospholipit; kháng thể kháng SM; kháng thể kháng ty thể; kháng thể tuyến giáp; kháng thể vi thể, kháng thể tế bào T; kháng thể thyroglobulin, kháng SCL-70; kháng Jo; kháng U.sub.1RNP; kháng La/SSB; kháng SSA; kháng SSB; kháng thể kháng tế bào vách; kháng histon; kháng RNP; C-ANCA; P-ANCA; kháng vùng trung tâm; kháng thể kháng Fibrilarin, và kháng GBM, kháng thể kháng gangliosit; kháng thể kháng Desmoglein 3; kháng thể kháng p62; kháng thể kháng sp100; kháng thể kháng ty thể; kháng thể yếu tố dạng thấp; kháng thể kháng MCV; kháng thể kháng topoisomeraza; kháng thể kháng bào chất ưa trung tính (cANCA).

Theo một số phương án được ưu tiên, phân tử gắn kết của thể liên hợp theo sáng chế, có thể gắn kết với thụ thể hoặc phức hợp thụ thể được biểu hiện trên tế bào lymphô hoạt hóa liên quan đến bệnh tự miễn. Thụ thể hoặc thụ thể phức hợp này có

thể chứa thành viên của siêu họ gen globulin miễn dịch (ví dụ, CD2, CD3, CD4, CD8, CD19, CD20, CD22, CD28, CD30, CD33, CD37, CD38, CD56, CD70, CD79, CD90, CD152/CTLA-4, PD-1, hoặc ICOS), thành viên của siêu họ thụ thể TNF (ví dụ CD27, CD40, CD95/Fas, CD134/OX40, CD137/4-1BB, INF-R1, TNFR-2, RANK, TACI, BCMA, osteoprotegerin, Apo2/TRAIL-R1, TRAIL-R2, TRAIL-R3, TRAIL-R4, và APO-3), integrin, thụ thể xytokin, thụ thể chemokin, protein tương thích mô chính, lectin (typ C, typ S, hoặc typ I), hoặc protein kiểm soát bổ trợ.

Theo phương án cụ thể khác, các phối tử gắn kết hữu ích đặc hiệu miễn dịch đối với virus hoặc kháng nguyên của vi sinh vật là kháng thể đơn dòng của người hoặc làm cho giống với kháng thể của người. Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "kháng nguyên của virus" bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, peptit của virus bất kỳ, protein polypeptit (ví dụ, HIV gp120, HIV nef, glycoprotein RSV F, neuraminidaza của virus cúm, ngưng kết tổ hồng cầu của virus cúm, HTLV tax, glycoprotein của virus ecpet đơn hình (ví dụ, gB, gC, gD, và gE) và kháng nguyên bề mặt của bệnh viêm gan B) có khả năng tạo ra đáp ứng miễn dịch. Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "kháng nguyên của vi sinh vật" bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, peptit, polypeptit, protein, sacarit, polysacarit, hoặc phân tử lipid của vi sinh vật bất kỳ (ví dụ, vi khuẩn, nấm, động vật nguyên sinh gây bệnh, hoặc polypeptit của nấm men bao gồm, ví dụ, LPS và nang polysacarit 5/8) có khả năng tạo ra đáp ứng miễn dịch. Ví dụ về các kháng thể có thể sử dụng đối với bệnh nhiễm virus hoặc vi sinh vật bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, Palivizumab là kháng thể đơn dòng kháng virus hợp bào đường hô hấp được làm cho giống với kháng thể của người để điều trị bệnh nhiễm virus RSV; PRO542 là kháng thể dung hợp CD4 để điều trị bệnh nhiễm virus HIV; Ostavir là kháng thể của người để điều trị bệnh nhiễm virus viêm gan B; PROTVIR là kháng thể IgG.sub.1 được làm cho giống với kháng thể của người để điều trị bệnh nhiễm virus cự bào; và các kháng thể kháng LPS.

Thể liên hợp phân tử gắn kết-chất gây độc tế bào của sáng chế này có thể được sử dụng để điều trị các bệnh nhiễm khuẩn. Các bệnh nhiễm khuẩn này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh nhiễm Acinetobacter, bệnh nhiễm Actinomyces, bệnh buồn ngủ châu Phi (bệnh do vi khuẩn Trypanosoma gây ra), AIDS (Hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải), bệnh amip, bệnh nhiễm Anaplasma, bệnh than, bệnh nhiễm Arcanobacterium haemolyticum, bệnh sốt xuất huyết Argentina, bệnh nhiễm

Ascariasis, Aspergillosis, bệnh nhiễm Astrovirut, bệnh nhiễm Babesiosis, bệnh nhiễm *Bacillus cereus*, bệnh viêm phổi do nhiễm khuẩn, bệnh nhiễm khuẩn âm đạo, bệnh nhiễm *Bacteroides*, Balantidiasis, bệnh nhiễm Baylisascaris, bệnh nhiễm virut BK, bệnh nhiễm Black piedra, bệnh nhiễm Blastocystis hominis, Blastomycosis, bệnh sốt xuất huyết Bolivian, bệnh nhiễm *Borrelia*, bệnh nhiễm Botulism (và bệnh nhiễm botulism ở trẻ em), bệnh sốt xuất huyết Brazilian, bệnh nhiễm Brucellosis, bệnh nhiễm *Burkholderia*, bệnh loét Buruli, bệnh nhiễm Calicivirut (Norovirut và Sapovirut), bệnh nhiễm Campylobacteriosis, bệnh nhiễm nấm *Candida* (Moniliasis; Thrush), bệnh do mèo cao, bệnh viêm mô tế bào, bệnh Chagas (vi khuẩn *Trypanosoma* châu Mỹ), bệnh hạ cam, bệnh nhiễm virut thủy đậu, bệnh nhiễm Chlamydia, bệnh nhiễm *Chlamydomonas pneumoniae*, bệnh nhiễm Cholera, bệnh nhiễm Chromoblastomycosis, bệnh nhiễm Clonorchiasis, bệnh nhiễm *Clostridium difficile*, bệnh nhiễm Coccidioidomycosis, bệnh sốt Colorado tick, bệnh cảm lạnh thông thường (bệnh viêm mũi họng cấp tính do virut; bệnh sổ mũi cấp tính), bệnh Creutzfeldt-Jakob, bệnh sốt xuất huyết Crimean-Congo, bệnh nhiễm Cryptococcosis, bệnh nhiễm Cryptosporidiosis, bệnh nhiễm larva migrans dưới da, bệnh nhiễm Cyclosporiasis, bệnh nhiễm Cysticercosis, bệnh nhiễm virut cự bào, bệnh sốt Dengue, bệnh nhiễm Dientamoebiasis, bệnh nhiễm Diphtheria, bệnh nhiễm Diphyllbothriasis, bệnh nhiễm Dracunculiasis, bệnh bệnh sốt xuất huyết Ebola, bệnh nhiễm Echinococcosis, bệnh nhiễm Ehrlichiosis, bệnh nhiễm Enterobiasis (bệnh nhiễm sán kim), bệnh nhiễm Enterococcus, bệnh nhiễm Enterovirut, bệnh Epidemic typhus, bệnh ban đỏ infectiosum (bệnh thứ năm), bệnh Exanthem subitum, bệnh Fasciolopsiasis, bệnh Fasciolosis, chứng mất ngủ gây tử vong, bệnh Filariasis, bệnh ngộ độc thực phẩm do *Clostridium perfringens*, bệnh nhiễm Free-living amebic, bệnh nhiễm *Fusobacterium*, bệnh Gas gangrene (Clostridial myonecrosis), Geotrichosis, Gerstmann-Sträussler-Scheinker hội chứng, Giardiasis, Glanders, Gnathostomiasis, Gonorrhea, Granuloma inguinale (Donovanosis), bệnh nhiễm streptococcal nhóm A, bệnh nhiễm streptococcal nhóm B, bệnh cúm *Haemophilus*, bệnh chân tay miệng (HFMD), hội chứng phổi nhiễm Hantavirut Phổi, bệnh nhiễm *Helicobacter pylori*, hội chứng Hemolytic-uremic, bệnh sốt xuất huyết có hội chứng thận, bệnh viêm gan A, bệnh viêm gan B, bệnh viêm gan C, bệnh viêm gan D, bệnh viêm gan E, bệnh nhiễm ecpet simplex, bệnh Histoplasmosis, bệnh nhiễm giun móc, bệnh nhiễm bocavirut ở

người, bệnh ewingii ehrlichiosis ở người, bệnh granulocytic anaplasmosis ở người, bệnh nhiễm metapneumovirut ở người, bệnh nhiễm ewingii ehrlichiosis ở người, bệnh nhiễm papilomvirut ở người, bệnh nhiễm parainfluenza ở người, bệnh Hymenolepiasis, bệnh nhiễm virut Epstein-Barr Mononucleosis (Mono), bệnh cúm, bệnh Isosporiasis, bệnh Kawasaki, bệnh viêm giác mạc, bệnh nhiễm Kingella kingae, bệnh sốt Kuru, Lassa, bệnh Legionellosis (bệnh Legionnaires), bệnh Legionellosis (bệnh sốt Pontiac), Nhiễm Leishmania, bệnh phong, bệnh nhiễm leptospira, bệnh nhiễm Listeria, bệnh Lym (Lyme borreliosis), bệnh Lymphatic filariasis (Elephantiasis), bệnh viêm màng não ở tế bào lympho, bệnh sốt rét, bệnh sốt xuất huyết Marburg, bệnh sởi, bệnh trầm cảm (bệnh Whitmore), bệnh viêm màng não, bệnh nhiễm Meningococcal, bệnh Metagonimiasis, Microsporidiosis, Molluscum contagiosum, Mumps, Chuột typhus (Endemic typhus), Mycoplasma pneumonia, Mycetoma, Myiasis, bệnh viêm kết mạc ở trẻ sơ sinh (Ophthalmia neonatorum), bệnh nhiễm Creutzfeldt-Jakob biến thể mới (vCJD, nvCJD), Nocardiosis, Onchocerciasis (River blindness), Paracoccidioidomycosis (South American blastomycosis), Paragonimiasis, Pasteurellosis, Pediculosis capitis (Head lice), Pediculosis corporis (Body lice), Pediculosis pubis (Pubic lice, Crab lice), bệnh viêm vùng chậu, Pertussis (bệnh ho Whooping), Plague, bệnh nhiễm Pneumococcal, Pneumocystis pneumonia, Pneumonia, Poliomyelitis, bệnh nhiễm Prevotella, bệnh amoebic meningoencephalitis nguyên phát, bệnh multifocal leukoencephalopathy tiến triển, bệnh Psittacosis, bệnh sốt Q, bệnh dại, bệnh sốt Rat-bite, bệnh nhiễm khuẩn đường hô hấp, bệnh Rhinosporidiosis, bệnh nhiễm Rhinovirut, bệnh nhiễm Rickettsial, bệnh Rickettsialpox, bệnh sốt thung lũng Rift, bệnh sốt Rocky mountain spotted, bệnh nhiễm Rotavirut, bệnh Rubella, bệnh nhiễm Salmonellosis, bệnh SARS (hội chứng đường hô hấp cấp tính mức độ nặng), Scabies, Schistosomiasis, Sepsis, Shigellosis (Bacillary dysentery), Shingles (Herpes zoster), Smallpox (Variola), Sporotrichosis, bệnh ngộ độc thực phẩm do Staphylococcal, bệnh nhiễm Staphylococcal, Strongyloidiasis, Syphilis, Taeniasis, Tetanus (Lockjaw), Tinea barbae (Barber's itch), Tinea capitis (Ringworm of the Scalp), Tinea corporis (Ringworm of the Body), Tinea cruris (Jock itch), Tinea manuum (Ringworm of the Hand), Tinea nigra, Tinea pedis (Athlete's foot), Tinea unguium (Onychomycosis), Tinea versicolor (Pityriasis versicolor), Toxocariasis (Ocular Larva Migrans), Toxocariasis (Visceral Larva

Migrans), Toxoplasmosis, Trichinellosis, Trichomoniasis, Trichuriasis (Whipworm infection), Tuberculosis, Tularemia, Ureaplasma urealyticum infection, Venezuelan equine encephalitis, Venezuelan hemorrhagic fever, Viral pneumonia, bệnh sốt tây sông Nil, White piedra (Tinea blanca), bệnh nhiễm Yersinia pseudotuberculosis, Yersiniosis, bệnh sốt vàng, bệnh nhiễm Zygomycosis

Phân tử gắn kết, các kháng thể được ưu tiên hơn được mô tả trong đơn sáng chế này kháng lại các chủng gây bệnh bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, *Acinetobacter baumannii*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces gerencseriae* và *Propionibacterium propionicus*, *Trypanosoma brucei*, HIV (virut gây suy giảm miễn dịch ở người), *Entamoeba histolytica*, *Anaplasma* genus, *Bacillus anthracis*, *Arcanobacterium haemolyticum*, virut Junin, *Ascaris lumbricoides*, giống *Aspergillus*, họ *Astroviridae* family, giống *Babesia*, *Bacillus cereus*, multiple bacteria, *Bacteroides* genus, *Balantidium coli*, giống *Baylisascaris*, virut BK, *Piedraia hortae*, *Blastocystis hominis*, *Blastomyces dermatitidis*, virut Machupo, giống *Borrelia*, *Clostridium botulinum*, *Sabia*, giống *Brucella*, thường là *Burkholderia cepacia* và các loài *Burkholderia* khác, *Mycobacterium ulcerans*, họ *Caliciviridae*, giống *Campylobacter* genus, thường là *Candida albicans* và các loài *Candida* khác, *Bartonella henselae*, *Streptococcus* và *Staphylococcus* nhóm A, *Trypanosoma cruzi*, *Haemophilus ducreyi*, virut *Varicella zoster* (VZV), *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Vibrio cholerae*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Clonorchis sinensis*, *Clostridium difficile*, *Coccidioides immitis* và *Coccidioides posadasii*, bệnh sốt do virut Colorado tick, rhinovirut, coronaviru, CJD prion, bệnh sốt do virut Crimean-Congo hemorrhagic, *Cryptococcus neoformans*, giống *Cryptosporidium*, *Ancylostoma braziliense*; nhiều ký sinh trùng, *Cyclospora cayetanensis*, *Taenia solium*, Cytomegalovirut, các virut Dengue (DEN-1, DEN-2, DEN-3 và DEN-4) – các virut Flaviviruses, *Dientamoeba fragilis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Diphyllobothrium*, *Dracunculus medinensis*, Ebolavirus, giống *Echinococcus*, giống *Ehrlichia*, *Enterobius vermicularis*, giống *Enterococcus*, giống *Enterovirut*, *Rickettsia prowazekii*, Parvovirus B19, virut ecpet typ 6 ở người và virut ecpet typ 7 ở người, *Fasciolopsis buski*, *Fasciola hepatica* và *Fasciola gigantica*, FFI prion, *Filarioidea* superfamily, *Clostridium perfringens*, *Fusobacterium* genus, *Clostridium perfringens*; other *Clostridium* species, *Geotrichum candidum*, GSS prion, *Giardia intestinalis*, *Burkholderia mallei*, *Gnathostoma*

spinigerum and *Gnathostoma hispidum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Klebsiella granulomatis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Haemophilus influenzae*, Enteroviruses, chủ yếu là virus Coxsackie A và Enterovirus 71, virus Sin Nombre, virus *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli* O157:H7, họ *Bunyaviridae*, virus viêm gan A, virus viêm gan B, virus viêm gan C, virus viêm gan D, virus viêm gan E, virus ecpet đơn hình typ 1, Herpes simplex virus 2, *Histoplasma capsulatum*, *Ancylostoma duodenale* và *Necator americanus*, *Hemophilus influenzae*, bocavirus ở người, *Ehrlichia ewingii*, *Anaplasma phagocytophilum*, metapneumovirus ở người, *Ehrlichia chaffeensis*, papillomavirus ở người, parainfluenza virus ở người, *Hymenolepis nana* và *Hymenolepis diminuta*, virus Epstein-Barr, họ *Orthomyxoviridae*, *Isospora belli*, *Kingella kingae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, Kuru prion, virus Lassa, *Legionella pneumophila*, *Legionella pneumophila*, giống *Leishmania*, *Mycobacterium leprae* và *Mycobacterium lepromatosis*, giống *Leptospira*, *Listeria monocytogenes*, *Borrelia burgdorferi* và các loài *Borrelia* khác, *Wuchereria bancrofti* và *Brugia malayi*, bệnh nhiễm virus choriomeningitis ở tế bào lymphô (LCMV), giống *Plasmodium*, virus Marburg, virus Measles, *Burkholderia pseudomallei*, *Neisseria meningitidis*, *Metagonimus yokagawai*, *Microsporidia* phylum, virus *Molluscum contagiosum* (MCV), virus Mumps, *Rickettsia typhi*, *Mycoplasma pneumoniae*, nhiều loài vi khuẩn khác nhau (*Actinomycetoma*) và nấm (*Eumycetoma*), ký sinh trùng dipterous fly larvae, *Chlamydia trachomatis* và *Neisseria gonorrhoeae*, vCJD prion, *Nocardia asteroides* và các loài *Nocardia* khác, *Onchocerca volvulus*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Paragonimus westermani* và các loài *Paragonimus* khác, giống *Pasteurella*, *Pediculus humanus capitis*, *Pediculus humanus corporis*, *Phthirus pubis*, *Bordetella pertussis*, *Yersinia pestis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pneumocystis jirovecii*, Poliovirus, giống *Prevotella*, *Naegleria fowleri*, virus JC, *Chlamydia psittaci*, *Coxiella burnetii*, Rabies virus, *Streptobacillus moniliformis* and *Spirillum minus*, virus Respiratory syncytial, *Rhinosporidium seeberi*, Rhinovirus, giống *Rickettsia*, *Rickettsia akari*, virus gây bệnh sốt thung lũng Rift, *Rickettsia rickettsii*, Rotavirus, virus Rubella, giống *Salmonella*, SARS coronavirus, *Sarcoptes scabiei*, giống *Schistosoma*, giống *Shigella*, virus Varicella zoster, Variola major hoặc Variola minor, *Sporothrix schenckii*, giống *Staphylococcus*, giống *Staphylococcus*,

Staphylococcus aureus, *Streptococcus pyogenes*, *Strongyloides stercoralis*, *Treponema pallidum*, giống *Taenia*, *Clostridium tetani*, giống *Trichophyton*, *Trichophyton tonsurans*, giống *Trichophyton*, *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton rubrum*, và *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Hortaea werneckii*, giống *Trichophyton*, giống *Malassezia*, *Toxocara canis* hoặc *Toxocara cati*, *Toxoplasma gondii*, *Trichinella spiralis*, *Trichomonas vaginalis*, *Trichuris trichiura*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Francisella tularensis*, *Ureaplasma urealyticum*, virut Venezuelan equine encephalitis, *Vibrio colerae*, virut Guanarito, virut tây sông Nil, *Trichosporon beigelii*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica*, virut gây bệnh sốt vàng, *Mucorales* order (*Mucormycosis*) và *Entomophthorales* order (*Entomophthoramycosis*), *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter (Vibrio) fetus*, *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda*, *Yersinia pestis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhimurium*, *Treponema pertense*, *Treponema caratense*, *Borrelia vincentii*, *Borrelia burgdorferi*, *Leptospira icterohemorrhagiae*, *Pneumocystis carinii*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella melitensis*, *Mycoplasma* spp., *Rickettsia prowazeki*, *Rickettsia tsutsugumushi*, *Chlamydia* spp.; các nấm gây bệnh (*Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Histoplasma capsulatum*); các động vật nguyên sinh (*Entamoeba histolytica*, *Trichomonas tenax*, *Trichomonas hominis*, *Trypanosoma gambiense*, *Trypanosoma rhodesiense*, *Leishmania donovani*, *Leishmania tropica*, *Leishmania braziliensis*, *Pneumocystis pneumonia*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*); hoặc *Helminths* (*Schistosoma japonicum*, *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium*, and hookworms).

Các kháng thể khác làm phôi tử gắn kết trong sáng chế này để điều trị bệnh nhiễm virut bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các kháng thể kháng lại kháng nguyên của các virut gây bệnh, bao gồm các ví dụ và không bị giới hạn ở: *Poxviridae*, *Herpesviridae*, *Adenoviridae*, *Papovaviridae*, *Enteroviridae*, *Picornaviridae*, *Parvoviridae*, *Reoviridae*, *Retroviridae*, virut cúm, parainfluenza viruses, mumps, measles, respiratory syncytial virus, rubella, *Arboviridae*, *Rhabdoviridae*, *Arenaviridae*, virut không phải viêm gan A/không phải viêm gan B, *Rhinoviridae*, *Coronaviridae*, *Rotoviridae*, *Oncovirus* [như HBV (caxinom tế bào gan), HPV (bệnh ung thư cổ tử cung, bệnh ung thư hậu môn), virut ecpet liên quan đến bệnh sacôm

Kaposi (Kaposi's sarcoma), virus Epstein-Barr (caxinom mũi họng, u lymphô Burkitt, u lymphô hệ thần kinh trung ương nguyên phát), MCPyV (bệnh ung thư tế bào Merkel), SV40 (virus Simian 40), HCV (caxinom tế bào gan), HTLV-I (bệnh bạch cầu/u lymphô tế bào T ở người trưởng thành)], virus gây ra các rối loạn miễn dịch: [như virus gây suy giảm miễn dịch ở người (AIDS)]; virus gây bệnh ở hệ thần kinh trung ương: [như, JCV (Progressive multifocal leukoencephalopathy), MeV (Subacute sclerosing panencephalitis), LCV (Lymphocytic choriomeningitis), Arbovirus encephalitis, Orthomyxoviridae (probable) (Encephalitis lethargica), RV (Rabies), Chandipura virus, Herpesviral meningitis, hội chứng Ramsay Hunt typ II; Poliovirus (Poliomyelitis, hội chứng Post-polio), HTLV-I (Tropical spastic paraparesis)]; Cytomegalovirus (bệnh viêm võng mạc do Cytomegalovirus, HSV (Herpetic keratitis)); virus gây bệnh ở tim mạch [như CBV (Pericarditis, Myocarditis)]; Respiratory system/acute viral nasopharyngitis/viral pneumonia: [virus Epstein-Barr (EBV infection/Infectious mononucleosis), Cytomegalovirus; SARS coronavirus (hội chứng đường hô hấp cấp tính mức độ nặng) Orthomyxoviridae: virus cúm A/B/C (Influenza/Avian influenza), Paramyxovirus: Human parainfluenza viruses (Parainfluenza), RSV (virus gây bệnh đường hô hấp), hMPV]; Digestive system virus [MuV (Mumps), Cytomegalovirus (Cytomegalovirus esophagitis); Adenovirus (bệnh nhiễm Adenovirus); Rotavirus, Norovirus, Astrovirus, Coronavirus; HBV (virus viêm gan B), CBV, HAV (virus viêm gan A), HCV (virus viêm gan C), HDV (virus viêm gan D), HEV (virus viêm gan E), HGV (virus viêm gan G)]; virus đường sinh dục-niệu [như, virus BK, MuV (Mumps)].

Theo phương án khác, sáng chế còn đề cập đến các dược phẩm chứa thể liên hợp của sáng chế cùng với chất mang dược dụng để điều trị bệnh ung thư và các rối loạn tự miễn. Phương pháp điều trị bệnh ung thư, các rối loạn tự miễn, các bệnh nhiễm khuẩn hoặc bệnh nhiễm virus có thể được tiến hành *in vitro*, *in vivo*, hoặc *ex vivo*. Ví dụ về việc sử dụng *in vitro* bao gồm việc xử lý môi trường nuôi cấy tế bào để tiêu diệt tất cả các tế bào, ngoại trừ các biến thể mong muốn không biểu hiện kháng nguyên đích; hoặc để tiêu diệt các biến thể biểu hiện kháng nguyên không mong muốn. Ví dụ về việc sử dụng *ex vivo* bao gồm việc xử lý các tế bào gốc tạo máu (hematopoietic stem cell: HSC) trước khi thực hiện việc cấy ghép (HSCT) vào chính bệnh nhân này để tiêu diệt các tế bào bị bệnh hoặc tế bào ác tính. Ví dụ, việc xử lý *ex*

vivo trong lâm sàng để loại bỏ các tế bào khối u hoặc tế bào lymphô ra khỏi tủy xương trước khi cấy ghép tự thân trong điều trị bệnh ung thư hoặc trong điều trị bệnh tự miễn, hoặc để loại bỏ các tế bào T và khác các tế bào lymphô khác ra khỏi tủy xương hoặc mô khác alen cùng loài trước khi cấy ghép để ngăn ngừa bệnh mô ghép chống lại túc chủ, có thể được tiến hành là như sau. Tủy xương được lấy từ bệnh nhân hoặc đối tượng khác và sau đó được ủ trong môi trường chứa huyết thanh đã được bổ sung thể liên hợp của sáng chế, nồng độ nằm trong khoảng từ 1 pM đến 0,1mM, trong khoảng thời gian từ 30 phút đến 48 giờ ở nhiệt độ khoảng 37°C. Các điều kiện chính xác của nồng độ và thời gian ủ (=liều dùng) được xác định dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Sau khi ủ, các tế bào tủy xương được rửa bằng môi trường chứa huyết thanh và được đưa trở lại bệnh nhân bằng các tiêm truyền qua đường trong tĩnh mạch (i.v.)_theo các phương pháp đã biết. Trong các trường hợp mà bệnh nhân được điều trị bằng phương pháp khác như quá trình hóa trị có cắt bỏ hoặc phương pháp xạ trị toàn thân ở giữa thời điểm lấy tủy và tái tiêm truyền các tế bào đã điều trị, các tế bào tủy đã điều trị được bảo quản đông lạnh trong nitơ lỏng bằng cách sử dụng kỹ thuật y học chuẩn.

Để sử dụng *in vivo* trong lâm sàng, thể liên hợp chất gắn kết tế bào –chất gây độc tế bào của sáng chế này sẽ được cung cấp dưới dạng dung dịch hoặc chất rắn đông khô nhanh, chất rắn này có thể được hòa tan lại trong nước vô trùng dùng để tiêm. Ví dụ về các phương pháp thích hợp để sử dụng thể liên hợp là như sau. Các thể liên hợp được sử dụng mỗi tuần một lần, hai tuần một lần, ba tuần một lần hoặc sử dụng mỗi tháng một lần trong thời gian từ 4 đến 24 tuần hoặc cho đến khi bệnh tiến triển hoặc độc tính không chấp nhận được dưới dạng độc tính dưới dạng tiêm liều lớn qua đường trong tĩnh mạch (i.v.). Các liều lớn được sử dụng khi albumin huyết thanh của người được cho vào từ 10 đến 500ml nước muối sinh lý (ví dụ, từ 0,5 đến 1ml dung dịch cô đặc chứa albumin huyết thanh của người, 100 mg/ml) có thể được thêm vào. Liều dùng sẽ nằm trong khoảng từ 50µg to 20 mg/kg thể trọng mỗi tuần một lần, hai tuần một lần, ba tuần một lần hoặc mỗi tháng một lần qua đường trong tĩnh mạch (i.v.) (mỗi lần tiêm với lượng khoảng từ 10µg đến 200 mg/kg). 4 -24 tuần sau khi điều trị, bệnh nhân có thể cho sử dụng liệu trình điều trị thứ hai. Các quy trình lâm sàng cụ thể liên quan đến đường sử dụng, các tá dược, chất pha loãng, liều dùng, số lần dùng, v.v., có thể được xác định bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Ví dụ,

các tá dược thông thường có thể là polysorbat với lượng nằm trong khoảng từ 0,002% đến 0,5% (polysorbat 20, polysorbat 40, polysorbat 60, hoặc polysorbat 80) hoặc chất hoạt động bề mặt được dụng khác như natri lauryl sulfat, triton X-100, chất kết dính với lượng nằm trong khoảng từ 0,1% đến 10%, như sacarit và dẫn xuất của chúng (disacarit: sucroza, lactoza, trehaloza hoặc maltoza), các rượu đường như xylitol, sorbitol hoặc maltitol, hoặc polyetylen glycol, và các chất đệm được dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,1% đến 10% như xitrat, succinat axetat, phosphat, hoặc borat có độ pH nhất định nằm trong khoảng từ 4,5 đến 9,5. Trong một số ứng dụng, thành phần liều dùng có thể chứa các tá dược khác, như các polysacarit và dẫn xuất của chúng: tinh bột, xenluloza hoặc xenluloza được cải biến như xenluloza vi tinh thể và các ete xenluloza như hydroxypropyl xenluloza (HPC), hypromeloza (hydroxypropyl methylxenluloza (HPMC)) hoặc hydroxypropyl xenluloza; protein như gelatin, hoặc albumin; các polyme tổng hợp: polyvinylpyrrolidon (PVP), polyetylen glycol (PEG); các chất chống oxy hoá như vitamin A, vitamin E, vitamin C, retinyl palmitat, và selen; các axit amin như xystein, tyrosin hoặc metionin; các chất bảo quản tổng hợp như paraben: methyl paraben và propyl paraben.

Ví dụ về các tình trạng bệnh có thể được điều trị theo phương pháp *in vivo* hoặc *ex vivo* để tiêu diệt các quần thể tế bào được chọn bao gồm các bệnh ác tính của các loại bệnh ung thư bất kỳ, các bệnh tự miễn, tình trạng thải bỏ mô ghép, và bệnh nhiễm khuẩn (virut, vi khuẩn hoặc ký sinh trùng).

Lượng của thể liên hợp cần thiết để đạt được hiệu quả sinh học mong muốn, sẽ thay đổi tùy thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm các đặc tính hóa học, độ hiệu nghiệm, và độ sinh khả dụng của thể liên hợp, loại bệnh, các loài mà bệnh nhân nhiễm phải, tình trạng bệnh của bệnh nhân, đường sử dụng, tất cả các yếu tố quyết định lượng liều dùng cần thiết, sự giải phóng và chế độ liều được sử dụng.

Nói chung, thể liên hợp chất gắn kết tế bào – chất gây độc tế bào của sáng chế này có thể được cung cấp trong dung dịch sinh lý trong nước chứa thể liên hợp với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 10% khối lượng/thể tích để sử dụng ngoài đường tiêu hóa. Các khoảng liều dùng thông thường nằm trong khoảng từ 1 µg/kg đến 0,1 g/kg thể trọng mỗi ngày, ba ngày một lần, mỗi tuần một lần, hai tuần một lần, ba tuần một lần hoặc bốn tuần một lần. Khoảng liều dùng được ưu tiên nằm trong khoảng từ 0,01 mg/kg đến 20 mg/kg thể trọng, mỗi tuần một lần, hai tuần một lần, ba tuần một lần hoặc mỗi tháng một lần,

hoặc liều dùng tương đương ở người trưởng thành. Liều lượng dược chất được ưu tiên cần được sử dụng cũng phụ thuộc vào các biến số như loại và mức độ tiến triển của bệnh hoặc rối loạn, tình trạng sức khỏe chung của bệnh nhân cụ thể, hiệu quả sinh học tương đối của hợp chất được chọn, dạng bào chế của hợp chất, đường sử dụng (tĩnh mạch, trong cơ, hoặc đường khác khác), đặc tính dược động học của hợp chất theo đường giải phóng được chọn, và tốc độ (liều lớn hoặc truyền liên tục) và liệu trình sử dụng (số lần lặp lại trong một khoảng thời gian cho trước).

Thể liên hợp chất gắn kết tế bào –chất gây độc tế bào của sáng chế cũng có thể được sử dụng theo các dạng liều dùng đơn vị, trong đó thuật ngữ “liều dùng đơn vị” để chỉ liều đơn có thể được sử dụng cho bệnh nhân, và liều này có thể được xử lý và bao gói dễ dàng, mà vẫn duy trì dưới dạng liều đơn vị ổn định lý học và hoá học chứa chính thể liên hợp hoạt tính, hoặc dưới dạng chế phẩm được dụng, như được mô tả dưới đây. Theo đó, tổng liều dùng hàng ngày thông thường nằm trong khoảng từ 0,01 đến 100 mg/kg thể trọng. Bằng cách hướng dẫn chung, các liều dùng đơn vị cho người nằm trong khoảng từ 1 mg đến 3000 mg mỗi ngày. Tốt hơn, nếu liều dùng đơn vị nằm trong khoảng từ 0,1 đến 500 mg được sử dụng từ một đến ba lần mỗi ngày, mỗi tuần một lần, hai tuần một lần, ba tuần một lần hoặc mỗi tháng một lần, và đặc biệt tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 1 mg đến 500mg, mỗi tuần một lần, hai tuần một lần, hoặc ba tuần một lần. Các thể liên hợp được cung cấp ở đây có thể được bào chế thành được phẩm bằng cách trộn với một hoặc nhiều tá dược được dụng. Các chế phẩm dạng liều dùng đơn vị này có thể được bào chế để sử dụng qua đường miệng, cụ thể là ở dạng viên nén, viên nang thông thường hoặc viên nang dạng gel mềm; hoặc sử dụng qua đường mũi, cụ thể là dưới dạng bột, thuốc nhỏ mũi, hoặc khí dung; hoặc sử dụng qua da, ví dụ, sử dụng khu trú ở dạng thuốc mỡ, kem bôi, nước xức, gel hoặc thuốc xịt, hoặc dạng miếng dán qua da. Các chế phẩm này có thể được sử dụng thuận tiện ở dạng liều dùng đơn vị và có thể được bào chế bằng phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp phổ biến trong lĩnh vực dược phẩm, ví dụ, như được mô tả trong tài liệu Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21th ed.; Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, 2005. Các chế phẩm được ưu tiên bao gồm các dược phẩm trong đó hợp chất theo sáng chế được bào chế để sử dụng qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa. Để sử dụng qua đường miệng, viên nén, viên tròn, bột, viên nang, viên thuốc hình thoi và dạng tương tự có thể chứa một hoặc nhiều thành phần bất kỳ trong số các thành phần sau, hoặc hợp chất có tính chất tương tự: chất kết dính như

xenluloza vi tinh thể, hoặc gồm tragacan; chất pha loãng như tinh bột hoặc lactoza; chất gây rã như tinh bột và dẫn xuất xenluloza; chất làm trơn như magie stearat; chất gây trượt như silicon dioxit dạng keo; chất làm ngọt như sucroza hoặc sacarin; hoặc chất tạo hương vị như bạc hà, hoặc metyl salixilat. Các viên nang có thể ở dạng viên nang cứng hoặc viên nang mềm, các viên nang này thường được tạo ra từ hỗn hợp gelatin được trộn tùy ý với chất dẻo hoá, cũng như viên nang tinh bột. Ngoài ra, các dạng đơn vị liều dùng có thể chứa các chất khác nhau khác để cải biến trạng thái vật lý của đơn vị liều dùng, ví dụ, các lớp bao chứa đường, shenlac, hoặc chất tan trong ruột. Các dạng liều dùng qua đường miệng khác như xi rô hoặc cốm ngọt có thể chứa chất làm ngọt, chất bảo quản, thuốc nhuộm, chất tạo màu, và chất tạo hương vị. Ngoài ra, hợp chất có hoạt tính có thể được đưa vào chế phẩm và sản phẩm hòa tan nhanh, có sự giải phóng được cải biến hoặc có giải phóng được duy trì, và trong đó các sp có sự giải phóng duy trì được ưu tiên là sản phẩm có sự giải phóng theo hai phương thức. Các viên nén được ưu tiên chứa lactoza, tinh bột ngô, magie silicat, croscarmeloza natri, povidon, magie stearat, hoặc bột talc với sự kết hợp bất kỳ. Chế phẩm dạng lỏng để sử dụng ngoài đường tiêu hóa bao gồm dung dịch, huyền phù, và nhũ tương chứa nước hoặc không chứa nước vô khuẩn. Các chế phẩm dạng lỏng cũng có thể chứa chất kết dính, chất đệm, chất bảo quản, chất chelat hóa, chất làm ngọt, chất tạo hương vị và chất tạo màu, và chất tương tự. Các dung môi không chứa nước bao gồm rượu, propylen glycol, polyetylen glycol, các dầu thực vật như dầu oliu, và các este hữu cơ như etyl oleat. Các chất mang hệ nước bao gồm hỗn hợp của rượu và nước, môi trường được đệm, và nước muối. Cụ thể, polyme lactit tương hợp sinh học, thoái biến sinh học, copolyme lactit/glycolit, hoặc các copolyme polyoxyetylen-polyoxypropylen có thể là các tá dược hữu ích để kiểm soát sự giải phóng hợp chất có hoạt tính. Các chất dẫn thuốc dùng qua đường tĩnh mạch có thể bao gồm các chất bổ sung chất lỏng và chất dinh dưỡng, các chất bổ sung chất điện phân, như các chất trên cơ sở dextroza Ringer, và chất tương tự. Các hệ giải phóng dùng ngoài đường tiêu hóa hữu ích khác đối với các hợp chất có hoạt tính này bao gồm các hạt copolyme etylen-vinyl axetat, bom thẩm thấu, hệ tiêm truyền khi ghép, và liposom.

Các chế độ sử dụng khác bao gồm các sản phẩm dùng để hít, sản phẩm này có dạng như bột khô, khí dung, hoặc giọt. Chúng có thể là dung dịch nước chứa, ví dụ, polyoxyetylen-9-lauryl ete, glycocholat và deoxycholat, hoặc dung dịch trong dầu để sử dụng dưới dạng thuốc nhỏ mũi, hoặc dưới dạng gel để được sử dụng qua đường mũi. Các

chế phẩm để sử dụng trong má bao gồm, ví dụ, viên thuốc hình thoi hoặc viên ngậm và cũng có thể bao gồm nền có hương vị, như sucroza hoặc acaxia, và các tá dược khác như glycocholat. Tốt hơn, nếu các chế phẩm thích hợp để sử dụng qua đường trực tràng được trình bày dưới dạng các thuốc đạn dạng liều đơn vị, với chất mang trên cơ sở chất rắn, như bơ cacao, và có thể bao gồm salixilat. Tốt hơn, nếu các chế phẩm để sử dụng khu trú cho da ở dạng thuốc mỡ, kem bôi, nước xúc, bột nhão, gel, dạng phun, khí dung, hoặc dầu. Các chất mang có thể được sử dụng bao gồm vazolin, lanolin, polyetylen glycol, các rượu, hoặc các hỗn hợp của chúng. Các chế phẩm thích hợp để sử dụng qua da có thể được trình bày dưới dạng các miếng dán riêng biệt và có thể là nhũ tương ưa chất béo hoặc được đệm, dung dịch nước, được hòa tan và/hoặc phân tán trong polyme hoặc keo.

Theo phương án cụ thể, thể liên hợp chất gắn kết tế bào –chất gây độc tế bào của sáng chế này được sử dụng đồng thời với các chất điều trị đã biết khác hoặc sẽ được biết như các chất hóa trị liệu, liệu pháp xạ trị, chất điều trị miễn dịch, chất điều trị rối loạn tự miễn, chất chống nhiễm khuẩn hoặc thể liên hợp kháng thể-dược chất khác, để tạo ra tác dụng hiệp đồng. Theo phương án cụ thể khác, dược chất có tác dụng hiệp đồng hoặc liệu pháp xạ trị được sử dụng trước hoặc sau khi sử dụng thể liên hợp, theo một khía cạnh, ít nhất một giờ, 12 giờ, một ngày, một tuần, hai tuần, ba tuần, một tháng, theo các khía cạnh khác là vài tháng, trước hoặc sau khi sử dụng thể liên hợp của sáng chế.

Theo các phương án khác, các dược chất có tác dụng hiệp đồng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở:

1). Các chất hóa trị liệu: a). Các chất alkyl hoá: như [hoi cay nitơ: (clorambuxil, xyclophosphamit, ifosfamid, mecloetamin, melphalan, trofosfamid); các hợp chất nitrosoure: (carmustin, lomustin); các hợp chất alkylsulphonat: (busulfan, treosulfan); các hợp chất triazen: (dacarbazin); các hợp chất chứa platin: (carboplatin, xisplatin, oxaliplatin)]; b). Alkaloid thực vật: như [Vinca alkaloid: (vincristin, vinblastin, vindesin, vinorelbin); các hợp chất taxoit: (paclitaxel, docetaxol)]; c). các chất ức chế ADN Topoisomeraza: như [Epipodophylin: (9-aminocamptothecin, camptothecin, crisnatol, etoposid, etoposid phosphat, irinotecan, teniposid, topotecan,); các hợp chất mitomycin: (mitomycin C)]; d). Các chất chống chuyển hóa: như {[kháng folat: các chất ức chế DHFR: (metotrexat, trimetrexat); các chất ức chế IMP dehydroaza: (axit mycophenolic, tiazofurin, ribavirin, EICAR); các chất ức chế ribonucleotit reductaza:

(hydroxyure, deferoxamin)]; [các chất tương tự pyrimidin: các chất tương tự uraxil: (5-Flouraxil, doxifluridin, floxuridin, ratitrexed (Tomudex)); các chất tương tự xytosin: (xytarabin, xytosin arabinosit, fludarabin); các chất tương tự purin: (azathioprin, mercaptopurin, thioguanin)]]; e). Các liệu pháp hormon: như {các chất đối kháng thụ thể: [kháng estrogen: (megestrol, raloxifen, tamoxifen); các chất chủ vận LHRH: (goserelin, leuprolit axetat); kháng androgen: (bicalutamit, flutamit)]; Retinoit/Deltoit: [các chất tương tự vitamin D3: (CB 1093, EB 1089 KH 1060, cholecalciferol, ergocalciferol)]; các liệu pháp quang động: (verteporfin, phthaloxyanin, chất nhạy quang học Pc4, demetoxi-hypocrellin A); xytokin: (Interferon-alpha, interferon-gama, yếu tố hoại tử khối u (TNF), các protein của người chứa vùng TNF)]]; f). Các chất ức chế kinaza, như BIBW 2992 (kháng EGFR/Erb2), imatinib, gefitinib, pegaptanib, sorafenib, dasatinib, sunitinib, erlotinib, nilotinib, lapatinib, axitinib, pazopanib, vandetanib, E7080 (kháng VEGFR2), mubritinib, ponatinib (AP24534), bafetinib (INNO-406), bosutinib (SKI-606), cabozantinib, vismodegib, iniparib, ruxolitinib, CYT387, axitinib, tivozanib, sorafenib, bevacizumab, cetuximab, Trastuzumab, Ranibizumab, Panitumumab, ispinesib; g). Các chất khác: như gemxitabin, epoxomixin (ví dụ, carfilzomib), bortezomib, thalidomit, lenalidomit, pomalidomit, tosedostat, zybrestat, PLX4032, STA-9090, Stimuvax, allovectin-7, Xegeva, Provenge, Yervoy, các chất ức chế isoprenyl hóa (như Lovastatin), Dopaminergic neurotoxins (như ion 1-metyl-4-phenylpyridini), các chất ức chế chu trình tế bào (như staurosporin), các hợp chất Actinomycin (như Actinomycin D, dactinomycin), các hợp chất Bleomycin (như bleomycin A2, bleomycin B2, peplomycin), các hợp chất anthracyclin (như daunorubicin, doxorubicin (adriamycin), idarubicin, epirubicin, pirarubicin, zorubicin, mtoxantron, các chất ức chế MDR (như verapamil), các chất ức chế Ca^{2+} ATPaza (như thapsigargin), vismodegib, các chất ức chế histon deacetylaza (Vorinostat, Romidepsin, Panobinostat, axit Valproic, Mocetinostat (MGCD0103), Belinostat, PCI-24781, Entinostat, SB939, Resminostat, Givinostat, AR-42, CUDC-101, sulforaphan, Trichostatin A); Thapsigargin, Celecoxib, glitazones, epigallocatechin galat, Disulfiram, Salinosporamit A. Danh sách chi tiết hơn về các dược chất kháng ung thư đã biết và sẽ biết có thể được sử dụng liệu pháp kết hợp (tác dụng hiệp đồng) với các hợp chất và thể liên hợp của sáng chế có thể được xem trên trang web của Viện ung thư quốc gia (Mỹ)

(www.cancer.gov; www.cancer.gov/cancertopics/druginfo/alphalist), Hiệp hội ung thư Mỹ (www.cancer.org/treatment/index) và Viện nghiên cứu bệnh ung thư của Vương quốc Anh (www.cancerresearchuk.org; (www.cancerresearchuk.org/cancer-help/about-cancer/treatment/cancer-drugs/))

2). Các chất điều trị bệnh tự miễn bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, xyclosporin, xyclosporin A, axit aminocaproic, azathioprin, bromocriptin, clorambuxil, cloquin, xyclophosphamid, corticosteroid (ví dụ amcinonit, betamethason, budesonit, hydrocortison, flunisolit, fluticason propionat, fluocortolon danazol, dexametason, triamcinolon axetonit, beclometason dipropionat), DHEA, enanercept, hydroxycloquin, infliximab, meloxicam, methotrexat, mofetil, mycophenylat, prednison, sirolimus, tacrolimus.

3). Chất điều trị bệnh nhiễm khuẩn bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, a). Các hợp chất aminoglycosit: amikacin, astromicin, gentamicin (netilmicin, sisomicin, sepamycin), hygromycin B, kanamycin (amikacin, arbekacin, bekanamycin, dibekacin, tobramycin), neomycin (framycetin, paromomycin, ribostamycin), netilmicin, spectinomycin, streptomycin, tobramycin, verdamicin; b). Các hợp chất amphenicol: azidamfenicol, chloramphenicol, florfenicol, thiamphenicol; c). Các hợp chất ansamycin: geldanamycin, herbimycin; d). Các hợp chất carbapenem: biapenem, doripenem, ertapenem, imipenem/cilastatin, meropenem, panipenem; e). Các hợp chất xephem: carbacephem (loracarbef), xefacetil, xefaclor, xefradin, xefadroxil, xefalonium, xefaloridin, xefalotin hoặc xefalothin, xefalexin, xefaloglyxin, xefamandol, xefapirin, xefatrizin, xefazaflur, xefazedon, xefazolin, xefbuperazon, xefcapen, xefdaloxim, xefepim, xefminox, xefoxitin, xefprozil, xefroxadin, xeftezol, xefuroxim, xefixim, xefdinir, xefditoren, xefepime, xefetamet, xefmenoxim, xefodizim, xefonicid, xefoperazon, xeforanit, xefotaxim, xefotiam, xefozopran, xephalexin, xefpimizol, xefpiramit, xefpirom, xefpodoxim, xefprozil, xefquinom, xefsulodin, xeftazidim, xefteram, xeftibuten, xeftiolen, xeftizoxim, xeftobiprol, xeftriaxon, xefuroxim, xefuzonam, xephامycin (xefoxitin, xefotetan, xefmetazol), oxacephem (flomoxef, latamoxef); f). Các hợp chất glycopeptit: bleomycin, vancomycin (oritavancin, telavancin), teicoplanin (dalbavancin), ramoplanin; g). Các hợp chất glyxylxycin: ví dụ tigexycin; g). Các chất ức chế β -Lactamaza: penam (sulbactam, tazobactam), clavam (axit clavulanic); i). Các hợp chất lincosamit:

clindamycin, lincomycin; j). Các hợp chất lipopeptit: daptomycin, A54145, các chất kháng sinh phụ thuộc canxi (CDA); k). Các phân tử vòng lớn: azithromycin, xethromycin, clarithromycin, dirithromycin, erythromycin, flurithromycin, josamycin, ketolit (telithromycin, xethromycin), midecamycin, miocamycin, oleandomycin, rifamycin (rifampicin, rifampin, rifabutin, rifapentin), rokitamycin, roxithromycin, spectinomycin, spiramycin, tacrolimus (FK506), troleandomycin, telithromycin; l). Các hợp chất monobactam: aztreonam, tigemonam; m). Các hợp chất oxazolidinon: linezolid; n). Các hợp chất penicilin: amoxicillin, ampicillin (pivampicillin, hetacillin, bacampicillin, metampicillin, talampicillin), azidoxilin, azloxilin, benzylpenicillin, benzathin benzylpenicillin, benzathin phenoxymethylpenicillin, clometoxilin, procain benzylpenicillin, carbenicillin (carindaxilin), cloxacillin, dicloxacillin, epixilin, flucloxacillin, mecillinam (pivmecillinam), mezloxilin, metixilin, nafcillin, oxacillin, penamecillin, Penicillin, pheneticillin, phenoxymethylpenicillin, piperacillin, propixilin, sulbenicillin, temocillin, ticarcillin; o). Các hợp chất polypeptit: bacitracin, colistin, polymyxin B; p). Các hợp chất quinolon: alatrofloxacin, balofloxacin, ciprofloxacin, clinafloxacin, danofloxacin, difloxacin, enoxacin, enrofloxacin, floxin, garenoxacin, gatifloxacin, gemifloxacin, grepafloxacin, kano trovafloxacin, levofloxacin, lomefloxacin, marbofloxacin, moxifloxacin, nadifloxacin, norfloxacin, orbifloxacin, ofloxacin, pefloxacin, trovafloxacin, grepafloxacin, sitafloxacin, sparfloxacin, temafloxacin, tosufloxacin, trovafloxacin; q). Các hợp chất streptogramin: pristnamycin, quinupristin/dalfopristin; r). Các hợp chất sulfonamid: mafenide, prontosil, sulfacetamid, sulfamethizole, sulfanilimide, sulfasalazine, sulfisoxazol, trimetoprim, trimetoprim-sulfametoxazol (co-trimoxazol); s). Các chất kháng khuẩn steroid: ví dụ, axit fusidic; t). Các hợp chất tetracyclin: doxycycline, chlortetracycline, clomocycline, demeclocycline, lymecycline, meclocycline, metacycline, minocycline, oxytetracycline, penimepicycline, rolitetracycline, tetracycline, glycylcyclines (ví dụ tigecycline); u). Các loại chất kháng sinh khác:annonacin, arspenamin, các chất ức chế bactoprenol (Bacitracin), các chất ức chế DADAL/AR (xycloserin), dictyostatin, discodermolide, eleutherobin, epothilone, ethambutol, etoposide, faropenem, axit fusidic, furazolidone, isoniazid, laulimalide, metronidazol, mupirocin, mycolacton, các chất ức chế tổng hợp NAM (ví dụ, fosfomycin), nitrofurantoin, paclitaxel,

platensimyxin, pyrazinamit, quinupristin/dalfopristin, rifampicin (rifampin), tazobactam tinidazol, uvaricin;

4). Các dược chất kháng virus: a). Các chất ức chế đường vào/dung hợp: aplaviroc, maraviroc, vicriviroc, gp41 (enfuvirtide), PRO 140, CD4 (ibalizumab); b). Các chất ức chế integrase: raltegravir, elvitegravir, glebexon A; c). Các chất ức chế Maturation: bevirimat, vivecon; d). Các chất ức chế Neuraminidase: oseltamivir, zanamivir, peramivir; e). Nucleosits & nucleotit: abacavir, aciclovir, adefovir, amdoxovir, apricitabine, brivudine, cidofovir, clevudine, dexelvucitabine, didanosine (ddI), elvucitabine, emtricitabine (FTC), entecavir, famciclovir, flouxil (5-FU), các chất tương tự 2', 3'-dideoxynucleosit được thế 3'-flo (ví dụ, 3'-flo-2',3'-dideoxythymidin (FLT) và 3'-flo-2',3'-dideoxyguanosin (FLG), fomivirsen, ganciclovir, idoxuridine, lamivudine (3TC), các hợp chất l-nucleosit (ví dụ, β -l-thymidin và β -l-2'-deoxyxytidin), penciclovir, racivir, ribavirin, stampidine, stavudine (d4T), taribavirin (viramidine), telbivudine, tenofovir, trifluridine valaciclovir, valganciclovir, zalcitabine (ddC), zidovudine (AZT); f). Các hợp chất không phải nucleosit: amantadine, ateviridine, capravirine, diarylpyrimidine (etravirine, rilpivirine), delavirdine, docosanol, emivirine, efavirenz, foscarnet (axit phosphonoformic), imiquimod, interferon alfa, loviride, lodenosine, methisazone, nevirapine, NOV-205, peginterferon alfa, podophyllotoxin, rifampicin, rimantadine, resiquimod (R-848), tromantadine; g). Các chất ức chế protease: amprenavir, atazanavir, boceprevir, darunavir, fosamprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, pleconaril, ritonavir, saquinavir, telaprevir (VX-950), tipranavir; h). Các loại dược chất kháng virus khác: abzyme, arbidol, calanolide A, ceragenin, cyanovirin-n, diarylpyrimidin, epigallocatechin galat (EGCG), foscarnet, griffithsin, taribavirin (viramidine), hydroxyure, KP-1461, miltefosine, pleconaril, chất ức chế portmanteau, ribavirin, seliciclib.

5). Các dược chất điều trị miễn dịch khác: ví dụ, imiquimod, interferon (ví dụ, α , β), các yếu tố kích thích khuẩn lạc bạch cầu hạt, xytokin, interleukin (IL-1 ~ IL-35), các kháng thể (ví dụ, trastuzumab, pertuzumab, bevacizumab, cetuximab, panitumumab, infliximab, adalimumab, basiliximab, daclizumab, omalizumab), các dược chất liên kết với protein (ví dụ, Abraxane), kháng thể được liên hợp với dược chất được chọn từ dẫn xuất calicheamixin, của dẫn xuất maytansine (DM1 và DM4)

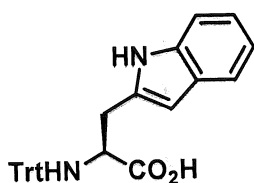
CC-1065 và chất kết dính rãnh nhỏ duocarmyxin, dẫn xuất taxol tiềm năng, doxorubixin, các được chất chống nguyên phân auristatin (ví dụ, Trastuzumab-DM1, Inotuzumab ozogamicin, Brentuximab vedotin, Glembatumumab vedotin, lorvotuzumab mertansine, AN-152 LMB2, TP-38, VB4-845, Cantuzumab mertansine, AVE9633, SAR3419, CAT-8015 (kháng CD22), IMGN388, milatuzumab-doxorubixin, SGN-75 (kháng CD70), kháng CD

22-MCC-DM1, IMGN853, Kháng CD22-MMAE, kháng CD22-MMAF, kháng CD22- calicheamixin.

Sáng chế được minh họa thêm nhưng phạm vi của sáng chế không bị giới hạn bởi phần mô tả trong các ví dụ sau.

Ví dụ thực hiện sáng chế

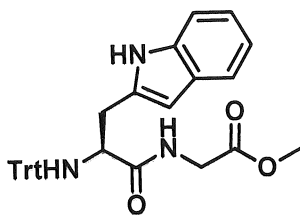
Ví dụ 1. Điều chế axit (*S*)-3-(1H-indol-2-yl)-2-(tritylamino)propanoic (có công thức 1)



1

Clotrimetylsilan (3,4ml, 26,9mmol) được cho thêm từ từ vào huyền phù chứa L-tryptophan (5,00g, 24,5ml) trong metylen clorua (40ml) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được khuấy liên tục trong 4,5 giờ và trietylamin (6,8ml, 49,0mmol) được thêm vào, sau đó cho thêm dung dịch chứa triphenylmetyl clorua (7,17g, 25,7mmol) trong metylen clorua (20ml). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 20 giờ và sau đó được tôi bằng metanol (25ml). Hỗn hợp phản ứng được cô đến gần khô và được hòa tan lại trong metylen clorua, được rửa bằng dung dịch axit xitric 5% (3×) và nước muối. Pha hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat khan, được lọc và cô. Phần cặn được hòa tan tiếp trong metylen clorua và được lọc trên tấm xelit và phần nước lọc được cô để thu được bột màu trắng nhạt (11,8 g), bột này được sử dụng ngay trong bước tiếp theo. ESI MS m/z 446,5 ($[M+H]^+$).

Ví dụ 2. Điều chế hợp chất (*S*)-metyl 2-(3-(1H-indol-2-yl)-2-(tritylamino)propan amido)axetat (có công thức 2)



2

Dung dịch chứa axit (9,27g, 30,7mmol) trong THF (30ml) được cho thêm hydroclorua este metyl của glyxin (2,85g, 22,8mmol) và HOBt (3,08g, 22,8mmol). Hỗn hợp này được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C và triethylamin (7,4ml, 51,9mmol) được thêm vào, sau đó cho thêm từng phần EDC·HCl (4,38g, 22,8mmol). Hỗn hợp này được để ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy trong 20 giờ và sau đó được cô và hòa tan lại trong metylen clorua và được rửa bằng dung dịch axit xitric 5% (3×) và nước muối. Pha hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat khan, được lọc và cô. Phần cặn được nghiền với etyl axetat và chất rắn màu trắng được thu hồi bằng cách lọc (6,46g, hiệu suất 65% theo hai bước). ESI MS m/z 518,2 ($[M+H]^+$).

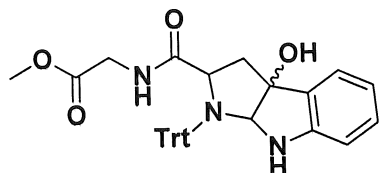
Ví dụ 3. Điều chế dimetyldioxiran (DMDO)

Nước cất (20ml), axeton (30ml), và NaHCO_3 (24g, 0,285 mol) được kết hợp trong bình đáy tròn có dung tích 1 lít và được làm lạnh trong bể nước/nước đá kèm theo khuấy từ trong 20 phút. Sau 20 phút, việc khuấy được ngừng lại và oxon (25g, 0,0406 mol) được cho thêm theo một phần. Bình phản ứng được đậy kín và huyền phù đặc được khuấy mạnh trong 15 phút trong khi vẫn được ngâm trong bể đá. Sau đó, bình cầu chứa huyền phù đặc của phản ứng được gắn với thiết bị làm bay hơi kiểu quay có bể ở nhiệt độ trong phòng. The bình cầu gia nhiệt (250ml) được làm lạnh trong bể đá khô/axeton và môi trường chân không 165 mtor được áp dụng via a benchtop máy bơm kiểu màng. Sau 15 phút, nhiệt độ bể được tăng lên 40°C trong 10 phút. Khi bể này đạt đến nhiệt độ 40°C, việc chưng cất được ngừng ngay lập tức bằng cách giải phóng môi trường chân không và lấy bình ra khỏi bể nước gia nhiệt. The dung dịch axeton màu vàng nhạt chứa DMDO được lắng gạn, từ bình cầu gia nhiệt trực tiếp vào graduated hình trụ để xác định tổng thể tích của dung dịch (khoảng 25ml) và sau đó dung dịch này được làm khô trên Na_2SO_4 .

Na_2SO_4 được loại bỏ bằng cách lọc và được rửa bằng 5ml axeton. Sau đó, việc chuẩn độ dung dịch DMDO thu được được thực hiện theo phương pháp của Adam và các đồng tác giả (Adam, W.; Chan, Y. Y.; Cremer, D.; Gauss, J.; Scheutzow, D.; Scheutzow, D.; Schindler, M. J. Org. Chem. 1987, 52, 2800–2803). Các kết quả

consistently cho thấy từ 2,1 đến 2,3mmol DMDO trong dung dịch. Dung dịch DMDO này được sử dụng ngay sau khi chuẩn độ.

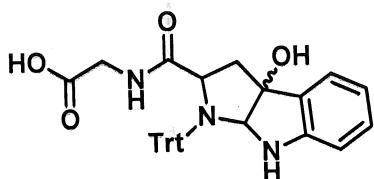
Ví dụ 4. Điều chế hợp chất methyl 2-(3a-hydroxy-1-trityl-1,2,3,3a,8,8a-hexahydro pyrolo[2,3-b]indol-2-carboxamido)axetat (có công thức 3)



3

Dung dịch chứa Trt-Trp-Gly-OMe (0,80g, 1,54mmol) trong metylen clorua (20ml) ở nhiệt độ -78°C được cho thêm dung dịch chứa DMDO trong axeton (2,25mmol). Sau 1 giờ, hỗn hợp này được cô đến khi khô dưới áp suất giảm ở nhiệt độ trong phòng. Chất thô được tinh chế bằng cách sắc ký cột (hexan/EtOAc/Et₃N với tỷ lệ từ 70:30:1 đến 30:70:1) để thu được bột xốp màu vàng nhạt, hỗn hợp chứa hai chất đồng phân không đối quang (0,58g, hiệu suất 70%). ESI MS m/z 534,22 ($[\text{M}+\text{H}]^{+}$).

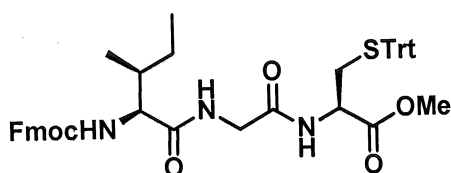
Ví dụ 5. Điều chế axit 2-(3a-hydroxy-1-trityl-1,2,3,3a,8,8a-hexahydropyrolo[2,3-b]indol-2-carboxamido)axetic (có công thức 4)



4

Dung dịch chứa Tr-Hpi-Gly-OMe (hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang) (0,80g, 1,50mmol) trong dioxan/nước (30ml, tỷ lệ theo thể tích 2:1) được cho thêm LiOH (0,63g, 15,0mmol) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút (sau khi việc sử dụng chất ban đầu được xác định bằng phương pháp TLC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1)). Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi đến khi khô và phần cặn được tinh chế bằng nút silicagel ngấn, rửa giải bằng $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{Et}_3\text{N}$ (90:10:1). Các phân đoạn được kết hợp để thu được chất rắn màu vàng nhạt là muối triethylamin của hai chất đồng phân không đối quang (0,89g, 95% hiệu suất).

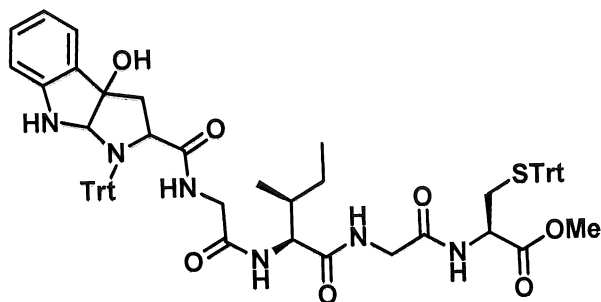
Ví dụ 6. Điều chế hợp chất (5*S*,11*R*)-methyl 5-((*S*)-sec-butyl)-1-(9H-floren-9-yl)-3,6,9-trioxo-11-((tritylthio)methyl)-2-oxa-4,7,10-triazadodecan-12-oat (có công thức 5)



5

Dung dịch chứa Fmoc-Ile-Gly-OH (2,50g, 6,09mmol), H-Cys(Trt)-OMe (2,76g, 7,30mmol), HOBt (1,11g, 7,30mmol) trong THF (40ml) được cho thêm DIPEA (2,6ml, 15,3mmol) ở nhiệt độ 0°C, sau đó cho thêm từng phần EDC·HCl (1,40g, 7,30mmol). Hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng này được cô đến khi khô và được pha loãng bằng ethyl axetat và rửa bằng axit xitric 5% (3 ×), NaHCO₃ bão hoà (3 ×) và nước muối. Pha hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và cô. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột (0-20% ethyl axetat/hexan) để thu được chất rắn màu trắng (4,45g, hiệu suất 95%). ESI MS m/z 770,2 ([M+H]⁺).

Ví dụ 7. Điều chế hợp chất (6*S*,12*R*)-metyl 6-((*S*)-sec-butyl)-1-(3a-hydroxy-1-trityl-1,2,3,3a,8,8a-hexahydropyrol[2,3-*b*]indol-2-yl)-1,4,7,10-tetraoxo-12-((tritylthio)metyl)-2,5,8,11-tetraazatridecan-13-oat (có công thức 6)

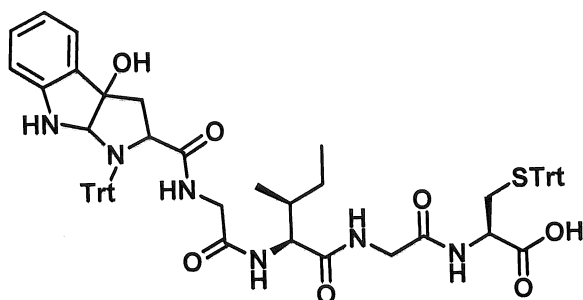


6

Fmoc-Ile-Gly-Cys(Trt)-OMe (4,45g, 5,78mmol) được trộn với piperidin/DMF (20%, 10ml) và được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng diclometan (50ml) và được rửa bằng nước và nước muối. Pha hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và cô. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột (0-10% MeOH/CH₂Cl₂ cùng với Et₃N 1%) để thu được chất rắn màu trắng (3,12g, hiệu suất 99%). ESI MS m/z 548,2 ([M+H]⁺).

Chất rắn trên đây (1,04g, 1,90mmol) được trộn với Trt-Hpi-Gly-OH·NEt₃ (0,98g, 1,58mmol) trong CH₂Cl₂ (10ml), HOBt (0,29g, 1,90mmol) được cho thêm vào và DIPEA (0,7ml, 4,00mmol) được cho thêm ở nhiệt độ 0°C. EDC·HCl (0,36g, 1,90mmol) được cho thêm cuối cùng theo từng phần. Hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy trong 16 giờ và sau đó được pha loãng bằng ethyl axetat và rửa bằng axit xitric 5% (3 ×), NaHCO₃ bão hoà (3 ×) và nước muối. Pha hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và cô. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột (20-70% ethyl axetat/hexan) để thu được chất rắn màu trắng (0,75g, hiệu suất 45%). ESI MS m/z 1049,4 ([M+H]⁺).

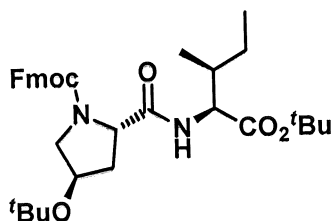
Ví dụ 8. Điều chế axit (6*S*,12*R*)-6-((*S*)-sec-butyl)-1-(3a-hydroxy-1-trityl-1,2,3,3a,8,8a-hexahydropyrido[2,3-*b*]indol-2-yl)-1,4,7,10-tetraoxo-12-((tritylthio)methyl)-2,5,8,11-tetraazatridecan-13-oic (có công thức 7)



7

Trt-Hpi-Gly-Ile-Gly-Cys(Trt)-OMe (0,75g, 0,71mmol) được hòa tan trong dioxan/nước (tỷ lệ theo thể tích là 2:1, 30ml) và được xử lý bằng LiOH·H₂O (0,30g, 7,1mmol) ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi đến khi khô và phần cặn được tinh chế bằng nút silicagel ngắn, rửa giải bằng CH₂Cl₂/MeOH/Et₃N (90:10:1). Các phân đoạn được kết hợp để thu được chất rắn màu trắng là muối triethylamin của Trt-Hpi-Gly-Ile-Gly-Cys(Trt)-OH (0,77g, hiệu suất 95%).

Ví dụ 9. Điều chế hợp chất (2*S*,4*R*)-(9H-floren-9-yl)methyl 4-(*tert*-butoxy)-2-(((2*S*,3*S*)-1-(*tert*-butoxy)-3-methyl-1-oxopentan-2-yl)carbamoyl)pyrrolidin-1-carboxylat (có công thức 8)

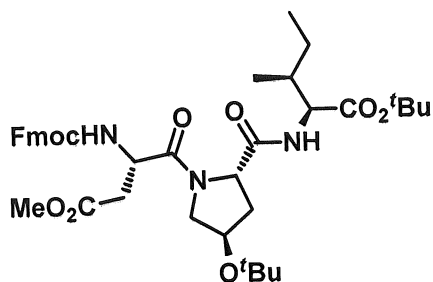


8

Dung dịch chứa Fmoc-Pro(O^tBu)-OH (2,50g, 6,10mmol), H-Ile-O^tBu (1,37g, 7,32mmol), HOBt (1,12g, 7,32mmol) trong THF (40ml) được cho thêm DIPEA (2,6ml, 15,3mmol) ở nhiệt độ 0°C, tiếp đó cho thêm từng phần EDC·HCl (1,40g, 7,32mmol). Hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 16 giờ. Sau khi cô, phần cặn được pha loãng bằng etyl axetat và rửa bằng axit xitric 5% (3 ×), NaHCO₃ bão hòa (3 ×) và nước muối. Pha hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và cô. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột (0-20% etyl axetat/hexan) để thu được chất rắn màu trắng (2,55g, hiệu suất 85%). ESI MS *m/z* 579,3 ([M+H]⁺).

Ví dụ 10. Điều chế hợp chất (2*S*,3*S*)-*tert*-butyl 2-((2*S*,4*R*)-1-((*S*)-2-(((9H-

floren- 9-yl)metoxy)cacbonyl)amino)-4-metoxy-4-oxobutanoyl)-4-(tert-butoxy)pyrrolidin-2-carboxamido)-3-methylpentanoat (có công thức 9)

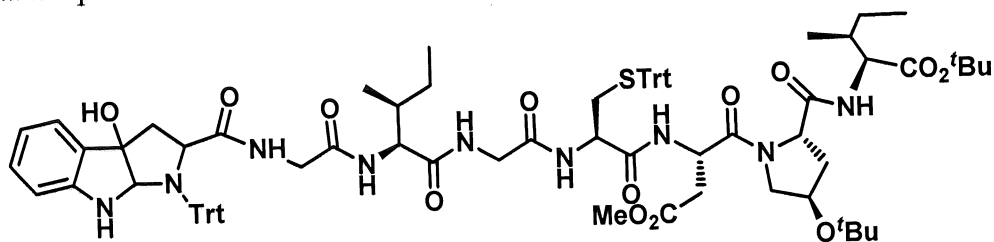


9

Fmoc-Pro(O'tBu)-Ile-O'tBu (2,55g, 4,40mmol) được xử lý bằng piperidin 20% trong DMF (20ml) trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được cô và tinh chế bằng cách sắc ký cột (0-10% MeOH/CH₂Cl₂ cùng với Et₃N 1%) để thu được chất rắn màu trắng (1,41g, hiệu suất 90%). ESI MS m/z 357,2 ([M+H]⁺).

Chất rắn trên đây (1,41g, 3,96mmol) được trộn với Fmoc-Asp(OMe)-OH (1,22g, 3,30mmol) trong DMF (20ml), HOBt (0,61g, 3,96mmol) và DIPEA (1,4ml, 8,25mmol) được cho thêm hỗn hợp này ở nhiệt độ 0°C. EDC·HCl (0,76g, 3,96mmol) được cho thêm cuối cùng theo từng phần. Hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 16 giờ và sau đó được pha loãng bằng etyl axetat và rửa bằng H₂O, axit xitric 5% (3 ×), NaHCO₃ bão hoà (3 ×) và nước muối. Pha hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và cô. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột (20-70% etyl axetat/hexan) để thu được chất rắn màu trắng (1,78g, hiệu suất 76%). ESI MS m/z 708,4 ([M+H]⁺).

Ví dụ 11. Điều chế hợp chất ((6*S*,12*R*,15*S*)-metyl 15-((2*S*,4*R*)-4- (tert-butoxy)-2-(((2*S*,3*S*)-1-(tert-butoxy)-3-metyl-1-oxopentan-2-yl)carbonyl)pyrrolidin-1-cacbonyl)-6-((*S*)-sec-butyl)-1-(3a-hydroxy-1-trityl-1,2,3,3a,8,8a-hexahydropyrrolo[2,3-b]indol-2-yl)-1,4,7,10,13-pentaoxo-12-((tritylthio)metyl)-2,5,8,11,14-pentaazaheptadecan-17-oat (có công thức 10)



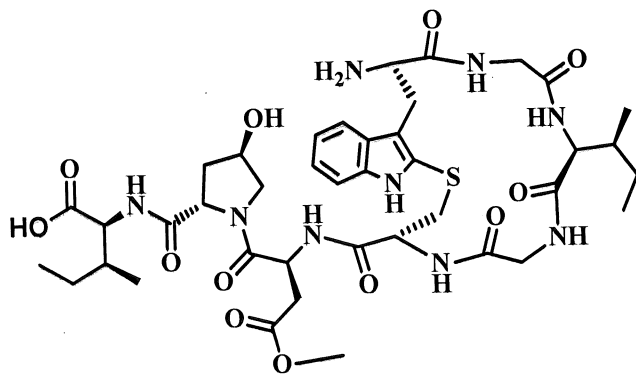
10

Fmoc-Asp(OMe)-Pro(O'tBu)-Ile-O'tBu (0,59g, 0,90mmol) được trộn với piperidin/DMF (20%, 10ml) và được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng diclometan (50ml) và được rửa bằng nước và

nước muối. Pha hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và cô. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột (0-10% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ cùng với Et_3N 1%) để thu được chất rắn màu trắng (0,43g, hiệu suất 99%). ESI MS m/z 486,6 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

Chất rắn trên đây (0,43g, 0,89mmol) được trộn với Trt-Hpi-Gly-Ile-Gly-Cys(Trt)-OH· NEt_3 (0,77g, 0,67mmol) trong CH_2Cl_2 (5ml), HOBT (0,12g, 0,80mmol) và DIPEA (0,33ml, 1,88mmol) được cho thêm vào hỗn hợp này ở nhiệt độ 0°C . EDC·HCl (0,15g, 0,80mmol) được cho thêm cuối cùng theo từng phần. Hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 18 giờ và sau đó được pha loãng bằng ethyl axetat và rửa bằng axit xitric 5% (3 ×), NaHCO_3 bão hoà (3 ×) và nước muối. Pha hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và cô. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột (30-80% ethyl axetat/hexan) để thu được chất rắn màu trắng (0,50g, hiệu suất 50%). ESI MS m/z 1502,7 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

Ví dụ 12. Điều chế axit (2*S*,3*S*)-2-((2*S*,4*R*)-1-((*S*)-2-((3*R*,9*S*,15*S*)-15-amino -9-((*S*)-sec-butyl)-5,8,11,14-tetraoxo-2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,21-hexadecahydro-[1,4,7,10,13]thiatetraazacyclooctadecino[18,17-*b*]indol-3-carboxamido)-4-methoxy-4-oxobutanoyl)-4-hydroxypyrolidin-2-carboxamido)-3-methylpentanoic (có công thức 11)



11

Trt-Hpi-Gly-Ile-Gly-Cys(Trt)-Asp(OMe)-Pro(O^tBu)-Ile-O^tBu (0,50g, 0,33mmol) được xử lý bằng TFA tinh khiết ở nhiệt độ trong phòng trong 5 giờ. Metanol được cho thêm và hỗn hợp phản ứng được cô. Quá trình này được lặp lại hai lần và phần cặn được tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$) để thu được chất rắn màu trắng (99,6mg, hiệu suất 34%).

Fmoc-Ile-OH được gắn trên nhựa 2-clotrityl clorua theo quy trình sau:

Fmoc-Ile-OH (0,35g, 1,0mmol) và DIPEA (0,70ml, 4,0mmol) được hòa tan trong dry metylen clorua (10ml). Dung dịch tạo thành được cho thêm to clotrityl nhựa

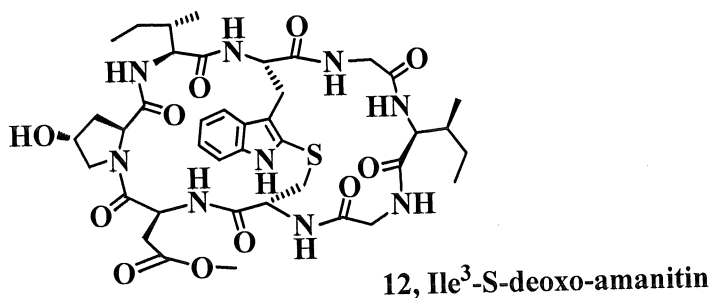
(1,0g, 0,911mmol/g, GL Biochem) và hỗn hợp này được lắc trong môi trường nitơ trong 1,5 giờ. Sau đó metanol (2ml) được cho thêm và tiếp tục lắc trong 30 phút. Chất lỏng được tháo cạn trong chân không và nhựa được rửa bằng metylen clorua (15ml), DMF (10ml) và metanol (10ml) và được làm khô trong chân không.

Công đoạn kết hợp được thực hiện theo quy trình sau:

Nhựa được cho vào cột và trương nở trong DMF (10ml) trong 30 phút. Dung môi được tháo cạn trong chân không và nhóm bảo vệ Fmoc ở đầu tận cùng N được tách ra bằng cách lắc với piperidin 20% trong DMF trong 30 phút. Sau khi khử bảo vệ, nhựa được rửa bằng DMF ($3 \times 10\text{ml}$), sau đó rửa bằng CH_2Cl_2 ($3 \times 10\text{ml}$) và rửa lại bằng DMF ($3 \times 10\text{ml}$). Axit amin được bảo vệ Fmoc tiếp (Fmoc-Xaa-OH, 5 đương lượng) được liên hợp với nhựa có chất phản ứng kết hợp HBTU (5 đương lượng) và DIPEA (10 đương lượng) trong DMF (10ml) kèm theo lắc trong 2 giờ. Sau đó, nhựa được rửa bằng lượng DMF dư ($3 \times 10\text{ml}$), sau đó rửa bằng CH_2Cl_2 ($3 \times 10\text{ml}$) và DMF ($3 \times 10\text{ml}$). Lấy mẫu nhỏ và xử lý mẫu này bằng hexafloisopropanol (HFIP) trong CH_2Cl_2 trong 5 phút để phân giải peptit ra khỏi nhựa và được kiểm tra bằng phương pháp phân tích phổ khối lượng. Trong trường hợp kết hợp axit amin không có sẵn trên thị trường, như Trt-Hpi-Gly-OH, sử dụng đương lượng ít hơn (3 đương lượng) và thời gian lâu hơn (3 giờ).

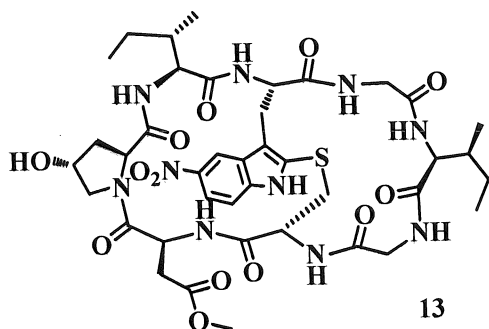
Khi toàn bộ các bước kết hợp được hoàn thành, peptit đã gắn kết với nhựa được chuyển vào bình đáy tròn và TFA (10ml) được thêm vào và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 5 giờ. Các nhóm bảo vệ không bền với axit được loại bỏ đồng thời trong khi xử lý bằng TFA. Nhựa được lọc và rửa bằng CH_2Cl_2 (10ml) và metanol (10ml). Phần nước lọc được cô và phân bố giữa nước và etyl axetat. Lốp nước được tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$) để thu được octapeptit có một vòng dưới dạng chất rắn màu trắng (40,3mg, hiệu suất 5%). ESI MS m/z 888,38 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

Ví dụ 13. Điều chế hợp chất Ile³-S-deoxo-amanitin (có công thức 12)



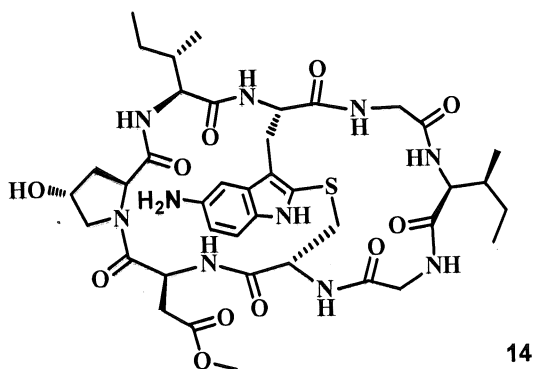
Dung dịch chứa octapeptit có một vòng (25,7mg, 0,0289mmol) trong DMF khô (5ml) được cho thêm EDC·HCl (27,7mg, 0,145mmol), HOBT (39,0mg, 0,289mmol) và DIPEA (0,025ml, 0,145mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 20 giờ và sau đó được cô và tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế (H₂O/MeCN) để thu được hợp chất có công thức **12** dưới dạng chất rắn màu trắng (9,0mg, hiệu suất 36%). ESI MS *m/z* 870,40 ([M+H]⁺).

Ví dụ 14. Điều chế hợp chất có công thức **13**



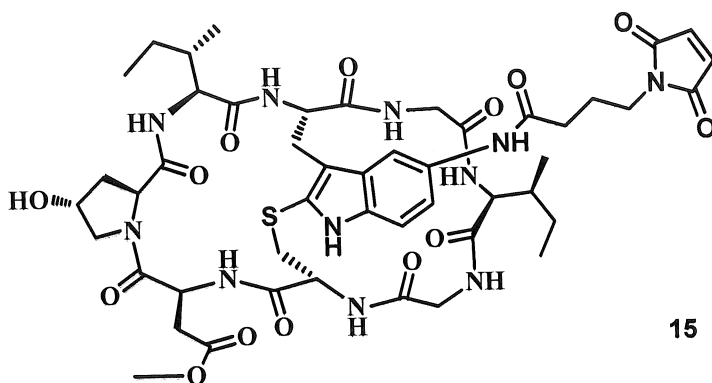
Dung dịch chứa hợp chất có công thức **12** (5,0mg, 0,00575mmol, 1,0 đương lượng) trong THF (1ml) được cho thêm *t*-BuONO (7μl, 0,0575mmol) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1 giờ, sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 20 giờ. Sau khi nước (5ml) được thêm vào, hỗn hợp phản ứng được cô và tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế (H₂O/MeCN) để thu được chất rắn màu trắng (2,6mg, hiệu suất 50%). ESI MS *m/z* 915,38 ([M+H]⁺).

Ví dụ 15. Điều chế hợp chất có công thức **14**



Hỗn hợp chứa hợp chất nitro (2,6mg, 0,00284mmol) và Pd/C (10% trọng lượng, 10 mg) trong metanol (2ml) được hydro hóa (1at (100 kPa) H₂) ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ, và sau đó được lọc qua xelit (thiết bị trợ lọc). Phần nước lọc được cô để thu được chất rắn màu trắng (2,5mg, hiệu suất 99%). ESI MS *m/z* 885,38 ([M+H]⁺).

Ví dụ 16. Điều chế hợp chất có công thức **15**



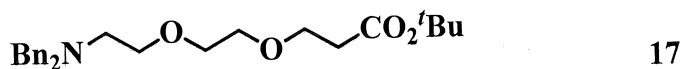
Dung dịch chứa hợp chất có công thức **14** (2,5mg, 0,00283mmol) và axit 4-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-yl)butanoic (2,6mg, 0,0141mmol) trong DMF khô (1ml) được cho thêm HATU (5,4mg, 0,0141mmol) và DIPEA (0,05ml, 0,283mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 20 giờ và sau đó được pha loãng bằng etyl axetat và rửa bằng nước muối. Pha hữu cơ được cô và tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế (H₂O/MeCN) để thu được hợp chất Ile³-S-deoxo-amanitin dưới dạng chất rắn màu trắng (1,7mg, hiệu suất 56%). ESI MS m/z 1050,41 ([M+H]⁺).

Ví dụ 17. Điều chế hợp chất 2-(2-(dibenzylamino)etoxy)etanol (có công thức **16**)



2-(2-aminoetoxy)etanol (21,00g, 200mmol, 1,0 đương lượng) và K₂CO₃ (83,00g, 600mmol, 3,0 đương lượng) trong axetonitril (350ml) được cho thêm BnBr (57,0ml, 480mmol, 2,4 đương lượng). Hỗn hợp này được đun hồi lưu qua đêm. Nước (1 lít) được thêm vào và hỗn hợp này được chiết bằng EtOAc (3 × 300ml). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (1000ml), làm khô bằng Na₂SO₄ khan, được lọc, cô và tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột trên SiO₂ (4:1 hexan/ EtOAc) để thu được dầu không màu (50,97g, hiệu suất 89,2%). MS ESI m/z [M + Na]⁺ 309,1967.

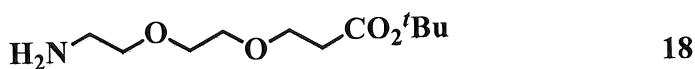
Ví dụ 18. Điều chế hợp chất *tert*-butyl 3-(2-(2-(dibenzylamino)etoxy)etoxy)propanoat (có công thức **17**)



Hỗn hợp chứa 2-(2-(dibenzylamino)etoxy)etanol (47,17g, 165,3mmol, 1,0 đương lượng), *tert*-butyl acrylat (72,0ml, 495,9mmol, 3,0 đương lượng) và *n*-Bu₄NI (6,10g, 16,53mmol, 0,1 đương lượng) trong DCM (560ml) được cho thêm dung dịch natri hydroxit (300ml, 50%). Hỗn hợp này được khuấy qua đêm. Lớp hữu cơ được tách ra

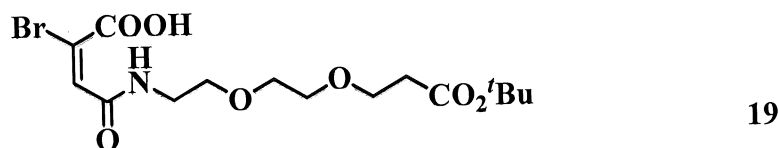
và lớp nước được chiết bằng EtOAc ($3 \times 100\text{ml}$). Các lớp hữu cơ được rửa bằng nước ($3 \times 300\text{ml}$) và nước muối (300ml), làm khô bằng Na_2SO_4 khan, được lọc, cô và tinh chế bằng SiO_2 phương pháp sắc ký cột (7:1 hexan/ EtOAc) để thu được dầu không màu (61,08g, hiệu suất 89,4%). MS ESI m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ 414,2384.

Ví dụ 19. Điều chế hợp chất *tert*-butyl 3-(2-(2-aminoethoxy)ethoxy)propanoat (có công thức 18)



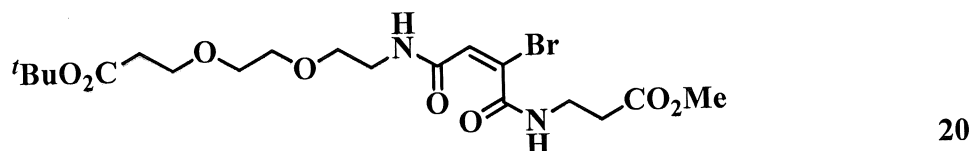
Dung dịch chứa *tert*-butyl 3-(2-(2-(dibenzylamino)ethoxy)ethoxy) propanoat (20,00g, 48,36mmol, 1,0 đương lượng) trong THF (30ml) và MeOH (60ml) được cho thêm Pd/C (2,00g, 10% trọng lượng, 50% chất ướt) trong chai hydro hóa. Hỗn hợp này được lắc qua đêm, lọc qua xelit (thiết bị trợ lọc), và phần nước lọc được cô để thu được dầu không màu (10,58g, hiệu suất 93,8%). MS ESI m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ 234,1810.

Ví dụ 20. Điều chế axit (*E*)-16-bromo-2,2-dimetyl-4,14-dioxo-3,7,10-trioxa-13-azaheptadec-15-en-17-oic (có công thức 19)



Dung dịch chứa 3-bromofuran-2,5-dion (89mg, 0,5mmol) trong THF (5ml) được cho thêm *tert*-butyl 3-(2-(2-aminoethoxy)ethoxy)propanoat (117mg, 0,5mmol). Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 4 giờ. Dung môi được loại bỏ trong chân không để thu được hợp chất có công thức 19 (205mg, hiệu suất theo lý thuyết). MS ESI m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ 410,03.

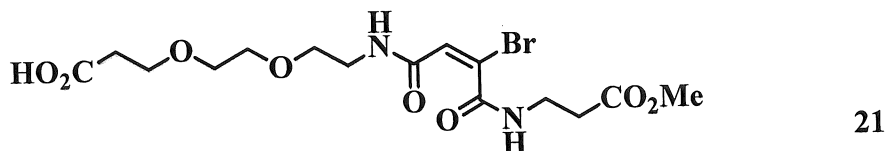
Ví dụ 21. Điều chế hợp chất (*E*)-1-*tert*-butyl 18-metyl 13-bromo-11,14-dioxo-4,7-dioxa-10,15-diazaoctadec-12-en-1,18-dioat (có công thức 20)



Hợp chất có công thức 19 (205mg, 0,5mmol) và methyl 3-aminopropanoat hydroclorua (70mg, 0,5mmol) được hòa tan trong DCM (20ml), hỗn hợp này được cho thêm DIPEA (0,26ml, 1,5mmol) và EDC·HCl (144mg, 0,75mmol). Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm, và sau đó được rửa bằng nước muối (50ml), làm khô bằng Na_2SO_4 khan. Cô và tinh chế bằng cách sắc ký cột (0-

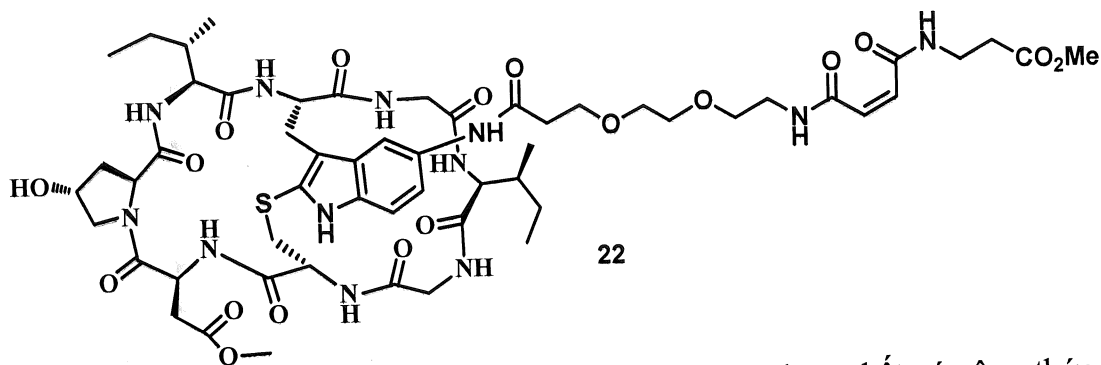
10% MeOH/DCM) thu được hợp chất có công thức **20** (88mg, hiệu suất 36%). MS ESI m/z $[M+H]^+$ 495,25.

Ví dụ 22. Điều chế axit (*E*)-8-bromo-3,7,10-trioxo-2,14,17-trioxa-6,11-điazaicos-8-en-20-oic (có công thức **21**)



Hợp chất có công thức **20** (88mg, 0,18mmol) trong DCM (3ml) được xử lý bằng axit formic (6ml) ở nhiệt độ 38°C qua đêm. Tất cả các chất dễ bay hơi được loại bỏ trong chân không để thu được hợp chất có công thức **21** (78mg, hiệu suất theo lý thuyết).

Ví dụ 23. Điều chế hợp chất có công thức 22



Hợp chất có công thức **14** (2,0mg, 0,00226mmol) và hợp chất có công thức **21** (5,0mg, 0,0113mmol) được hòa tan trong DMF (1ml), hỗn hợp này được cho thêm HATU (4,3mg, 0,0113mmol) và DIPEA (2,0μl, 0,0113mmol). Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, pha loãng bằng etyl axetat và sau đó được rửa bằng nước muối, làm khô bằng Na₂SO₄ khan. Cô và tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế (H₂O/MeCN) thu được chất rắn màu trắng (1,2mg, hiệu suất 44%). MS ESI m/z [M+H]⁺ 1227,50.

Ví dụ 24. Điều chế axit 4-(((benzyloxy)carbonyl)amino)butanoic (có công thức 23)



Dung dịch chứa axit 4-aminobutyric (7,5g, 75mmol) và NaOH (6g, 150mmol) trong H₂O (40ml) được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C và được xử lý bằng cách cho thêm nhỏ giọt dung dịch chứa CbzCl (16,1g, 95mmol) trong THF (32ml). Sau 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được để ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy trong 3 giờ. THF

được loại bỏ trong chân không, độ pH của dung dịch nước được điều chỉnh đến 1,5 bằng cách cho thêm HCl 6N. Được chiết bằng ethyl axetat, và lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối, được làm khô và cô để thu được hợp chất có công thức **23** (16,4g, hiệu suất 92%). MS ESI m/z $[M+H]^+$ 238,08.

Ví dụ 25. Điều chế hợp chất *tert*-butyl 4-(((benzyloxy)carbonyl)amino)butanoat (có công thức **24**)



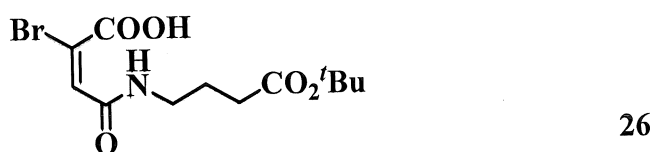
Cho DMAP (0,8g, 6,56mmol) và DCC (17,1g, 83mmol) vào dung dịch chứa axit 4-(((benzyloxy)carbonyl)amino)butanoic (16,4g, 69,2mmol) và *t*-BuOH (15,4g, 208mmol) trong DCM (100ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, hỗn hợp phản ứng được lọc và phần nước lọc được cô. Phần cặn được hòa tan trong ethyl axetat và rửa bằng HCl 1N, nước muối và làm khô bằng Na₂SO₄. Cô và tinh chế bằng cách sắc ký cột (10 - 50% EtOAc/hexan) thu được hợp chất có công thức **24** (7,5g, hiệu suất 37%). MS ESI m/z $[M+Na]^+$ 316,13.

Ví dụ 26. Điều chế hợp chất *tert*-butyl 4-aminobutanoat (có công thức **25**)



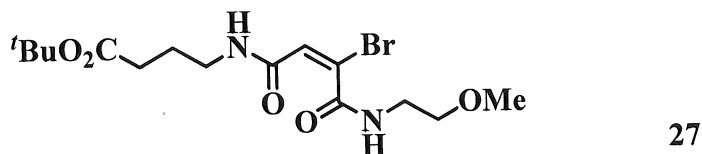
Hòa tan *tert*-butyl 4-(((benzyloxy)carbonyl)amino)butanoat (560mg, 1,91mmol) trong MeOH (50ml), và hỗn hợp này được trộn với chất xúc tác Pd/C (10% trọng lượng, 100mg), sau đó được hydro hóa (1 at (100 kPa)) ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Chất xúc tác được lọc bỏ và tất cả các chất dễ bay hơi được loại bỏ trong chân không để thu được hợp chất có công thức **25** (272mg, hiệu suất 90%). MS ESI m/z $[M+H]^+$ 160,13.

Ví dụ 27. Điều chế axit (*E*)-2-bromo-4-((4-(*tert*-butoxy)-4-oxobutyl)amino) -4-oxobut-2-enoic (có công thức **26**)



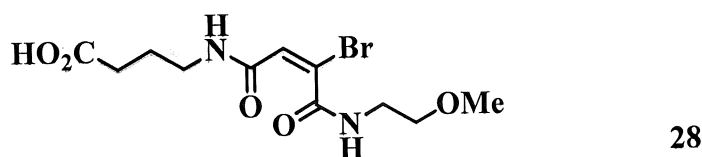
Hòa tan 3-bromofuran-2,5-dion (300mg, 1,71mmol) trong THF (20ml), hỗn hợp này được cho thêm *tert*-butyl 4-aminobutanoat (272mg, 1,71mmol) và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Dung môi được loại bỏ trong chân không để thu được hợp chất có công thức **26** (572mg, hiệu suất theo lý thuyết). MS ESI m/z $[M+H]^+$ 338,04.

Ví dụ 28. Điều chế hợp chất (*E*)-*tert*-butyl 4-(3-bromo-4-((2-metoxyletyl)amino)-4-oxobut-2-enamido)butanoat (có công thức 27)



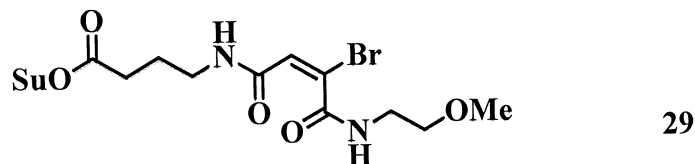
Hòa tan axit 2-bromo-4-((4-(*tert*-butoxy)-4-oxobutyl)amino)-4-oxobut-2-enoic (286mg, 0,85mmol) và 2-metoxyletanamin (128mg, 1,7mmol) trong DCM (40ml), hỗn hợp này được cho thêm DIPEA (329mg, 2,55mmol) và EDC·HCl (490mg, 2,55mmol). Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ và sau đó được rửa bằng nước muối, làm khô bằng Na₂SO₄. Cô và tinh chế bằng cách sắc ký cột (0 - 10% MeOH/DCM) thu được hợp chất có công thức 27 (102mg, 31% hiệu suất). MS ESI m/z [M+H]⁺ 393,11.

Ví dụ 29. Điều chế axit (*E*)-4-(3-bromo-4-((2-metoxyletyl)amino)-4-oxobut-2-enamido)butanoic (có công thức 28)



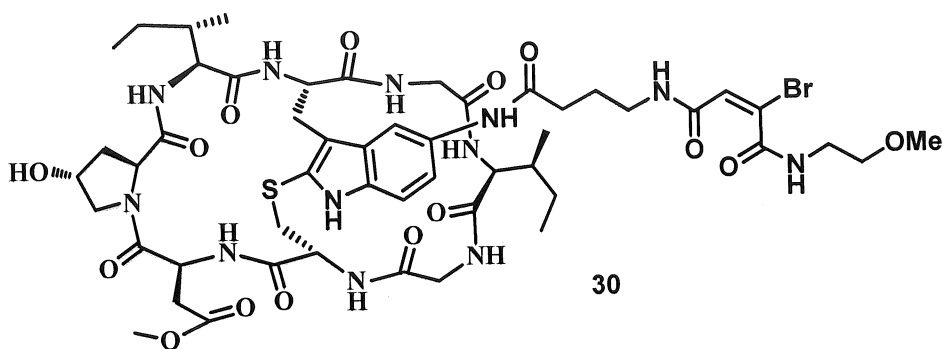
Hòa tan hợp chất có công thức 27 (52mg, 0,132mmol) trong DCM (3ml), hỗn hợp này được cho thêm axit formic (6ml). Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 38°C qua đêm, sau đó được cô để thu được hợp chất có công thức 28 (45mg, hiệu suất theo lý thuyết). MS ESI m/z [M+H]⁺ 339,05.

Ví dụ 30. Điều chế hợp chất (*E*)-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl 4-(3-bromo-4-((2-metoxyletyl)amino)-4-oxobut-2-enamido)butanoat (có công thức 29)



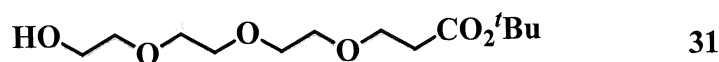
Dung dịch chứa hợp chất có công thức 28 (45mg, 0,132mmol) trong DCM (10ml) được cho thêm NHS (23mg, 0,199mmol) và EDC·HCl (38mg, 0,199mmol). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô và tinh chế bằng cách sắc ký cột (10 - 50% EtOAc/hexan) để thu được hợp chất có công thức 29 (57mg, hiệu suất 99%). MS ESI m/z [M+H]⁺ 436,06.

Ví dụ 31. Điều chế hợp chất có công thức 30



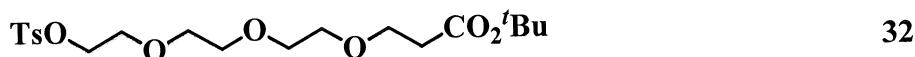
Dung dịch chứa hợp chất có công thức **14** (2,0mg, 0,00226mmol) trong ethanol (1ml) và dung dịch đệm phosphat (độ pH = 7,2, 1ml) được cho thêm hợp chất có công thức **29** (4,9mg, 0,0113mmol) trong ethanol (1ml) trong 30 phút. Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô và tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế (H₂O/MeCN) để thu được hợp chất có công thức **30** (2,7mg, hiệu suất 30%). MS ESI m/z [M+H]⁺ 1203,40.

Ví dụ 32. Điều chế hợp chất *tert*-butyl 3-(2-(2-(2-hydroxyetoxy)etoxy)etoxy)propanoat (có công thức **31**)



Dung dịch chứa 2,2'-(etan-1,2-diylbis(oxy))dietanol (55,0ml, 410,75mmol, 3,0 đương lượng) trong THF khan (200ml) được cho thêm natri (0,1g). Hỗn hợp này được khuấy cho đến khi không còn Na và sau đó *tert*-butyl acrylat (20,0ml, 137,79mmol, 1,0 đương lượng) được cho thêm nhògiọt. Hỗn hợp này được khuấy qua đêm và sau đó được tôi bằng dung dịch HCl (20,0ml, 1N) ở nhiệt độ 0°C. THF được loại bỏ bằng cách làm bay hơi kiểu quay, nước muối (300ml) được thêm vào và hỗn hợp thu được được chiết bằng EtOAc (3 × 100ml). Các lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối (3 × 300ml), làm khô bằng Na₂SO₄ khan, được lọc và cô để thu được dầu không màu (30,20g, hiệu suất 79,0%), sản phẩm này được sử dụng tiếp mà không cần tinh chế thêm. MS ESI m/z [M + H]⁺ 278,17.

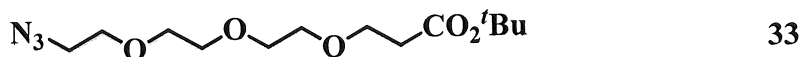
Ví dụ 33. Điều chế hợp chất *tert*-butyl 3-(2-(2-(2-(tosyloxy)etoxy)etoxy)etoxy)propanoat (có công thức **32**)



Dung dịch chứa *tert*-butyl 3-(2-(2-(2-hydroxyetoxy)etoxy)etoxy) propanoat (30,20g, 108,5mmol, 1,0 đương lượng) và TsCl (41,37g, 217,0mmol, 2,0 đương lượng) trong DCM khan (220ml) ở nhiệt độ 0°C được cho thêm TEA (30,0ml,

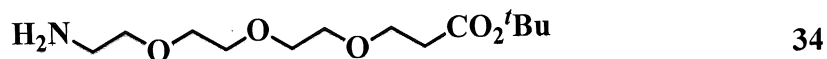
217,0mmol, 2,0 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, và sau đó được rửa bằng nước (3 × 300ml) và nước muối (300ml), làm khô bằng Na₂SO₄ khan, được lọc, cô và tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột trên SiO₂ (3:1 hexan/ EtOAc) để thu được dầu không màu (39,4g, hiệu suất 84,0%). MS ESI m/z [M + H]⁺ 433,28.

Ví dụ 34. Điều chế hợp chất *tert*-butyl 3-(2-(2-(2-azidoetoxy)etoxy)etoxy) propanoat (có công thức 33)



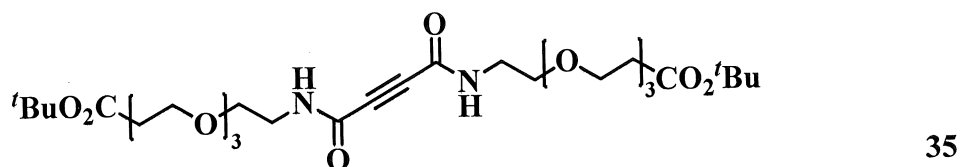
Dung dịch chứa *tert*-butyl 3-(2-(2-(2-(tosyloxy)etoxy)etoxy)etoxy) propanoat (39,4g, 91,1mmol, 1,0 đương lượng) trong DMF khan (100ml) được cho thêm NaN₃ (20,67g, 316,6mmol, 3,5 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Nước (500ml) được thêm vào và hỗn hợp được chiết bằng EtOAc (3 × 300ml). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước (3 × 900ml) và nước muối (900ml), làm khô bằng Na₂SO₄ khan, được lọc, cô và tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột trên SiO₂ (5:1 hexan/ EtOAc) để thu được dầu màu vàng nhạt (23,8g, hiệu suất 85,5%). MS ESI m/z [M + Na]⁺ 326,20.

Ví dụ 35. Điều chế hợp chất *tert*-butyl 3-(2-(2-(2-aminoetoxy)etoxy)etoxy) propanoat (có công thức 34)



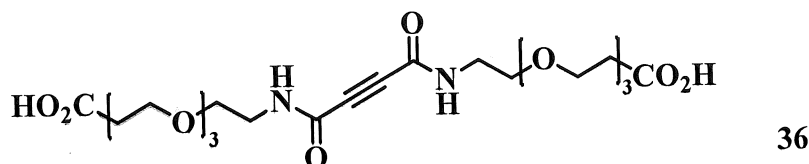
Raney-Ni (7,5g, được tạo huyền phù trong nước) được rửa bằng nước (ba lần) và rượu isopropylic (ba lần) và hỗn hợp này được trộn với hợp chất có công thức 33 (5,0g, 16,5mmol) trong rượu isopropylic. Hỗn hợp này được khuấy trong bình cầu H₂ ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ và sau đó được lọc qua tấm xelit, và rửa tấm này bằng rượu isopropylic. Phần nước lọc được cô và tinh chế bằng cách sắc ký cột (5-25% MeOH/DCM) để thu được dầu màu vàng nhạt (2,60g, hiệu suất 57%). MS ESI m/z [M+H]⁺ 279,19.

Ví dụ 36. Điều chế hợp chất di-*tert*-butyl 14,17-dioxo-4,7,10,21,24,27-hexaoxa-13,18-diazatriacont-15-yn-1,30-dioat (có công thức 35)



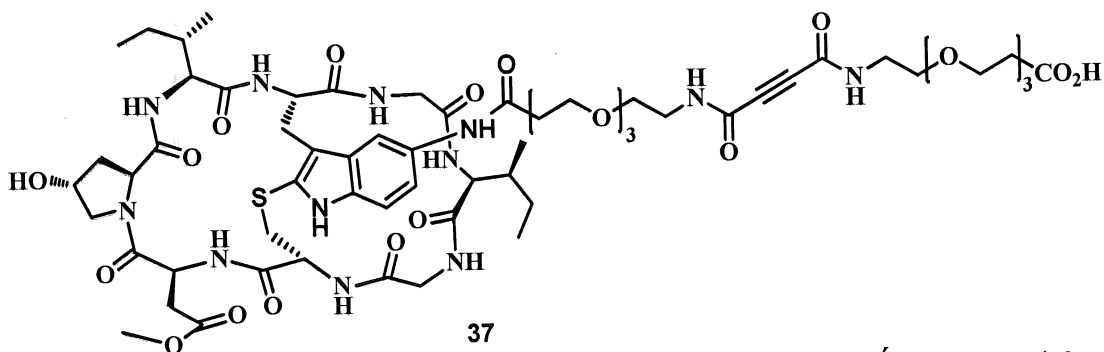
Hòa tan axit axetylendicarboxylic (0,35g, 3,09mmol, 1,0 đương lượng) trong NMP (10ml) và hỗn hợp được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C, hỗn hợp tạo thành được cho thêm hợp chất có công thức **34** (2,06g, 7,43mmol, 2,4 đương lượng), sau đó cho thêm từng phần DMTMM (2,39g, 8,65mmol, 2,8 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 6 giờ và sau đó được pha loãng bằng etyl axetat và rửa bằng nước và nước muối. Dung dịch hữu cơ được cô và nghiền thành bột với dung môi hỗn hợp chứa etyl axetat và ete dầu mỏ. Chất rắn được lọc bỏ và phần nước lọc được cô và tinh chế bằng cách sắc ký cột (80-90% EA/PE) để thu được dầu màu vàng nhạt (2,26g, hiệu suất >100%), dầu này được sử dụng tiếp mà không cần tinh chế thêm. MS ESI m/z $[M+H]^+$ 633,30.

Ví dụ 37. Điều chế axit 14,17-dioxo-4,7,10,21,24,27-hexaoxa-13,18-điaza triacont-15-yne-1,30-dioic (có công thức **36**)



Hòa tan hợp chất có công thức **35** (2,26g) trong diclometan (15ml) và hỗn hợp này được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C, sau đó được xử lý bằng TFA (15ml). Hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 45 phút, và sau đó dung môi và lượng TFA dư được loại bỏ trên thiết bị làm bay hơi kiểu quay. Sản phẩm thô được tinh chế bằng cách sắc ký cột (0-15% MeOH/DCM) để thu được dầu màu vàng nhạt (1,39g, hiệu suất 86% theo hai bước). MS ESI m/z $[M+H]^+$ 521,24.

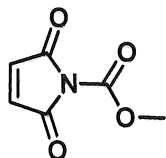
Ví dụ 38. Điều chế hợp chất có công thức **37**



Hợp chất có công thức **14** (2,0mg, 0,00226mmol) và hợp chất có công thức **36** (5,9mg, 0,0113mmol) được hòa tan trong DMF (1ml), hỗn hợp này được cho thêm HATU (4,3mg, 0,0113mmol) và DIPEA (2,0μl, 0,0113mmol). Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, và sau đó được cô và tinh chế bằng

phương pháp HPLC điều chế ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$) để thu được chất rắn màu trắng (0,94mg, hiệu suất 30%). MS ESI m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1387,50.

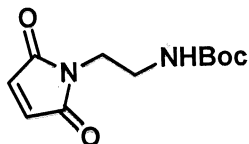
Ví dụ 39. Điều chế hợp chất methyl 2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-carboxylat (có công thức 38)



38

Dung dịch chứa maleimit (6,35g, 65,4mmol) trong etyl axetat (120ml) ở nhiệt độ 0°C được cho thêm NMM (8,6ml, 78,5mmol), sau đó cho thêm methyl clorofomat (6,0ml, 78,5mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 30 phút và ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Chất rắn được lọc bỏ và phần nước lọc được cô. Phần cặn được hòa tan trong metylen clorua và được lọc qua nút silicagel và rửa giải bằng metylen clorua để loại bỏ màu đỏ. Sau khi cô, chất rắn được nghiền với etyl axetat và ete dầu mỏ để thu được chất rắn màu trắng (9,0g, hiệu suất 88%).

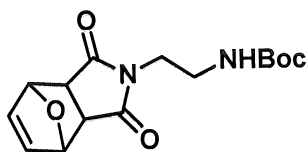
Ví dụ 40. Điều chế hợp chất *tert*-butyl (2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-yl) ethyl)carbammat (có công thức 39)



39

Hỗn hợp chứa *tert*-butyl (2-aminoethyl)carbammat (11,2ml) và NaHCO_3 bão hòa (120ml) được khuấy mạnh ở nhiệt độ 0°C , hỗn hợp tạo thành được cho thêm từng phần hợp chất có công thức 38 (10,0g, 64,4mmol). Sau khi khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 30 phút, hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 1,0 giờ. Sau đó, chất rắn được thu gom bằng cách lọc trong chân không và sau đó được hòa tan trong etyl axetat và rửa bằng nước muối, làm khô bằng Na_2SO_4 khan, được lọc và cô để thu được bột màu trắng (13,6g, hiệu suất 87%).

Ví dụ 41. Điều chế hợp chất *tert*-butyl (2-(1,3-dioxo-3a,4,7,7a-tetrahydro-1H-4,7-epoxyisoindol-2(3H)-yl)ethyl)carbammat (có công thức 40)

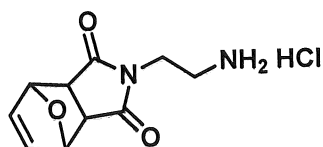


40

Hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 39 (6,0g, 25,0mmol) và furan (18ml)

trong toluen (120ml) được gia nhiệt đến 100°C trong bình ở áp suất cao. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 16 giờ và sau đó dung môi được loại bỏ. Chất rắn tạo thành được nghiền với etyl ete để thu được chất rắn màu trắng (6,5g, hiệu suất 84%).

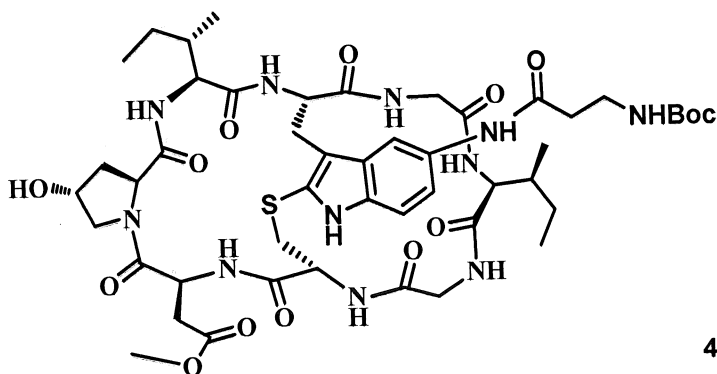
Ví dụ 42. Điều chế hợp chất 2-(2-aminoethyl)-3a,4,7,7a-tetrahydro-1H-4,7-epoxyisoindol-1,3(2H)-dion hydroclorua (có công thức 41)



41

Dung dịch được làm lạnh bằng nước đá chứa hợp chất có công thức 40 (7,90g, 25,6mmol) trong metylen clorua (60ml) được cho thêm từ từ HCl/dioxan (10ml HCl đậm đặc được hòa tan trong 30ml dioxan). Sau đó, hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy trong 2 giờ. Quá trình phản ứng được theo dõi bằng phương pháp TLC. Khi kết thúc, hỗn hợp phản ứng được cô và nghiền với etyl axetat. Chất rắn màu trắng được thu gom (6,32g, hiệu suất theo lý thuyết) bằng cách lọc trong chân không.

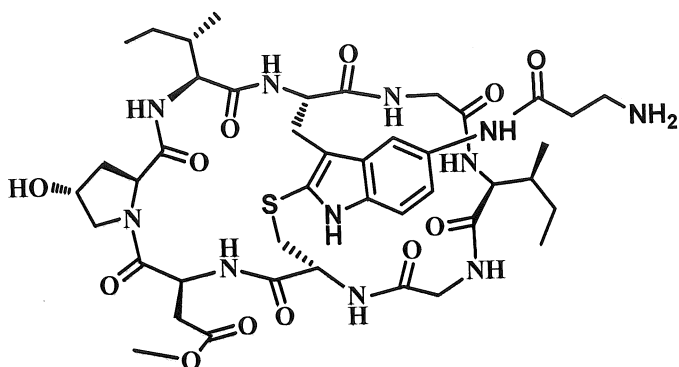
Ví dụ 43. Điều chế hợp chất có công thức 42



42

Hợp chất có công thức 14 (2,0mg, 0,00226mmol) và axit 3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino) propanoic (2,1mg, 0,0113mmol) được hòa tan trong DMF (1ml), hỗn hợp này được cho thêm HATU (4,3mg, 0,0113mmol) và DIPEA (2,0μl, 0,0113mmol). Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, và sau đó được cô và tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế (H₂O/MeCN) để thu được chất rắn màu trắng (1,8mg, hiệu suất 62%). MS ESI *m/z* [M+H]⁺ 1156,50.

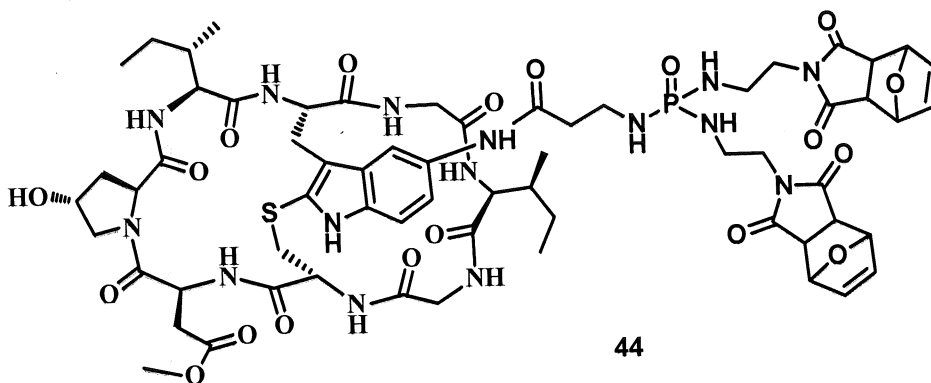
Ví dụ 44. Điều chế hợp chất có công thức 43



43

Hợp chất có công thức **42** (1,8mg, 0,0016mmol) được hòa tan trong CH_2Cl_2 (2ml) và được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C , cho thêm nhỏ giọt TFA (0,5ml). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 5 giờ, sau đó được pha loãng bằng CH_2Cl_2 và cô. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$) để thu được chất rắn màu trắng (1,1mg, hiệu suất 75%) là muối TFA. MS ESI m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ 956,40.

Ví dụ 45. Điều chế hợp chất có công thức **44**

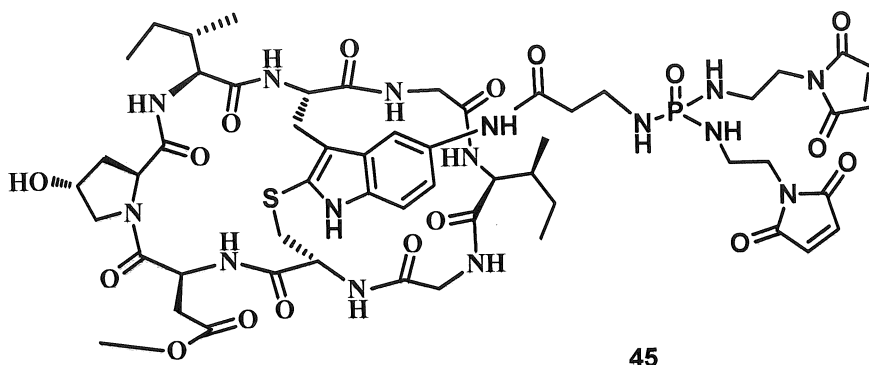


44

Hợp chất có công thức **41** (0,40g, 1,64mmol) được tạo huyền phù trong metylen clorua (2,5ml) và được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C . Phosphoryl trichlorua (0,75ml, 0,82mmol) được cho thêm nhỏ giọt vào, sau đó cho thêm từ từ triethylamin (0,69ml). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1 giờ và lọc trên tấm xelit. Phần nước lọc được sử dụng ngay.

Hợp chất có công thức **43** (1,1mg, 0,00115mmol) được hòa tan trong metylen clorua (0,5ml) và hỗn hợp này được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C , dung dịch nêu trên được cho thêm từ từ. Sau khi khuấy trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô và tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$) để thu được chất rắn màu trắng (1,0mg, hiệu suất 60%). MS ESI m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1416,54.

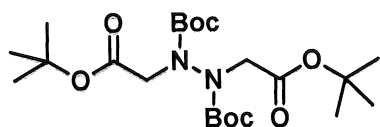
Ví dụ 46. Điều chế hợp chất có công thức **45**



45

Hợp chất có công thức **44** (1,0mg, 0,000706mmol) được hòa tan trong toluen (2ml) và được gia nhiệt ở nhiệt độ 100°C trong 16 giờ. Sau đó, dung môi được loại bỏ trong chân không để thu được chất rắn màu trắng (0,85mg, hiệu suất 95%). MS ESI m/z $[M+H]^+$ 1280,48.

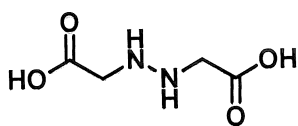
Ví dụ 47. Điều chế hợp chất di-*tert*-butyl 1,2-bis(2-(*tert*-butoxy)-2-oxoethyl)hydrazin-1,2-dicarboxylat (có công thức **46**)



46

Huyền phù chứa NaH (0,259g, 6,48mmol, 3,0 đương lượng) trong DMF khan (2ml) ở nhiệt độ trong phòng được cho thêm di-*tert*-butyl hydrazin-1,2-dicarboxylat (0,50g, 2,16mmol, 1,0 đương lượng) trong DMF khan (8ml) trong 10 phút trong môi trường nitơ. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút và sau đó được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C. Cho thêm nhỏ giọt *tert*-butyl 2-bromaxetat (1,4ml, 8,61mmol, 4,0 đương lượng) vào hỗn hợp này. Hỗn hợp tạo thành được để ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy qua đêm. Dung dịch amoni clorua bão hòa (100ml) được cho thêm vào. Lớp hữu cơ được tách ra và lớp nước được chiết bằng EtOAc (3 × 50ml). Dung dịch hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước và nước muối, làm khô bằng Na₂SO₄ khan, được cô và tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột trên SiO₂ (10:1 hexan/ EtOAc) để thu được hợp chất có công thức **46** dưới dạng dầu không màu (0,94g, hiệu suất 99,6%). ESI MS m/z $[M+Na]^+$ 483,4.

Ví dụ 48. Điều chế axit 2,2'-(hydrazin-1,2-diyl)diacetic (có công thức **47**)

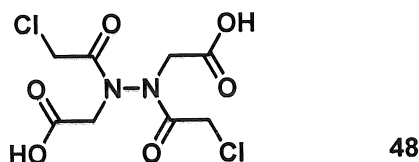


47

Dung dịch chứa hợp chất có công thức **46** (0,94g, 2,04mmol) trong DCM (4ml)

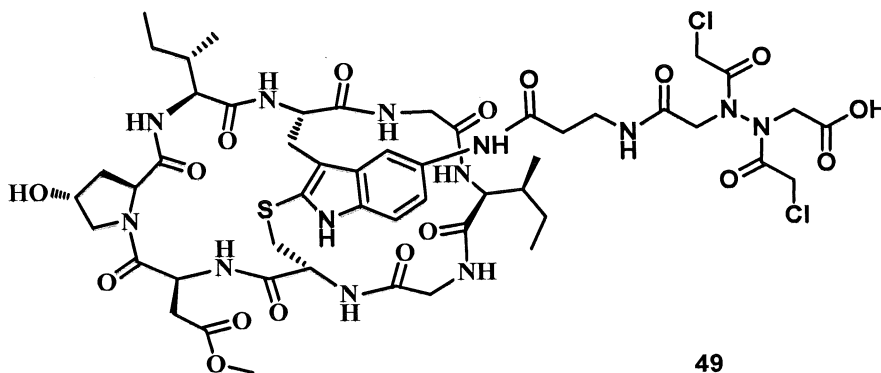
ở nhiệt độ 0°C được cho thêm TFA (4ml). Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút và sau đó được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm. Hỗn hợp này được cô, pha loãng bằng DCM, và được cô. Quá trình này được lặp lại ba lần để thu được chất rắn màu trắng. Nghiền với DCM và chất rắn màu trắng được thu hồi bằng cách lọc (0,232g, hiệu suất 76,8%). ESI MS m/z $[M+H]^+$ 149,2.

Ví dụ 49. Điều chế axit 2,2'-(1,2-bis(2-cloaxetyl)hydrazin -1,2-diyl)diacetit (có công thức 48)



Dung dịch chứa hợp chất có công thức **47** (0,232g, 1,57mmol, 1,0 đương lượng) trong THF khan (10ml) ở nhiệt độ 0°C được cho thêm 2-cloaxetyl clorua (0,38ml, 4,70mmol, 3,0 đương lượng) trong 10 phút. Hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy qua đêm và cô. Phần cặn được làm bay hơi đồng thời với THF ba lần để thu được chất rắn màu trắng (0,472g, hiệu suất theo lý thuyết). ESI MS m/z $[M+H]^+$ 301,1.

Ví dụ 50. Điều chế hợp chất có công thức 49

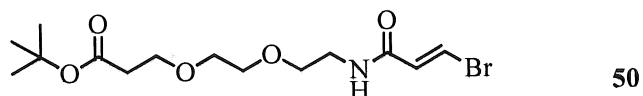


Dung dịch chứa hợp chất có công thức **48** (0,0245g, 0,0814mmol) trong DCM khan (3ml) ở nhiệt độ 0°C được cho thêm oxalyl diclorua (0,07ml, 0,814mmol) trong 10 phút, sau đó cho thêm một giọt DMF khan. Hỗn hợp này được khuấy trong 30 phút trước khi được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 1,5 giờ. Cuối cùng, hỗn hợp được cô và làm bay hơi đồng thời với DCM ba lần để thu được dầu màu vàng, dầu này được sử dụng trực tiếp.

Dung dịch chứa hợp chất có công thức **43** (2,0mg, 0,00209mmol) trong DCM khan (1ml) được cho thêm một phần tư lượng dầu màu vàng trên đây trong DCM (1ml)

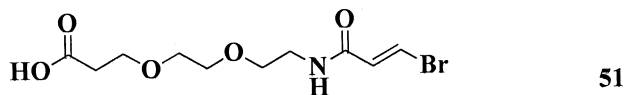
ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp này được khuấy trong 2 giờ và sau đó được cô và tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế (H₂O/MeCN) để thu được dầu không màu (1,3g, hiệu suất 48%), dầu này được sử dụng ngay trong bước tiếp theo. ESI MS m/z [M+H]⁺ 1238,40.

Ví dụ 51. Điều chế hợp chất (*E*)-*tert*-butyl 3-(2-(2-(3-bromoacrylamido)etoxy)etoxy)propanoat (có công thức **50**)



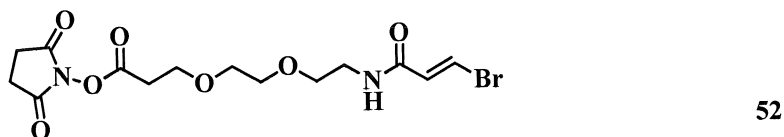
Dung dịch chứa axit (*E*)-3-bromoacrylic (0,15g, 1mmol), DMAP (0,15g, 1,2mmol) và DCC (0,21g, 1mmol) trong DCM (10ml) ở nhiệt độ 0°C, được cho thêm *tert*-butyl 3-(2-(2-aminoetoxy)etoxy)propanoat (0,23g, 1mmol). Hỗn hợp phản ứng được để ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy qua đêm. Sản phẩm thô được cô và tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột trên SiO₂ với gradien của EA/ DCM để thu được sản phẩm có công thức **50** nêu ở đề mục này (0,31g, hiệu suất 85%). ESI MS m/z [M+H]⁺ 366,08.

Ví dụ 52. Điều chế axit (*E*)-3-(2-(2-(3-bromoacrylamido)etoxy)etoxy) propanoic (có công thức **51**)



Hợp chất có công thức **50** (0,31g, 0,84mmol) được hòa tan trong axit fomic (4ml) ở nhiệt độ 0°C, sau đó H₂O (2ml) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng được để ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Sản phẩm thô được cô và sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. ESI MS m/z [M+H]⁺ 310,03.

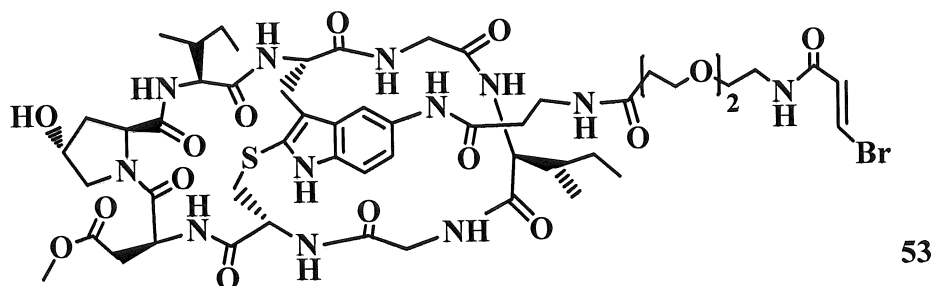
Ví dụ 53. Điều chế hợp chất (*E*)-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl 3-(2-(2-(3-bromoacrylamido)etoxy)etoxy)propanoat (có công thức **52**)



Hợp chất có công thức **51** (0,12g, 0,39mmol), NHS (0,067g, 0,58mmol) và EDC (0,11g, 0,58mmol) được hòa tan trong DCM (10ml), hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, được cô và tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột trên SiO₂ để thu được sản phẩm có công thức **52** được nêu ở đề mục này (0,13g, hiệu suất 82%).

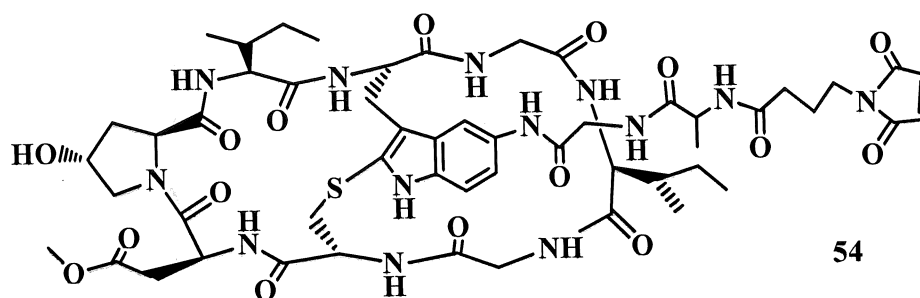
ESI MS m/z $[M+H]^+$ 407,04.

Ví dụ 54. Điều chế hợp chất có công thức **53**



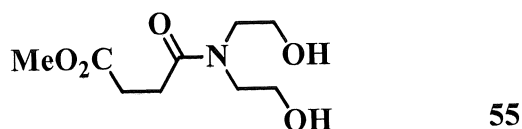
Hợp chất có công thức **43** (2,0mg, 0,00209mmol), hợp chất có công thức **52** (4,2mg, 0,0105mmol) được hòa tan trong DMA (1ml), sau đó dung dịch đệm phosphat (độ pH = 7,2, 1ml) được cho thêm vào. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, được cô và tinh chế bằng phương pháp HPLC pha ngược với gradien của MeCN/H₂O để thu được sản phẩm có công thức **53** nêu ở đề mục này (0,9mg, hiệu suất 33%). ESI MS m/z $[M+H]^+$ 1248,40.

Ví dụ 55. Điều chế hợp chất có công thức **54**



Dung dịch chứa hợp chất có công thức **14** (2,0mg, 0,00226mmol) trong etanol (1ml) và dung dịch đệm phosphat (pH 7,2, 1ml) được cho thêm 2,5-dioxopyrrolidin-1-yl 2-(2-(4-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)butanamido)propanamido)axetat (4,6mg, 0,0113mmol) trong etanol (1ml) trong 30 phút. Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô và tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế (H₂O/MeCN) để thu được hợp chất có công thức **54** (1,1mg, hiệu suất 41%). MS ESI m/z $[M+H]^+$ 1178,48.

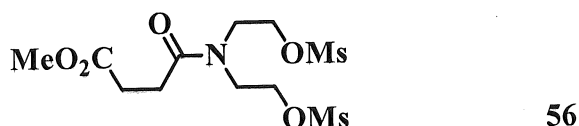
Ví dụ 56. Điều chế hợp chất methyl 4-(bis(2-hydroxyetyl)amino)-4-oxobutanoat (có công thức **55**)



Dimethyl succinat (20,0g, 136,9mmol) và dihydroxyetylamin (7,20g, 68,7mmol)

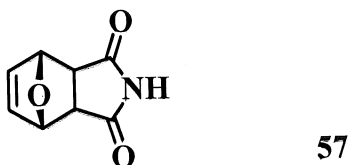
trong hỗn hợp chứa toluen khan (500ml) và pyridin (50ml) được đun hồi lưu ở nhiệt độ 150°C trong 28 giờ. Hỗn hợp này được cô và tinh chế trên cột SiO₂ được rửa giải bằng EtOAc/DCM (5% ~25% EtOAc) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (12,5g, hiệu suất 83%). ESI MS m/z [M + Na]⁺ 242,4.

Ví dụ 57. Điều chế hợp chất methyl 4-(bis(2-((metylsulfonyl)oxy)ethyl) amino)-4-oxobutanoat (có công thức 56)



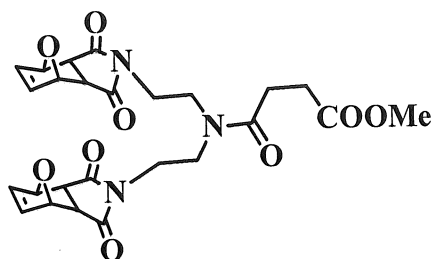
Methyl 4-(bis(2-hydroxyethyl)amino)-4-oxobutanoat (12,0g, 49,56mmol) trong pyridin khan (350ml) được cho thêm metansulfonyl clorua (20,0g, 175,4mmol). Sau khi khuấy qua đêm, hỗn hợp này được cô, pha loãng bằng EtOAc (350ml), được rửa bằng NaH₂PO₄ 1M lạnh (2 × 300ml), làm khô bằng MgSO₄, được lọc và làm bay hơi để thu được sản phẩm thô (~18,8g, hiệu suất >100%). Sản phẩm thô được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Ví dụ 58. Điều chế hợp chất 3,6-endoxo-Δ-tetrahydrophtalimit (có công thức 57)



Maleimit (10,0g, 103,0mmol) trong toluen (200ml) được cho thêm furan (10,0ml, 137,4mmol). Hỗn hợp này được gia nhiệt bên trong bình chịu áp suất có dung tích 1 lít ở nhiệt độ 100°C trong 8 giờ. Bình chịu áp suất này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, và chất rắn bên trong được rửa bằng metanol, được cô và kết tinh trong etyl axetat/hexan để thu được 16,7g (99%) hợp chất nêu ở đề mục này. ¹H NMR (CDCl₃): 11,12 (s, 1H), 6,68~6,64 (m, 2H), 5,18~5,13 (m, 2H), 2,97 ~2,92 (m, 2H). ESI MS m/z [M + Na]⁺ 188,04.

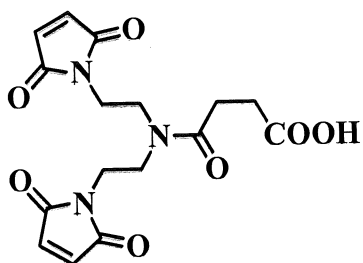
Ví dụ 59. Điều chế hợp chất methyl 4-((2-((3aR,4R,7S,7aS)-1,3-dioxo-3a,4,7,7a-tetrahydro-1H-4,7-epoxyisoindol-2(3H)-yl)ethyl)(2-((4R,7S,7aS)-1,3-dioxo-3a,4,7,7a-tetrahydro-1H-4,7-epoxyisoindol-2(3H)-yl)ethyl)amino)-4-oxobutanoat (có công thức 58)



58

Metyl 4-(bis(2-((methylsulfonyl)oxy)ethyl)amino)-4-oxobutanoat (hợp chất có công thức **56**, mới điều chế được, độ tinh khiết 90%, 8,5g, ~20mmol) trong DMA (350ml) được cho thêm 3,6-endoxo- Δ -tetrahydrophtalimit (10,2g, 61,8mmol), natri cacbonat (8,0g, 75,5mmol) và natri iodua (0,3g, 2,0mmol). Sau đó, hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, được cô, pha loãng bằng EtOAc (350ml), được rửa bằng dung dịch NaHCO_3 bão hòa (300ml), dung dịch NaCl bão hòa (300ml) và NaH_2PO_4 1M (300ml). Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc, làm bay hơi, được tải lên cột SiO_2 và được rửa giải bằng EtOAc/hexan (10% ~ 30% EtOAc) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (7,9g, hiệu suất 77%). ESI MS m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 536,4.

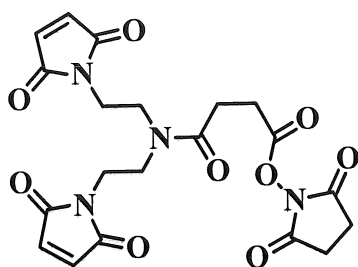
Ví dụ 60. Điều chế axit 4-(bis(2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-yl)ethyl)amino)-4-oxobutanoic (có công thức **59**)



59

Hợp chất có công thức **58** (3,0g, 5,8mmol) và trimetylstananol (4,8g, 26,4mmol) trong 1,2-dicloetan (150ml) được đun hồi lưu ở nhiệt độ 80°C trong 8 giờ. Hỗn hợp này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng và phần cặn được cho đi qua cột silicagel ngắn và được rửa giải bằng diclometan/metanol để loại bỏ lượng trimetyl thiếc hydroxit dư. Sau đó, các phân đoạn hỗn hợp được kết hợp, được cô và pha loãng bằng DMA và toluen, được đun hồi lưu ở nhiệt độ 120°C qua đêm, được tải lên cột SiO_2 và rửa giải bằng MeOH/DCM (5% ~ 10% MeOH) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1,62g, hiệu suất 76%). ESI MS m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 386,2.

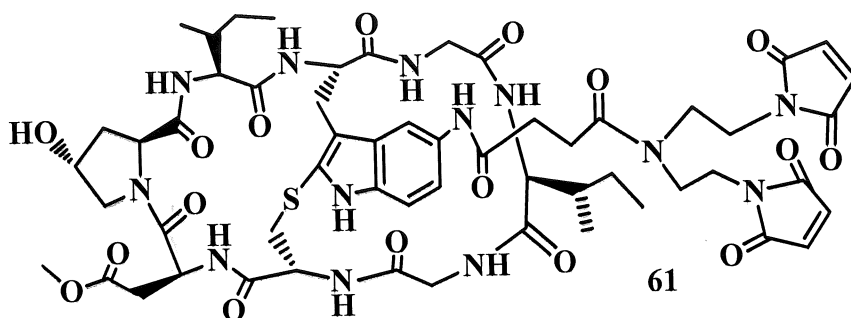
Ví dụ 61. Điều chế hợp chất 2,5-dioxopyrrolidin-1-yl 4-(bis(2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-yl)ethyl)amino)-4-oxobutanoat (có công thức **60**)



60

Dung dịch chứa hợp chất có công thức **59** (1,60g, 4,4mmol) trong DMA (100ml) được cho thêm NHS (0,76g, 6,61mmol) và EDC (1,70g, 8,90mmol). Hỗn hợp này được khuấy qua đêm, được làm bay hơi và tinh chế trên cột SiO₂, được rửa giải bằng EtOAc/DCM (5% - 15% EtOAc) để thu được sản phẩm nêu ở đề mục này (1,72g, hiệu suất 85,0%), ESI MS m/z [M + Na]⁺ 483,2.

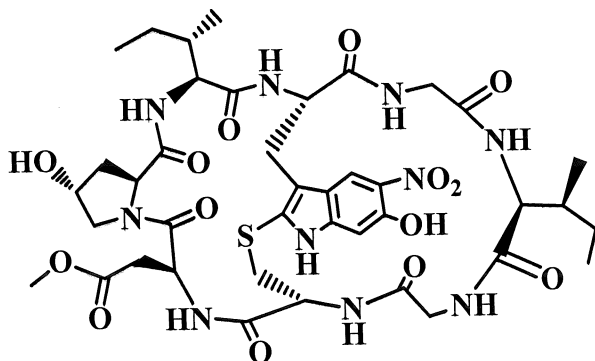
Ví dụ 62. Điều chế hợp chất có công thức **61**



61

Dung dịch chứa hợp chất có công thức **14** (2,0mg, 0,00226mmol) trong etanol (1ml) và dung dịch đệm phosphat (độ pH = 7,2, 1ml) được cho thêm hợp chất có công thức **60** (5,2mg, 0,0113mmol) trong etanol (1ml) trong 30 phút. Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô và tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế (H₂O/MeCN) để thu được hợp chất có công thức **61** (1,2mg, hiệu suất 45%). MS ESI m/z [M+H]⁺ 1230,48.

Ví dụ 63. Điều chế hợp chất có công thức **63**

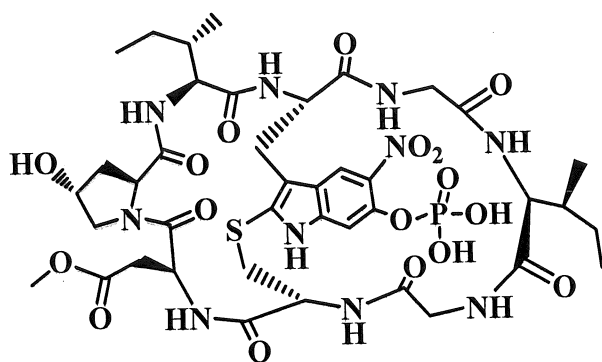


63

Dung dịch chứa hợp chất có công thức **62** (5,0mg, 0,00563mmol, 1,0 đương

lượng) trong axit axetic (1ml) và CH_2Cl_2 (1ml) được cho thêm HNO_3 70% (0,5ml) ở nhiệt độ 0°C . Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1 giờ, sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng 2 giờ. Sau khi nước (5ml) được thêm vào, hỗn hợp phản ứng được cô và tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$) để thu được chất rắn màu vàng nhạt (2,4mg, hiệu suất 46%). ESI MS m/z 931,34 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

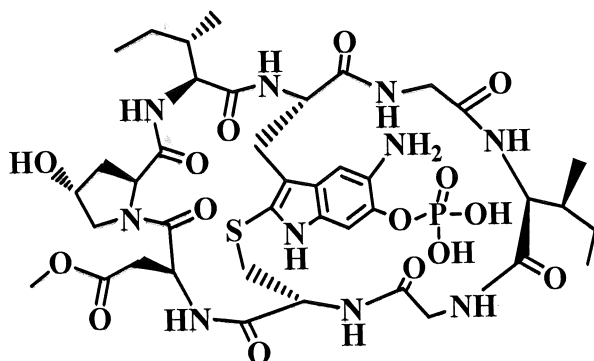
Ví dụ 64. Điều chế hợp chất có công thức **64**



64

Hợp chất có công thức **63** (2,4mg, 0,00257mmol) trong hỗn hợp chứa CH_3CN (2ml) và DMA (1ml) được cho thêm DIPEA (9 μl , 0,0524mmol) ở nhiệt độ 0°C . Sau khi được khuấy trong 2 phút, POCl_3 (2,4 μl , 0,0262mmol) được cho thêm nhỏ giọt ở nhiệt độ 0°C . Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ, và được làm lạnh bằng cách cho thêm từ từ dung dịch NaHCO_3 bão hòa ở nhiệt độ 0°C . Hỗn hợp này được cô và tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$) để thu được chất rắn màu trắng (2,0mg, hiệu suất 77%). ESI MS m/z 1011,28 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

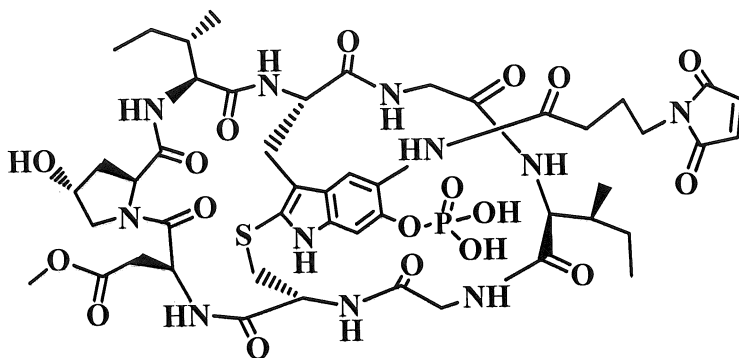
Ví dụ 65. Điều chế hợp chất có công thức **65**



65

Hỗn hợp chứa hợp chất có công thức **64** (2,0mg, 0,00197mmol) và Pd/C (10% trọng lượng, 5mg) trong metanol (2ml) được hydro hóa (1 at (100 kPa) H_2) ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ, và sau đó được lọc qua xelit (thiết bị trợ lọc). Phần nước lọc được cô để thu được chất rắn màu trắng (1,8mg, hiệu suất 93%). ESI MS m/z 981,33 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

Ví dụ 66. Điều chế hợp chất có công thức 66



66

Dung dịch chứa hợp chất có công thức 14 (1,8mg, 0,00183mmol) trong etanol (1ml) và dung dịch đệm phosphat (pH 7,2, 1ml) được cho thêm 2,5-dioxopyrrolidin-1-yl 4-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)butanoat (2,6mg, 0,0930mmol) trong etanol (1ml) trong 10 phút. Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô và tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$) để thu được hợp chất có công thức 30 (1,3mg, hiệu suất 62%). MS ESI m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1146,45.

Ví dụ 67. Phương pháp chung để kết hợp hợp chất có công thức 15, 22, 30, 37, 45, 49, 53, 54, 61, hoặc 66 độc lập với kháng thể Her2 (Herceptin).

Hỗn hợp chứa 2,0ml Herceptin 10 mg/ml ở độ pH nằm trong khoảng từ 6,0 đến 8,0, được cho thêm 0,70 ~ 2,0ml dung dịch đệm PBS chứa NaH_2PO_4 100mM, dung dịch đệm ở độ pH nằm trong khoảng từ 6,5 đến 8,5, TCEP (14-35 μl , 20mM trong nước) và hợp chất có công thức 15, 22, 30, 37, 45, 49, 53, 54, 61, hoặc 66 (14-28 μl , 20mM trong DMA). Hỗn hợp này được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong khoảng thời gian từ 4 đến 16 giờ, sau đó DHAA (135 μl , 50mM) được cho thêm vào. Sau khi ủ liên tục ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, hỗn hợp được tinh chế trên cột G-25 được rửa giải bằng NaH_2PO_4 100mM, NaCl 50mM, dung dịch đệm có độ pH nằm trong khoảng từ 6,0 đến 7,5 để thu được 12,0~18,4mg thể liên hợp của hợp chất có công thức A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9, hoặc A10 (hiệu suất 68%~83%) tương ứng trong 13,0~15,8ml dung dịch đệm. Tỷ lệ dược chất/kháng thể (DAR) nằm trong khoảng từ 1,9 đến 4,0, tỷ lệ này được xác định bằng phổ khối lượng UPLC-QTOF. Phân tích được 94~99% monome bằng phương pháp HPLC SEC (Tosoh Bioscience, Tskgel G3000SW, 7,8 mm ID x 30cm, 0,5ml/phút, 100 phút) và dải đơn được xác định bằng phương pháp điện di trên gel SDS-PAGE.

Ví dụ 68. Phương pháp chung để liên hợp hợp chất có công thức 22, 30, 37, 45, 49, 54 hoặc 61 độc lập với Herceptin (kháng thể Her2).

Hỗn hợp chứa 2,0ml Herceptin 10 mg/ml ở độ pH nằm trong khoảng từ 6,0 đến 8,0, 0,70 ~ 2,0ml NaH_2PO_4 100mM, Na_2SO_3 1mM, dung dịch đệm có độ pH nằm trong khoảng từ 6,5 đến 8,5, và hợp chất có công thức **22, 30, 37, 45, 49, 54** hoặc **61** (21-24 μl , 20mM trong DMA) được ủ độc lập trong 1 giờ, được cho thêm TCEP (14-23 μl , 20mM trong nước). Sau khi hỗn hợp này được tiếp tục ủ ở nhiệt độ trong phòng trong khoảng thời gian từ 8 đến 24 giờ, DHAA (135 μl , 50mM) được cho thêm vào và dung dịch được ủ liên tục trong 12 giờ nữa. Sau đó, được tinh chế trên cột G-25, được rửa giải bằng NaH_2PO_4 100mM, NaCl 50mM, dung dịch đệm có độ pH nằm trong khoảng từ 6,0 đến 7,5 để thu được 13,8~17,6mg thể liên hợp của hợp chất có công thức A2, A3, A4, A5, A6, A7 hoặc A9 một cách tương ứng (hiệu suất 63%~87%) trong 13,6~15,7ml dung dịch đệm. Tỷ lệ dược chất/kháng thể (DAR) nằm trong khoảng từ 1,9 đến 3,8, tỷ lệ này được xác định bằng phổ khối lượng UPLC-QTOF. Phân tích được hàm lượng monome nằm trong khoảng từ 96 đến 99% bằng phương pháp HPLC SEC (Tosoh Bioscience, Tskgel G3000SW, 7,8 mm ID x 30cm, 0,5ml/phút, 100 phút) và dải đơn được xác định bằng phương pháp điện di trên gel SDS-PAGE hoặc hai dải được xác định khi khử chất phản ứng khử DTT có mặt trong SDS PAGE.

Ví dụ 69. Đánh giá độc tính tế bào *in vitro* của thể liên hợp A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9, và A10 so với T-DM1:

Dòng tế bào được sử dụng trong các thử nghiệm độc tính tế bào là NCI-N87, dòng tế bào caxinom dạ dày của người; các tế bào này được cho sinh trưởng trong môi trường RPMI-1640 chứa FBS 10%. Để tiến hành thử nghiệm, các tế bào (180 μl , 6000 tế bào) được cho vào mỗi lỗ trong đĩa có 96 lỗ và được ủ trong 24 giờ ở nhiệt độ 37°C chứa 5% CO_2 . Tiếp theo, các tế bào được xử lý bằng các hợp chất thử nghiệm (20 μl) với nồng độ khác nhau trong môi trường nuôi cấy tế bào thích hợp (tổng thể tích, 0,2ml). Các lỗ đối chứng chứa các tế bào và môi trường nhưng không có các hợp chất thử nghiệm. Các đĩa này được ủ trong 120 giờ ở nhiệt độ 37°C chứa 5% CO_2 . Sau đó MTT (5mg/ml) được bổ sung vào các lỗ (20 μl) và các đĩa được ủ trong 1,5 giờ ở nhiệt độ 37°C. Môi trường được loại bỏ một cách cẩn thận và DMSO (180 μl) được cho thêm sau đó. Sau khi được lắc trong 15 phút, mức độ hấp phụ được xác định ở bước sóng 490nm và 570nm bằng bộ lọc tham chiếu ở bước sóng 620nm. Mức độ ức chế theo tỷ lệ % được tính theo công thức sau: mức độ ức chế (%) = $[1 - (\text{thử nghiệm} - \text{mẫu})]$

trống)/(mẫu đối chứng-mẫu trống)] $\times 100$.

Kết quả của độc tính tế bào:

| | DAR (tỷ lệ được chất) | IC ₅₀ của tế bào N87 (Ag+) (nM) |
|------------------|-----------------------|--|
| Thẻ liên hợp A1 | 3,8 | 1,19nM |
| Thẻ liên hợp A2 | 2,9 | 3,32nM |
| Thẻ liên hợp A3 | 2,8 | 17,33nM |
| Thẻ liên hợp A4 | 2,7 | 69,24nM |
| Thẻ liên hợp A5 | 3,2 | 3,13nM |
| Thẻ liên hợp A6 | 2,7 | 53,3nM |
| Thẻ liên hợp A7 | 2,9 | 5,53 nM |
| Thẻ liên hợp A8 | 3,2 | 48,13 nM |
| Thẻ liên hợp A9 | 2,3 | 5,71nM |
| Thẻ liên hợp A10 | 2,8 | 3,63nM |
| T-DM1 | 3,5 | 0,19nM |

Các thẻ liên hợp có nhóm liên kết cầu có hiệu quả kém hơn T-DM1 *in vitro*.

Ví dụ 70. Hoạt tính kháng u *in vivo*

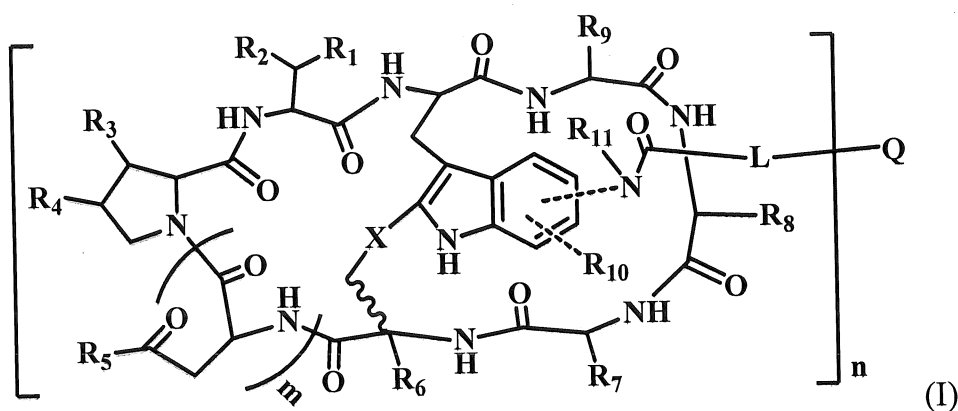
Hiệu quả *in vivo* của các thẻ liên hợp A1, A2, A3, A5, A6, A7, A9, và A10 cùng với T-DM1 được đánh giá trên mô hình mô ghép khối u khác loài ở dòng tế bào caxinom dạ dày của người N-87. Chuột nhắt trần BALB/c, chuột cái 5 tuần tuổi (60 con) được cấy dưới da ở vùng dưới vai phải các tế bào caxinom N-87 (5×10^6 tế bào/con) trong 0,1ml môi trường không chứa huyết thanh. Các khối u được phát triển trong 8 ngày đến kích thước trung bình bằng 123 mm³. Sau đó, các con chuột được chia ngẫu nhiên thành 10 nhóm (6 con/nhóm). Nhóm chuột thứ nhất được dùng làm nhóm đối chứng và được điều trị bằng chất dẫn thuốc là nước muối được phosphat. 9 nhóm còn lại được điều trị tương ứng bằng các thẻ liên hợp A1, A2, A3, A5, A6, A7, A9, và A10 và T-DM1 với liều 6mg/kg qua đường trong tĩnh mạch. Ba kích thước khối u được xác định mỗi 4 ngày và thể tích khối u được tính bằng cách sử dụng công thức: thể tích khối u = 1/2 (chiều dài $\times$ chiều rộng $\times$ chiều cao). Trọng lượng của các con chuột cũng được xác định đồng thời. Chuột bị giết khi đáp ứng tiêu chí bất kỳ

trong số các tiêu chí sau: (1) giảm trọng lượng hơn 20% so với trọng lượng trước khi điều trị, (2) thể tích khối u lớn hơn 1500 mm³, (3) quá yếu để tiếp cận thực phẩm và nước, hoặc (4) sự hoại tử da. Chuột được cho là không có khối u nếu không sờ thấy khối u.

Các kết quả được vẽ đồ thị trên Fig.30. Toàn bộ 9 thể liên hợp không làm giảm trọng lượng của chuột. Và các con chuột ở nhóm đối chứng bị giết vào ngày 30 do thể tích khối u lớn hơn 1200 mm³ và chúng quá yếu. Trên Fig.31, toàn bộ 6/6 con chuột ở các nhóm sử dụng hợp chất có công thức **A2, A5, A7, A9 và A10** hoàn toàn không xác định được khối u vào ngày 16 cho đến tận ngày 62 (kết thúc thử nghiệm). Trái lại, T-DM1 với liều 6 mg/kg không thể loại bỏ hoàn toàn khối u và nó chỉ ức chế sự phát triển của khối u trong 37 ngày. Thể liên hợp của hợp chất có công thức **A1, A3, và A6** cũng không loại bỏ hoàn toàn khối u với liều 6 mg/kg nhưng có hoạt tính kháng u tốt hơn T-DM1. Quan trọng hơn là tất cả các con chuột được điều trị bằng thể liên hợp của các hợp chất có công thức **A1, A2, A3, A5, A6, A7, A9, và A10** không có hoặc có độ tổn thương thấp hơn so với các con chuột được điều trị lý bằng T-DM1 khi xác định nồng độ alanin aminotransferaza (alanine aminotransferase: ALT) và aspartame aminotransferaza (aspartam aminotransferase: AST) được trong huyết thanh khi kết thúc thử nghiệm (số liệu không được thể hiện). Điều này chứng tỏ rằng thể liên hợp của đơn sáng chế này sẽ có phạm vi sử dụng điều trị rộng hơn so với các thể liên hợp truyền thống.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I)



hoặc muối, hydrat, hoặc muối hydrat hóa được dụng của nó; hoặc các cấu trúc tinh thể đa hình của nó; hoặc chất đồng phân dị cấu quang học, raxemat, chất đồng phân không đối quang hoặc chất đồng phân đối ảnh của nó,

trong đó

----- là liên kết đơn để liên kết vị trí cacbon bất kỳ của vòng (indol) thơm;

~~~~ là liên kết đơn tùy ý hoặc liên kết vắng mặt;

$R_1$  và  $R_2$  độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H, OH,  $CH_2OH$ ,  $CH(OH)CH_2OH$ ,  $CH(CH_3)CH_2OH$ ,  $CH(OH)CH_3$ ,  $C_1$ - $C_8$  alkyl,  $-OR_{12}$  (ete),  $C_2$ - $C_8$  alkenyl, alkynyl, heteroalkyl,  $-OCOR_{12}$  (este),  $-OC(=O)OR_{12}$  (cacbonat),  $-OC(=O)NHR_{12}$  (carbamat);  $C_3$ - $C_8$  aryl, dị vòng, vòng cacbon, xycloalkyl, heteroxycloalkyl, heteroaralkyl, và alkylcacbonyl;

$R_3$  và  $R_4$  độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H, OH,  $-OR_{12}$  (ete),  $-OCOR_{12}$  (este),  $-OCOCH_3$  (axetat),  $-OCOOR_{12}$  (cacbonat),  $-OC(=O)NHR_{12}$  (carbamat),  $-OP(O)(OR_{12})(OR_{12}')$  (phosphat),  $OP(O)(NHR_{12})(NHR_{12}')$  (phosphamit),  $O-SO_3^-$ , hoặc O-glycosit;

$R_5$  được chọn từ nhóm bao gồm H, OH,  $NH_2$ ,  $NHOH$ ,  $NHNH_2$ ,  $-OR_{12}$ ,  $-NHR_{12}$ ,  $NHNHR_{12}$ ,  $-NR_{12}R_{12}'$ , và  $N(H)(R_{12})R_{13}CO(Aa)_p$ , trong đó Aa là axit amin hoặc polypeptit, p nằm trong khoảng từ 0 đến 6;

$R_6$  được chọn từ nhóm bao gồm H, OH,  $CH_2OH$ ,  $CH(OH)CH_2OH$ ,  $CH(CH_2OH)_2$ ,  $CH(CH_3)OH$ ,  $CH_2CH_2OH$ ,  $PrOH$ ,  $BuOH$ ,  $C_1$ - $C_8$  alkyl,  $-OR_{12}$  (ete),  $C_2$ - $C_8$  alkenyl, alkynyl, heteroalkyl, hoặc  $-OCOR_{12}$  (este); và  $C_3$ - $C_8$  aryl, dị vòng,



hoặc vòng cacbon;

$R_7$ ,  $R_8$  và  $R_9$  độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H, OH,  $CH_3$ ,  $CH(CH_3)_2$ ,  $CH(CH_3)CH_2CH_3$ ,  $CH_2OH$ ,  $CH(OH)CH_2OH$ ,  $CH_2CH(OH)CH_2OH$ ,  $CH(CH_2OH)_2$ ,  $CH_2C(OH)(CH_2OH)_2$ ,  $CH_2C(OH)(CH_3)(CH_2OH)$ ,  $CH_2C(OH)(CH(CH_3)_2)(CH_2OH)$ ,  $CH_2CH_2OH$ ,  $PrOH$ ,  $BuOH$ ,  $CH_2COOH$ ,  $CH_2CH_2COOH$ ,  $CH(OH)COOH$ ,  $CH_2CONH_2$ ,  $CH_2CH_2CONH_2$ ,  $CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ ,  $CH_2CH_2CH_2NHC(=NH)NH_2$ ,  $C_1\sim C_8$  alkyl,  $CH_2Ar$ ,  $CH_2SH$ ,  $CH_2SR_{12}$ ,  $CH_2SSR_{12}$ ,  $CH_2SSAr$ ,  $CH_2CH_2SCH_3$ ,  $-OR_{12}$  (ete),  $C_2\sim C_8$  alkenyl, alkynyl, heteroalkyl, hoặc  $-OCOR_{12}$  (este); và  $C_3\sim C_8$  aryl, dị vòng, hoặc vòng cacbon;

$R_{10}$  được chọn từ nhóm bao gồm H,  $NH_2$ , OH, SH,  $NO_2$ , halogen,  $-NHOH$ ,  $-N_3$  (azido);  $-CN$  (xyano);  $C_1\sim C_8$  alkyl,  $C_2\sim C_8$  alkenyl, alkynyl, heteroalkyl;  $C_3\sim C_8$  aryl, dị vòng, hoặc vòng cacbon;  $-OR_{12}$  (ete),  $-OCOR_{12}$  (este),  $-OCOCH_3$  (axetat),  $-OC(O)OR_{12}$  (cacbonat),  $-OC(O)CH(R_{12})NHAa$  (Aa là nhóm axit amin),  $-NR_{12}R_{12}'$  (amin),  $-NR_{12}COR_{12}'$  (amin),  $-NR_{12}NR_{12}'NR_{12}''$  (amin);  $-OCONR_{12}R_{12}'$  (carbamat);  $-NR_{12}(C=NH)NR_{12}'R_{12}''$  (guanidin);  $-NR_{12}CO(Aa)_p$ , (axit amin hoặc peptit, trong đó Aa là axit amin hoặc polypeptit, p nằm trong khoảng từ 0 đến 6);  $-N(R_{12})CONR_{12}'R_{12}''$  (ure);  $-OCSNHR_{12}$  (thiocarbamat);  $-SH$  (thiol);  $-SR_{12}$  (sulfua);  $-S(O)R_{12}$  (sulfoxit);  $-S(O_2)R_{12}$  (sulfon);  $-SO_3$ ,  $HSO_3$ ,  $HSO_2$ , hoặc muối của  $HSO_3^-$ ,  $SO_3^{2-}$  hoặc  $-HSO_2^-$  (sulphit);  $-OSO_3^-$ ;  $-N(R_{12})SOOR_{12}'$  (sulfonamit);  $H_2S_2O_5$  hoặc muối của  $S_2O_5^{2-}$  (metabisulfit);  $PO_3SH_3$ ,  $PO_2S_2H_2$ ,  $POS_3H_2$ ,  $PS_4H_2$  hoặc muối của  $PO_3S^{3-}$ ,  $PO_2S_2^{3-}$ ,  $POS_3^{3-}$ ,  $PS_4^{3-}$  (mono-, di-, tri-, và tetra-thiophosphat);  $(R_{12}O)_2POSR_{12}'$  (thiophosphat este);  $HS_2O_3$  hoặc muối của  $S_2O_3^{2-}$  (thiosulfat);  $HS_2O_4$  hoặc muối của  $S_2O_4^{2-}$  (dithionit);  $(P(=S)(OR_{12})(S)(OH))$  hoặc muối được tạo thành với cation (phosphorodithioat);  $-N(R_{12})OR_{12}'$  (dẫn xuất hydroxylamin);  $R_{12}C(=O)NOH$  hoặc muối được tạo thành với cation (axit hydroxamic);  $(HOCH_2SO_2^-)$ , hoặc muối của nó (formaldehyt sulfoxylat);  $-N(R_{12})COR_{12}'$  (amit);  $R_{12}R_{12}'R_{12}''NPO_3H$  (trialkylphospho-amidat hoặc axit phosphoramidic); hoặc  $ArAr'Ar''NPO_3H$  (triarylphosphoni);  $OP(O)(OM_1)(OM_2)$ ,  $OCH_2OP(O)(OM_1)(OM_2)$ ,  $OSO_3M_1$ ; O-glycosit (glucosit, galactosit, manosit, glucuronosit, alosit, fructosit), NH-glycosit, S-glycosit và  $CH_2$ -glycosit;  $M_1$  và  $M_2$  độc lập là H, Na, K, Ca, Mg,  $NH_4$ , hoặc  $NR_1'R_2'R_3'$ ;  $R_1'$ ,  $R_2'$  và  $R_3'$  độc lập là H, hoặc  $C_1\sim C_8$  alkyl; và Ar, Ar', và Ar'' là  $C_3\sim C_8$  aryl hoặc nhóm dị thơm;

$R_{11}$  là H,  $C_1\sim C_8$  alkyl;  $C_2\sim C_8$  alkenyl, alkynyl, hoặc heteroalkyl; hoặc  $C_3\sim C_8$

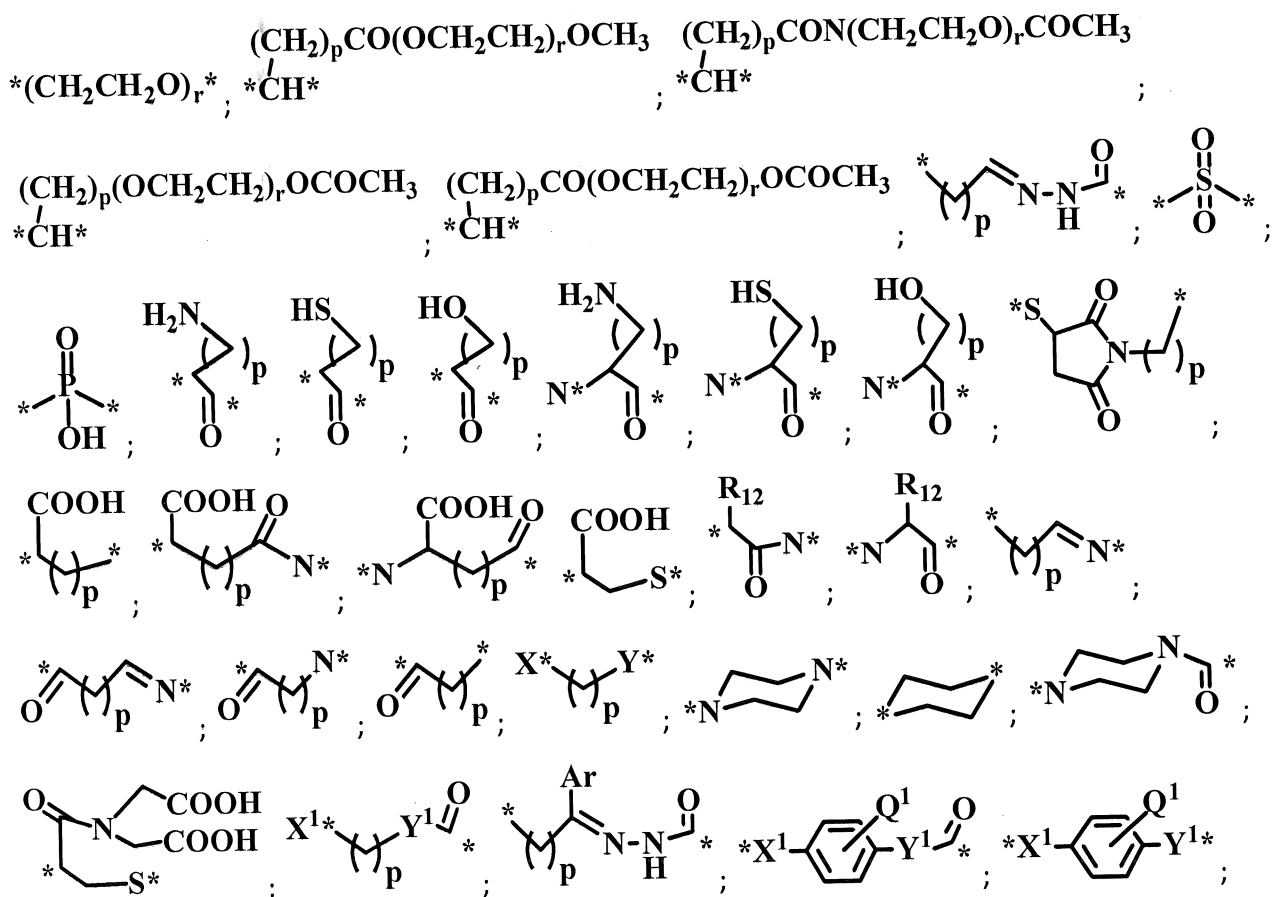
aryl, hoặc heteroaryl;

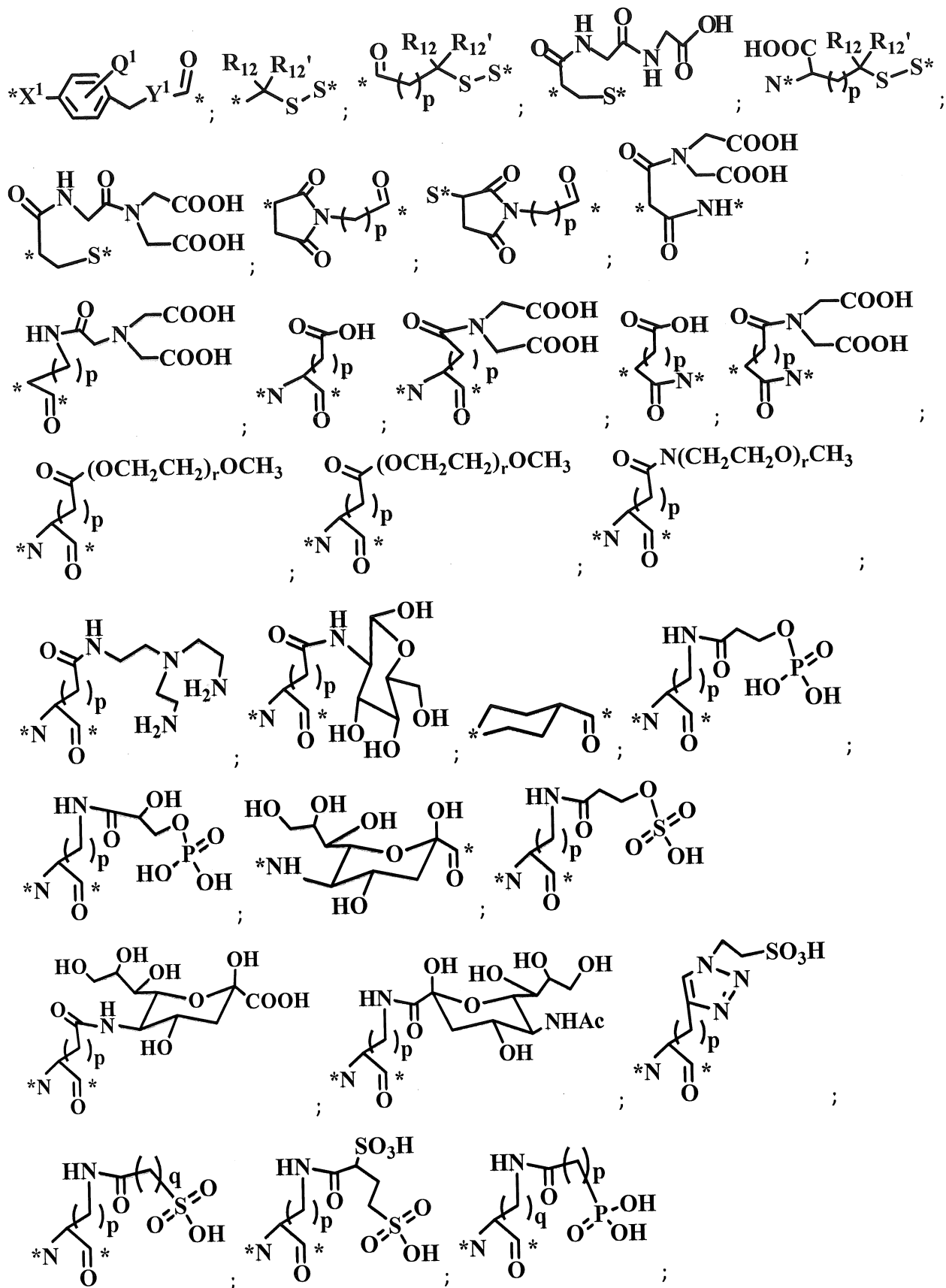
R<sub>12</sub>, R<sub>12</sub>', và R<sub>12</sub>''' độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H, C<sub>1</sub>~C<sub>8</sub> alkyl; C<sub>2</sub>~C<sub>8</sub> alkenyl, alkynyl, heteroalkyl; C<sub>3</sub>~C<sub>8</sub> aryl, heteroaryl, dị vòng, và vòng cacbon;

X là S, O, NH, SO, SO<sub>2</sub>, hoặc CH<sub>2</sub>;

m bằng 0 hoặc 1; n bằng 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, hoặc 20.

L là nhóm liên kết có thể giải phóng có công thức:  $\text{—Ww—(Aa)r—Tt—}$ ; hoặc  $\text{—Ww—(Aa)r—Tt—Q}$ ; hoặc  $\text{Q—Ww—(Aa)r—Tt—}$ ; trong đó W là đơn vị Stretcher; w bằng 0 hoặc 1; Aa là đơn vị axit amin chứa các axit amin độc lập; r là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 100, đơn vị Stretcher W chứa thành phần tự phân hủy hoặc thành phần không tự phân hủy, đơn vị peptidyl, liên kết hydrazon, disulfua, este, oxim, amit, hoặc liên kết thioete, thành phần tự phân hủy bao gồm hợp chất 2-aminoimidazol-5-metanol, chất tương tự PAB dị vòng, beta-glucuronit, và ortho hoặc para-aminobenzylaxetal; thành phần nhóm liên kết không tự phân hủy có một trong số các cấu trúc sau:





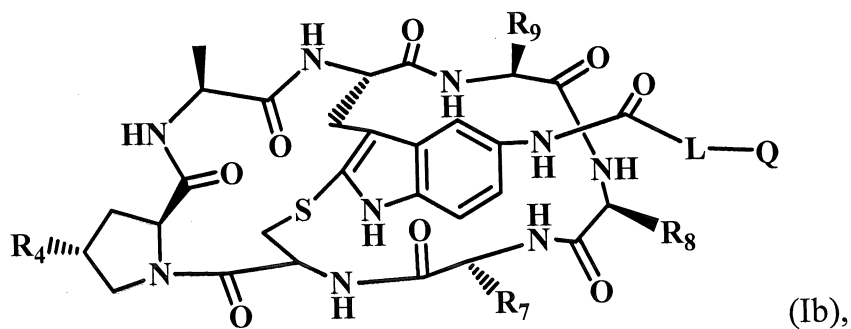
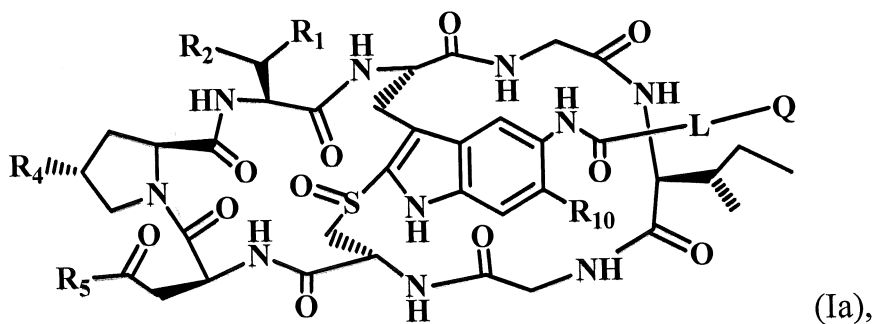
trong đó nguyên tử được đánh dấu (\*) là điểm gắn kết của nhóm đệm bổ sung hoặc nhóm liên kết có thể giải phóng, chất gây độc tế bào, hoặc chất gắn kết tế bào;  $X^1$ ,  $Y^1$ ,  $Q^1$ ,  $R_{12}$ ,  $R_{12}'$  đã được xác định như trên đây;  $r$  nằm trong khoảng từ 0 đến 100;

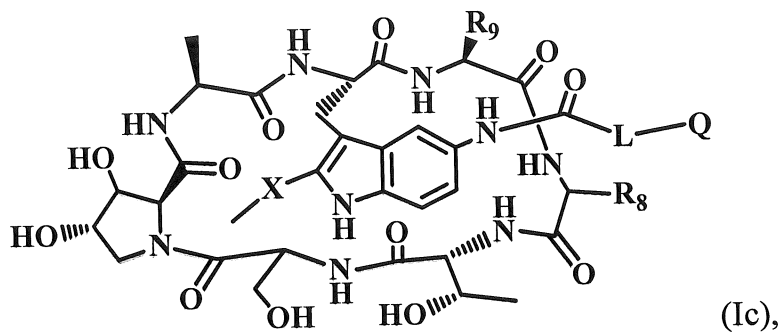
p và q độc lập bằng 0, 1, 2, 3, 4, 5 hoặc 6,

nhóm đệm (T) là alkyl, alkenyl, alkynyl hoặc aryl mạch thẳng, mạch nhánh hoặc mạch vòng có từ 1 đến 10 nguyên tử cacbon, hoặc nhóm đệm polyetylen glycol ( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ ); t bằng 0, hoặc nằm trong khoảng từ 1 đến 100, hoặc T được đóng vòng khi thủy phân liên kết amit, của amit axit 4-aminobutyric được thế và không được thế, hệ vòng [2.2.1] có hai vòng và hệ vòng [2.2.2] có hai vòng được thế hoặc không được thế hoặc amit axit 2-aminophenylpropionic,

Q là chất gắn kết tế bào hoặc nhóm chức có khả năng liên kết hợp chất có công thức (I) với chất gắn kết tế bào, hoặc nhóm chức có khả năng liên kết hợp chất có công thức (I) với nhóm liên kết được gắn trên chất gắn kết tế bào, nhóm chức này được chọn từ nhóm bao gồm thiol, amin, hydrazin, alkoxyamino, nhóm thế disulfua, maleimido, nhóm haloaxetyl, axit carboxy, este N-hydroxy succinimit, keton, este, aldehyt, alkynyl, alkenyl, và nhóm thiol hoặc disulfua được bảo vệ:  $\text{SAr}$ ,  $\text{SSR}_1$  hoặc  $\text{SSAr}$ , trong đó Ar là nhóm thơm hoặc nhóm dị thơm, chất gắn kết tế bào được chọn từ nhóm bao gồm các kháng thể và mảnh, mỗi kháng thể và mảnh chứa ít nhất một vị trí gắn kết, tế bào lymphô, hormon, yếu tố sinh trưởng, phân tử vận chuyển chất dinh dưỡng và các vitamin.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức (Ia) (Ib), và (Ic) sau đây:



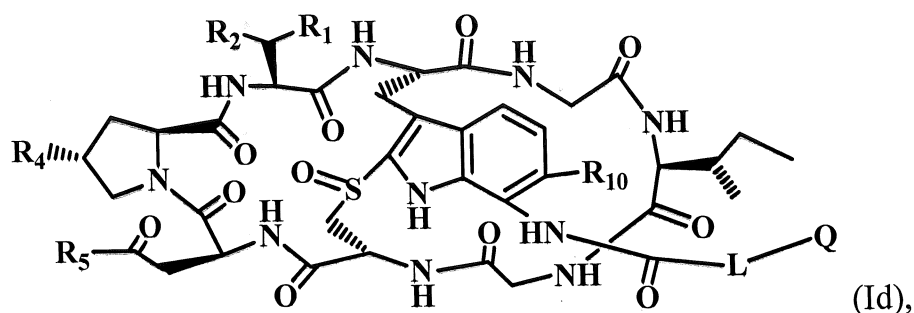


hoặc muối, hydrat, muối hydrat hoá được dụng, hoặc cấu trúc tinh thể đa hình của nó,

hoặc chất đồng phân dị cấu quang học, raxemat, chất đồng phân không đối quang hoặc chất đồng phân đối ảnh của nó,

trong đó  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_7$ ,  $R_8$ ,  $R_9$ ,  $R_{10}$ ,  $L$  và  $Q$  được xác định giống như trong điểm 1.

3. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức (Id) :

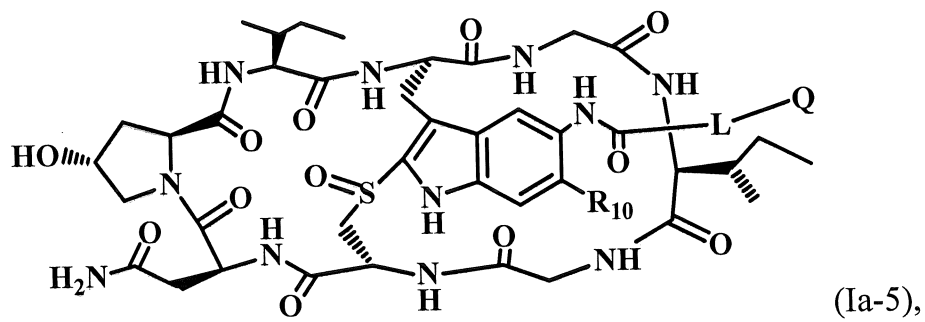
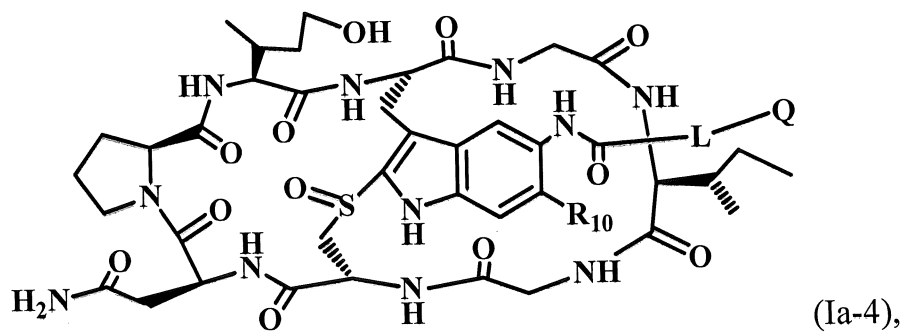
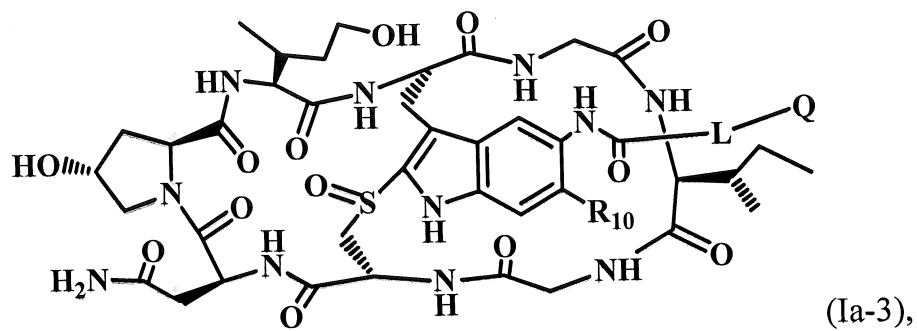
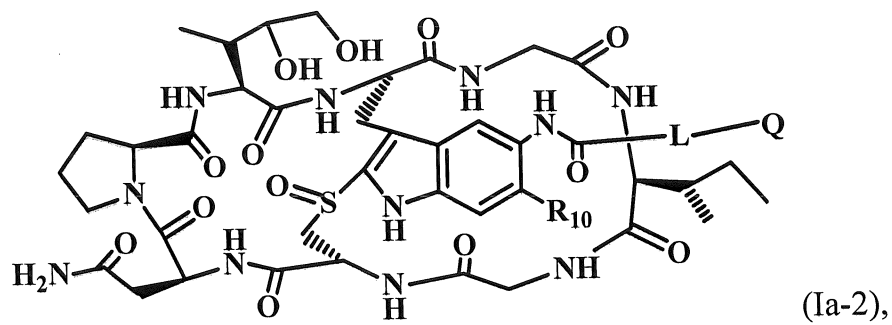
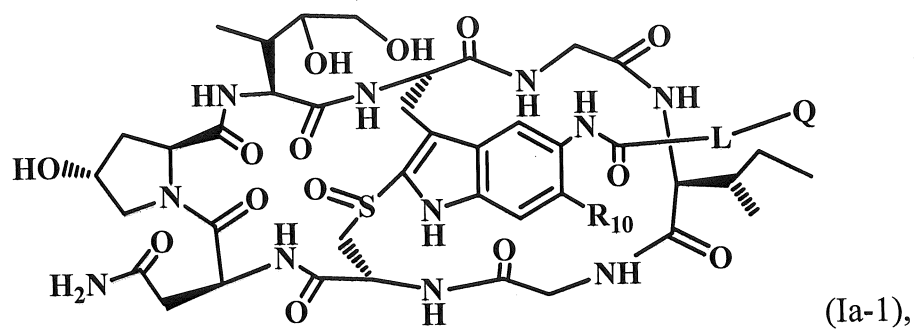


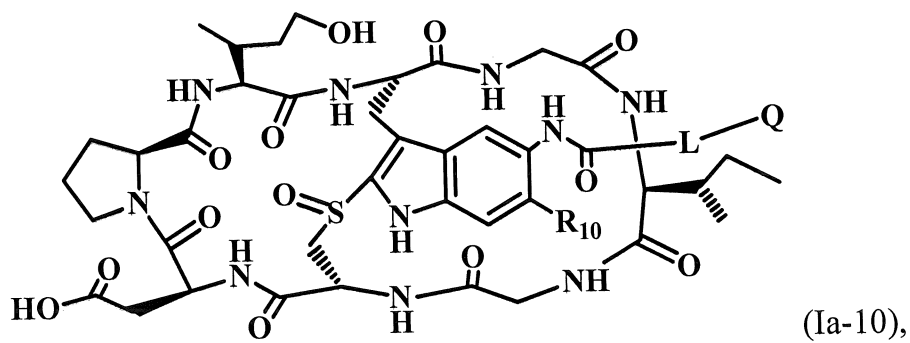
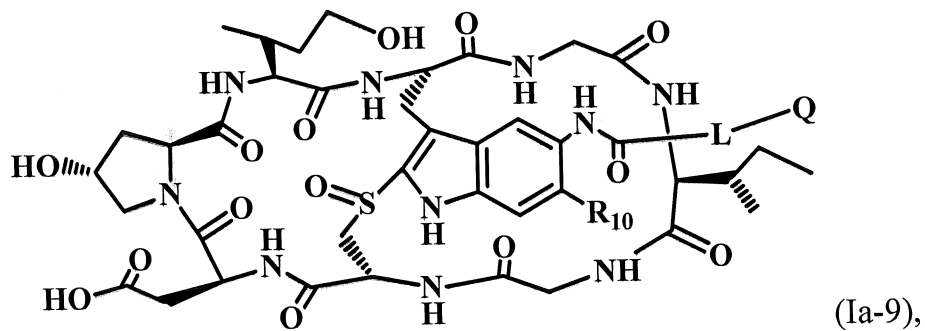
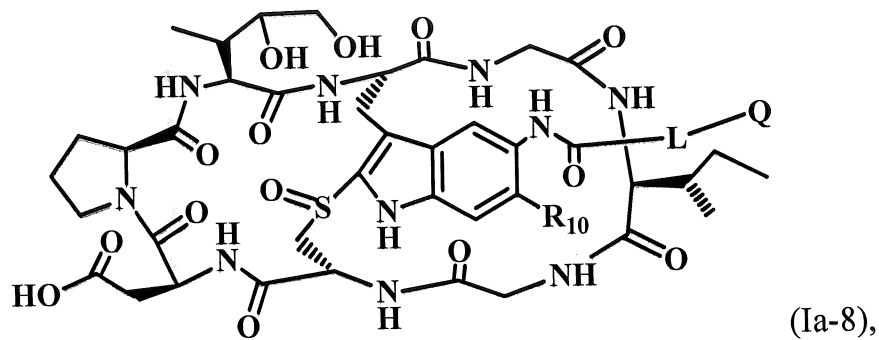
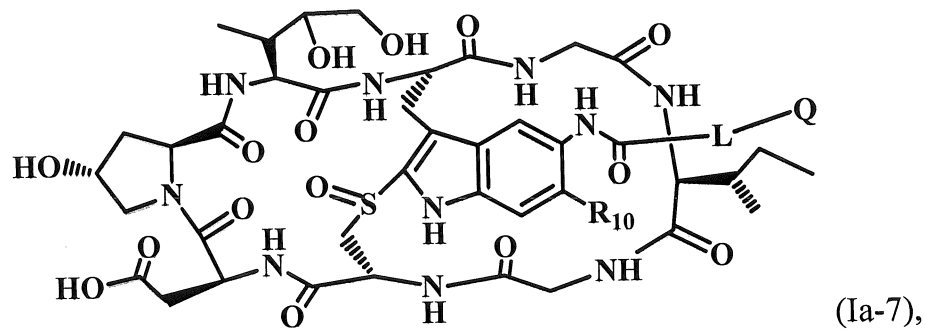
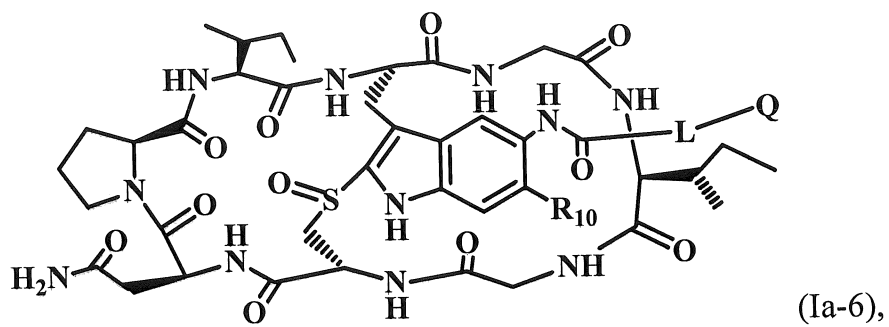
hoặc muối, hydrat, hoặc muối hydrat hoá được dụng, hoặc cấu trúc tinh thể đa hình của nó,

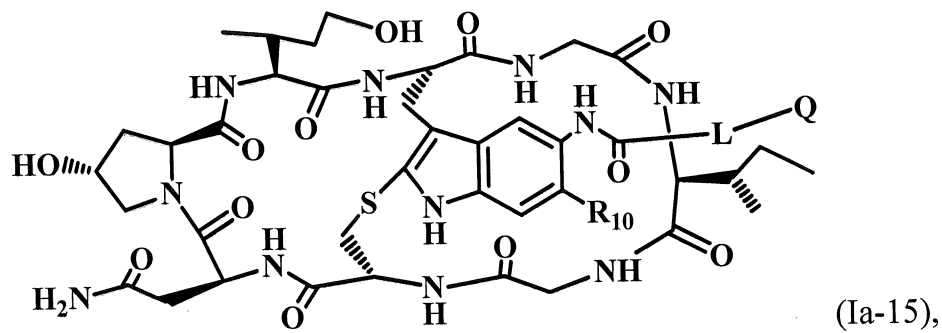
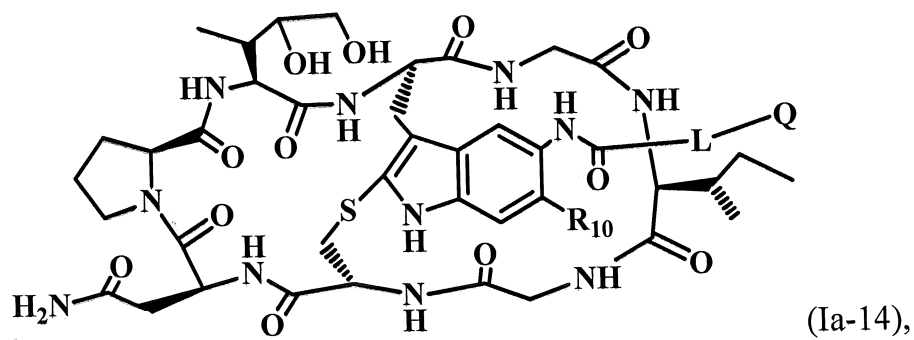
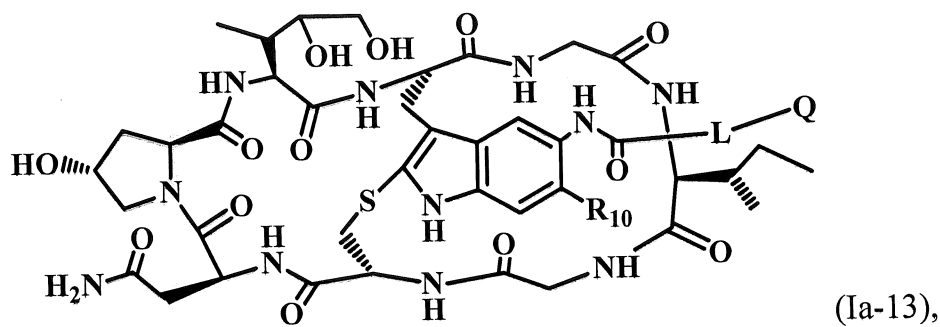
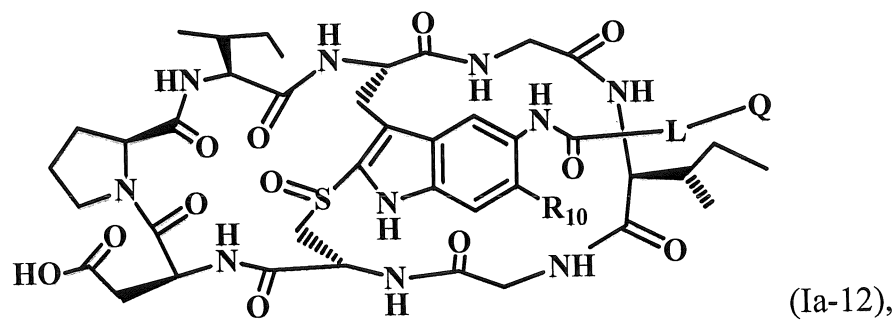
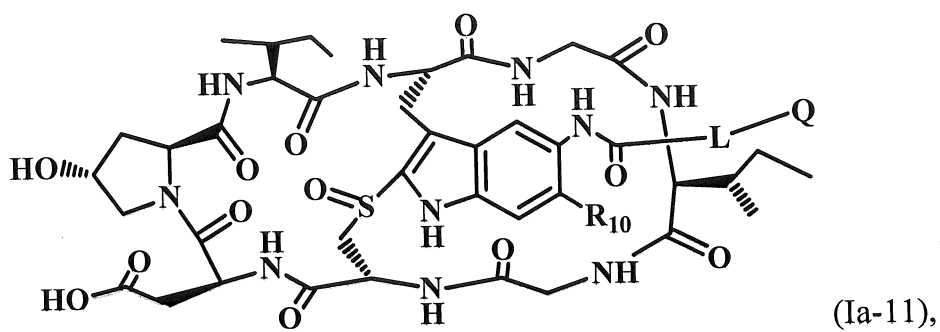
hoặc chất đồng phân dị cấu quang học, raxemat, chất đồng phân không đối quang hoặc chất đồng phân đối ảnh của nó,

trong đó  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_{10}$ ,  $L$  và  $Q$  được xác định giống như trong điểm 1.

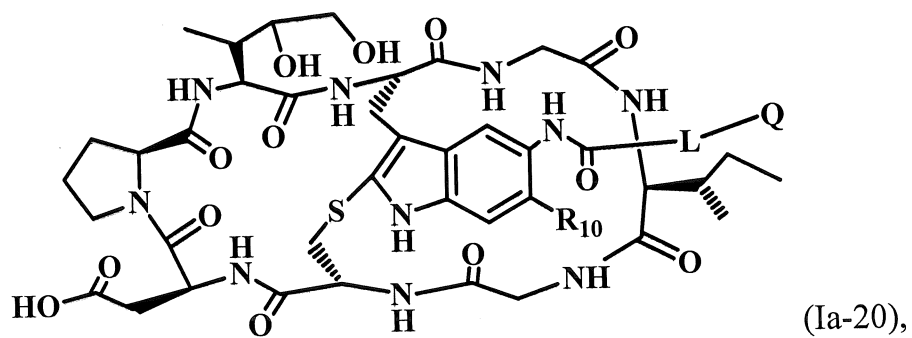
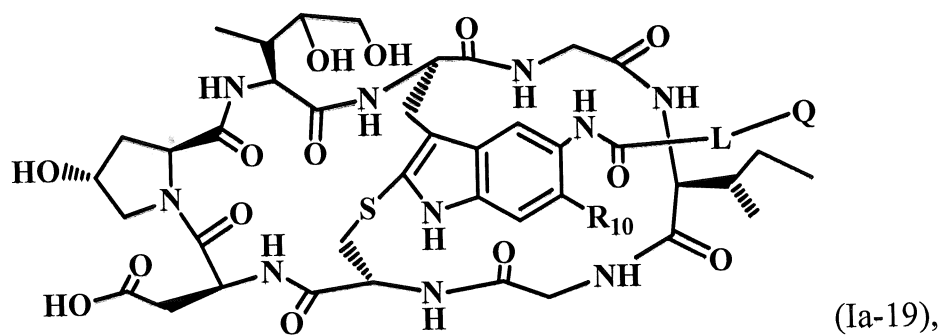
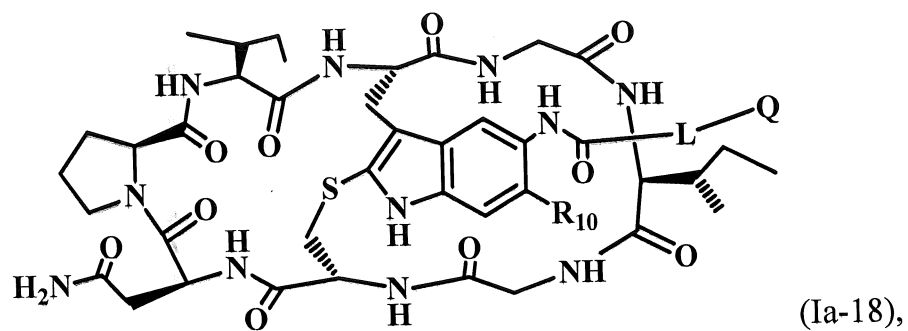
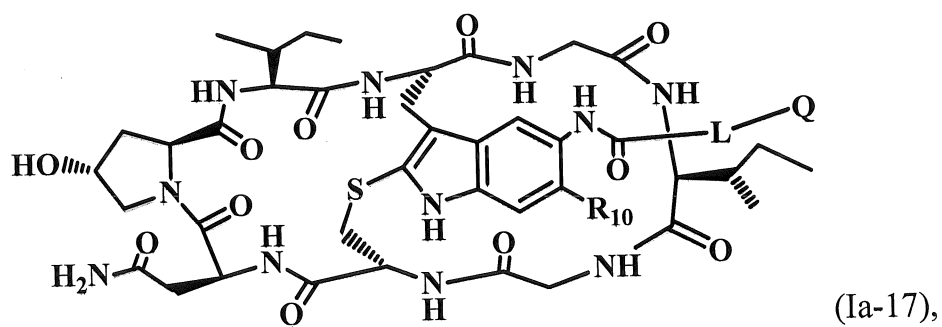
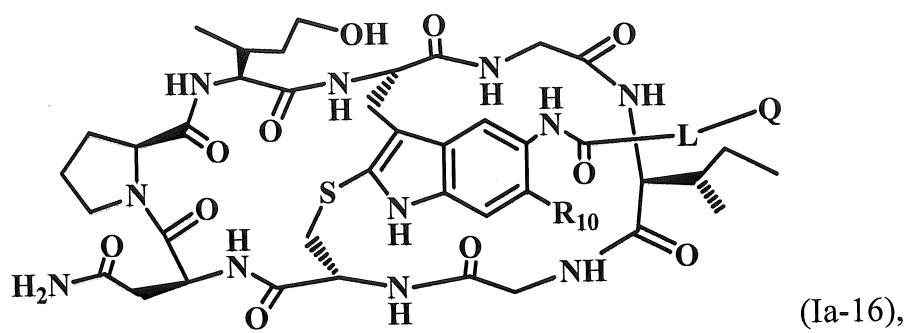
4. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức (Ia-1), (Ia-2), (Ia-3), (Ia-4), (Ia-5), (Ia-6), (Ia-7), (Ia-8), (Ia-9), (Ia-10), (Ia-11), (Ia-12), (Ia-13), (Ia-14), (Ia-15), (Ia-16), (Ia-17), (Ia-18), (Ia-19), (Ia-20), (Ia-21), (Ia-22), (Ia-23), (Ia-24), (Ib-1), (Ib-2), (Ib-3), (Ib-4), (Ib-5), (Ib-6), (Ib-7), (Ic-1), (Ic-2), (Ic-3), (Ic-4), (Ic-5), hoặc (Ic-6) sau đây:

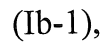
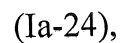
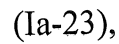
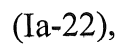
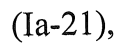


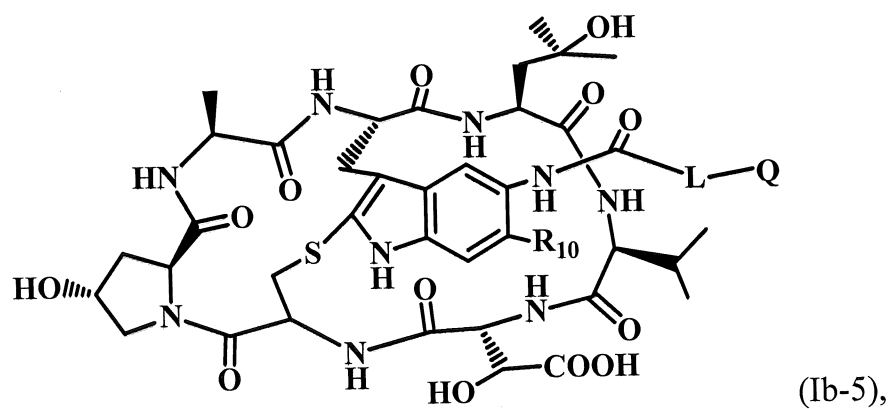
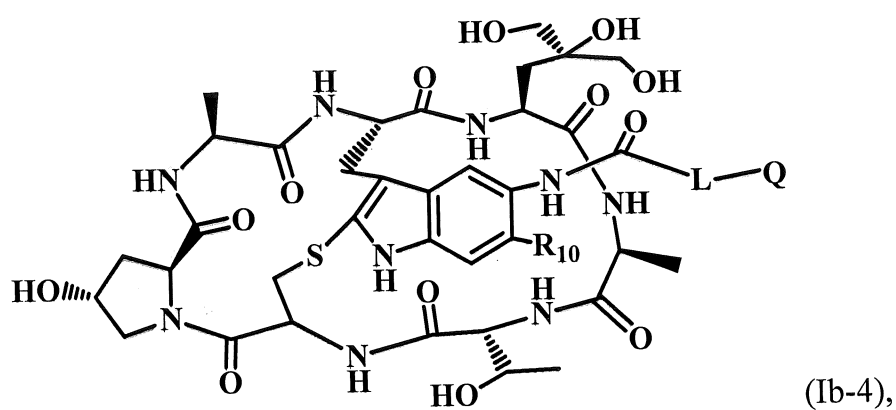
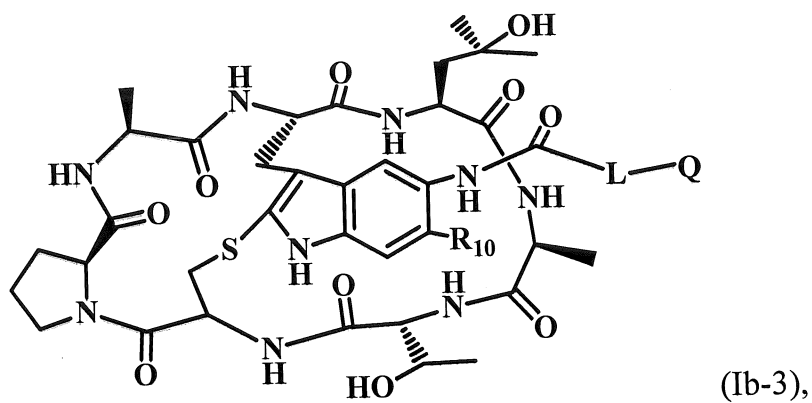
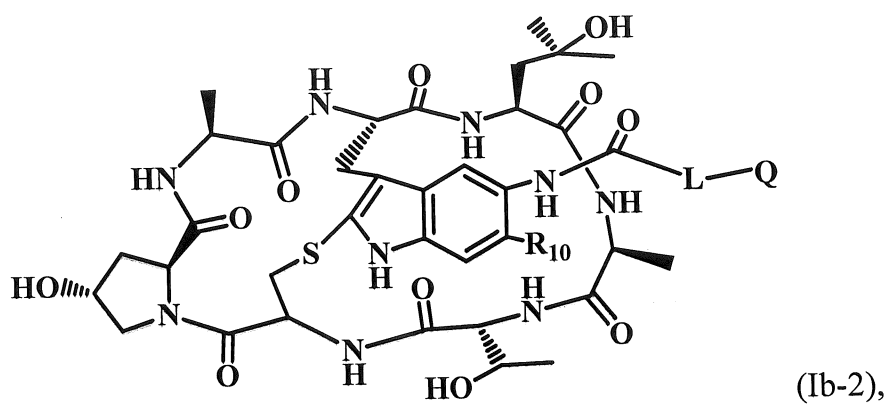


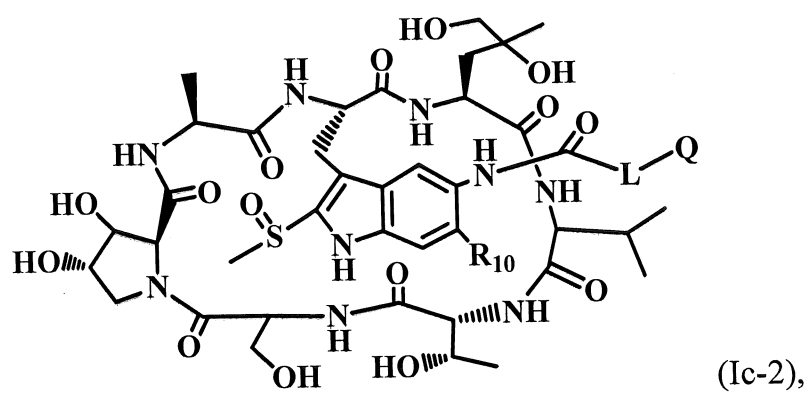
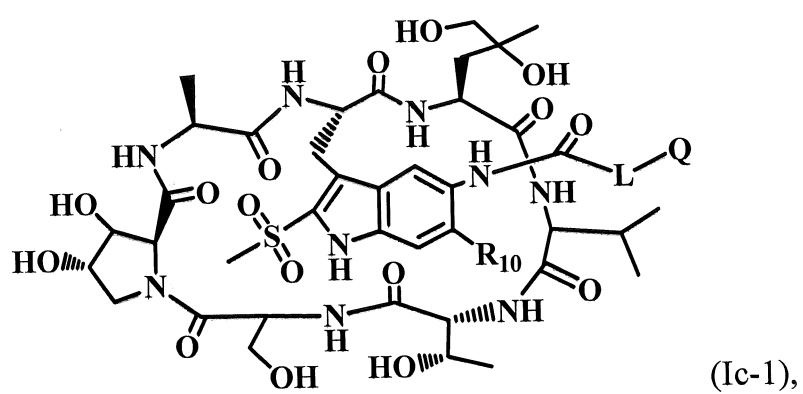
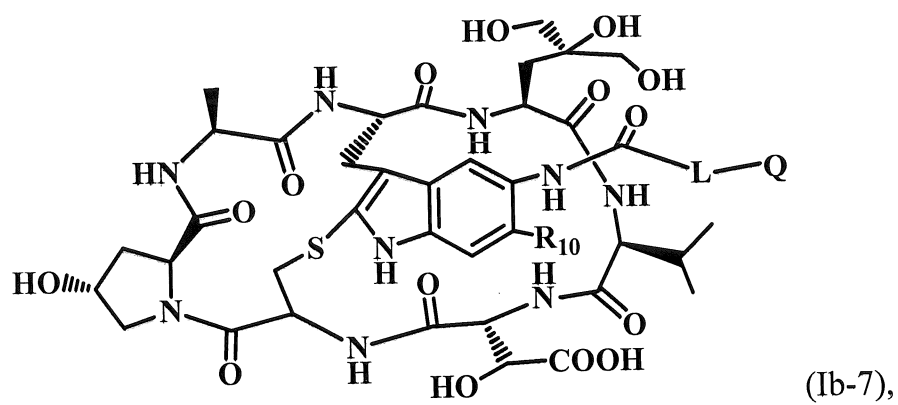
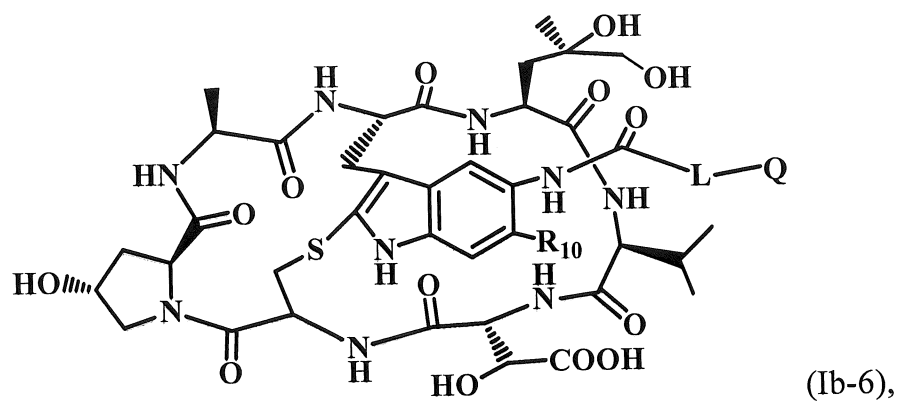


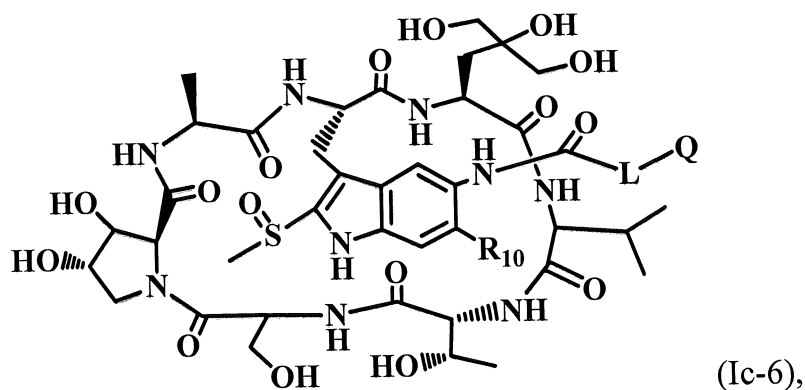
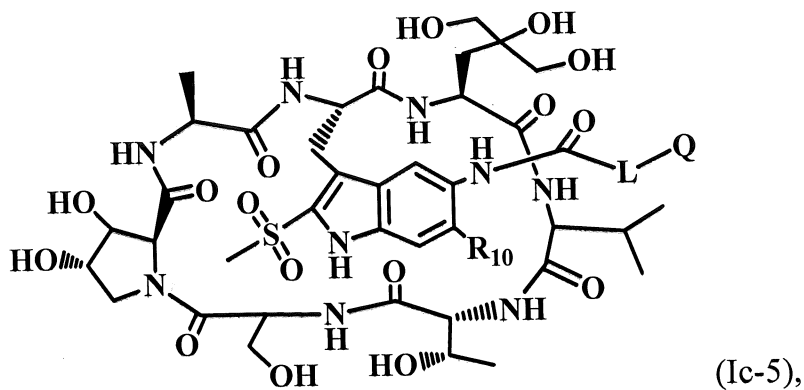
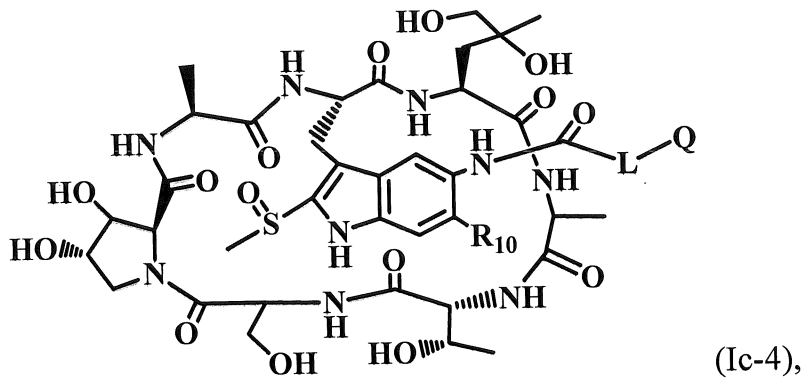
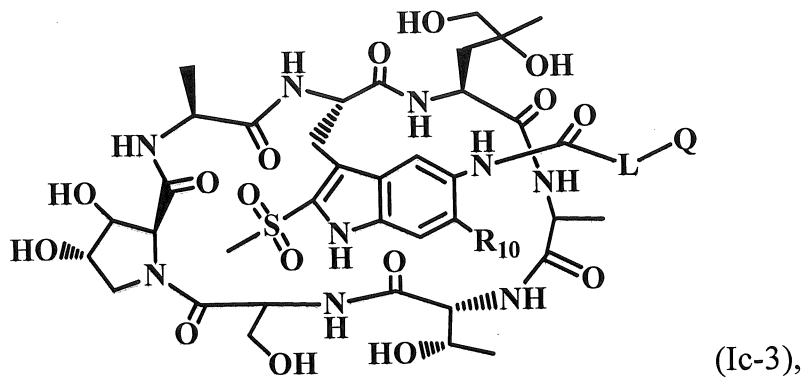










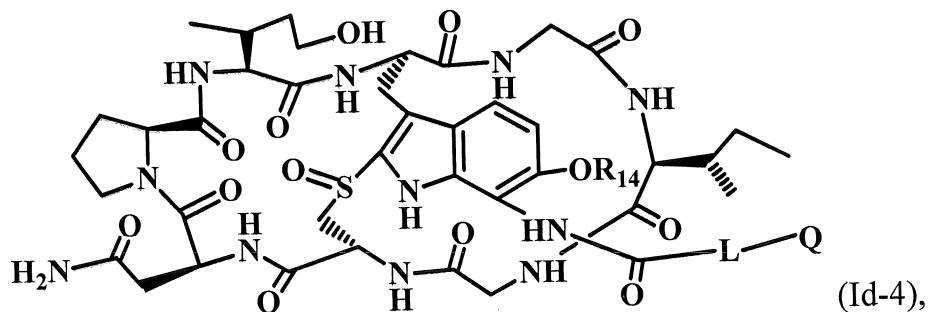
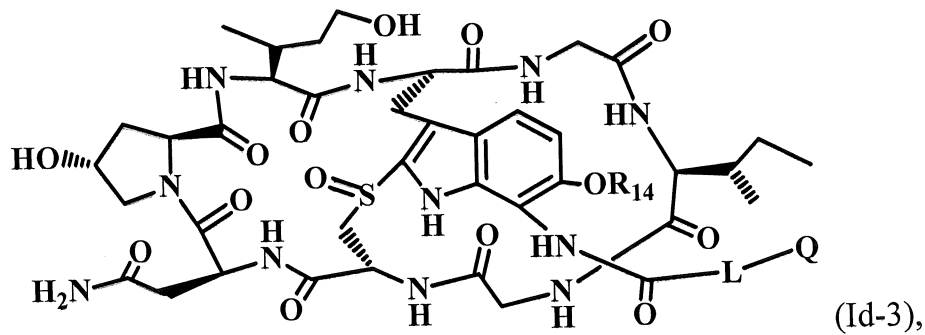
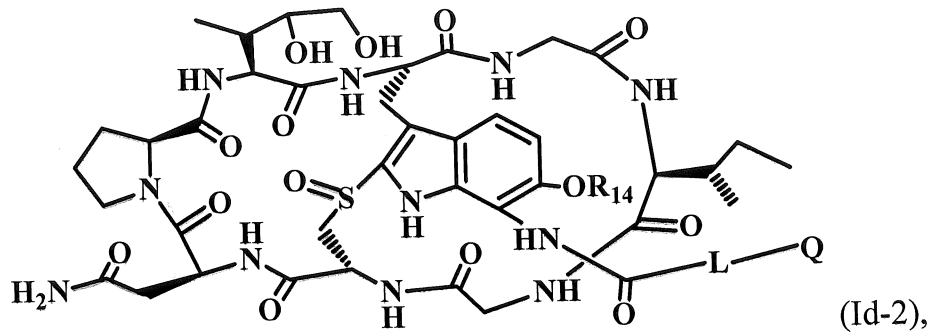
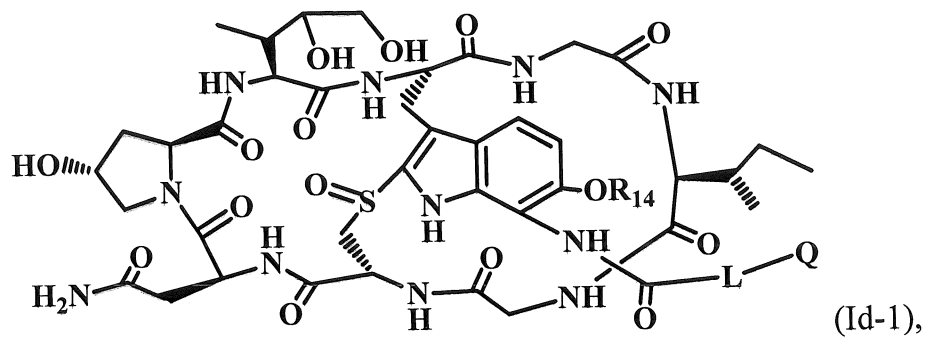


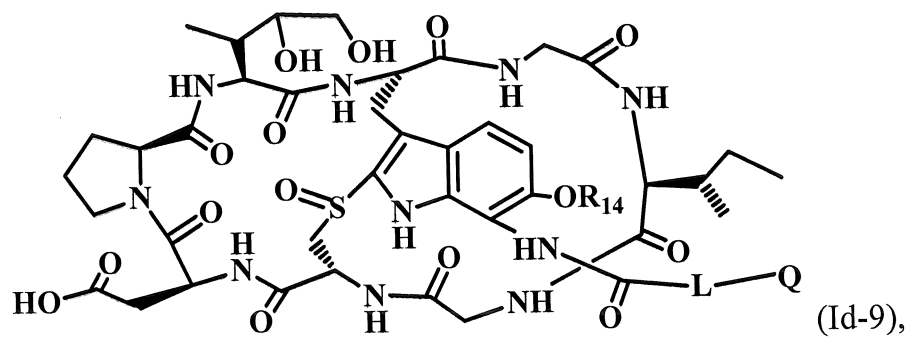
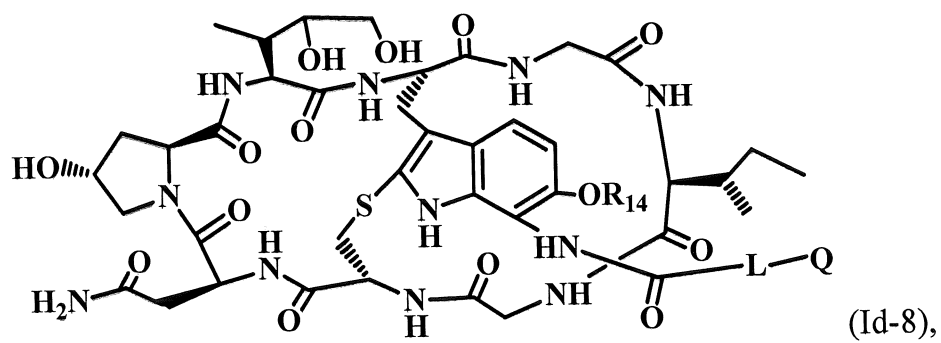
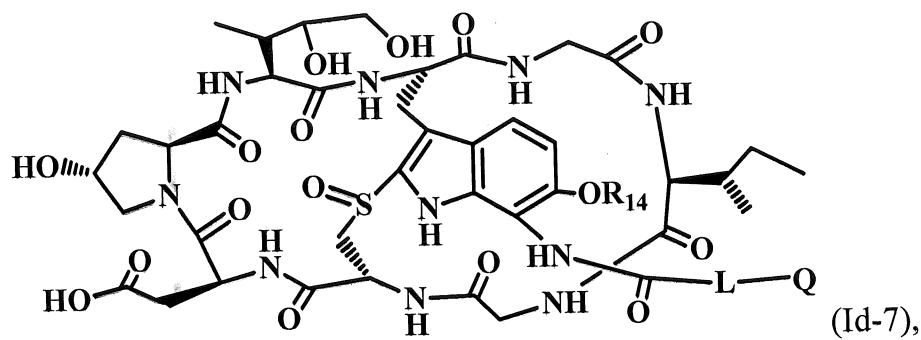
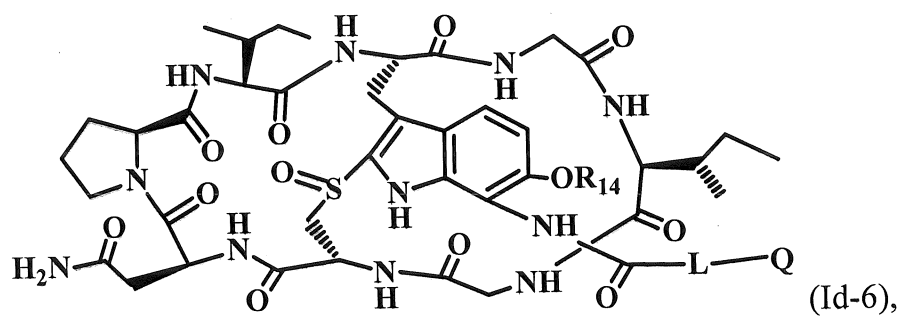
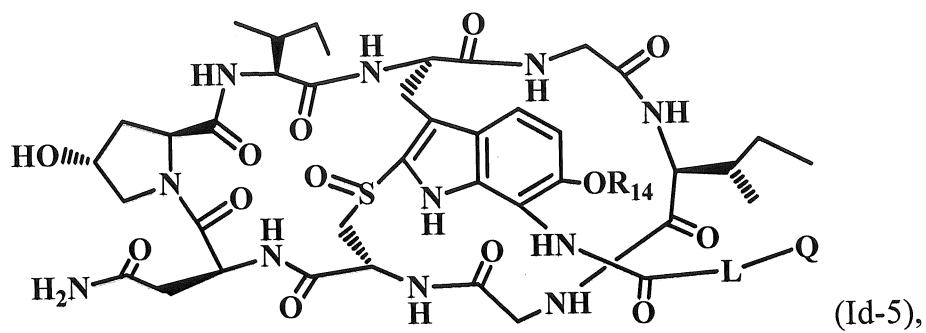
hoặc muối, hydrat, hoặc muối hydrat hoá được dụng, hoặc cấu trúc tinh thể đa hình của nó,

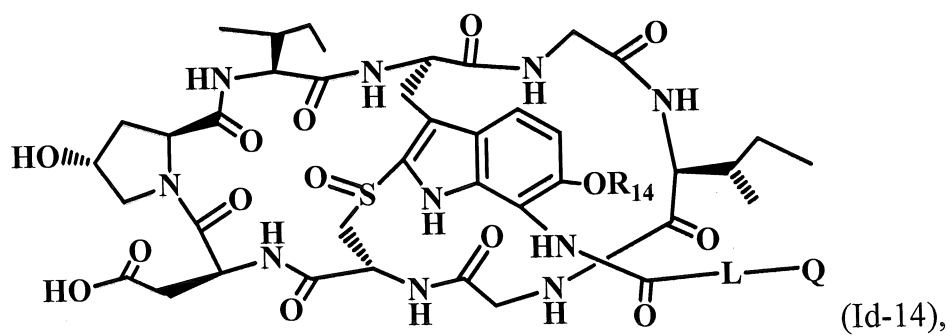
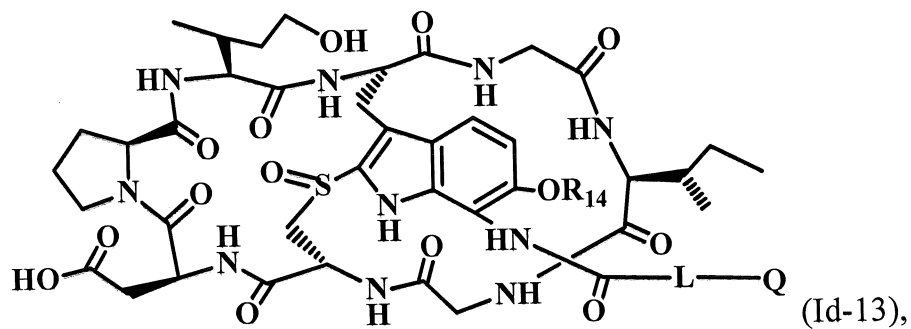
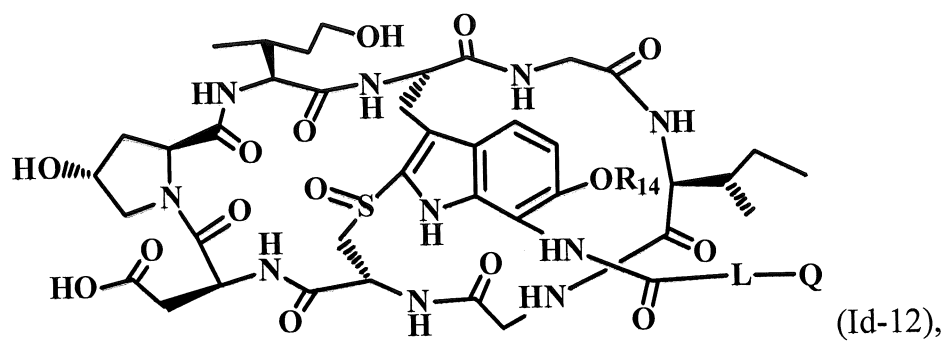
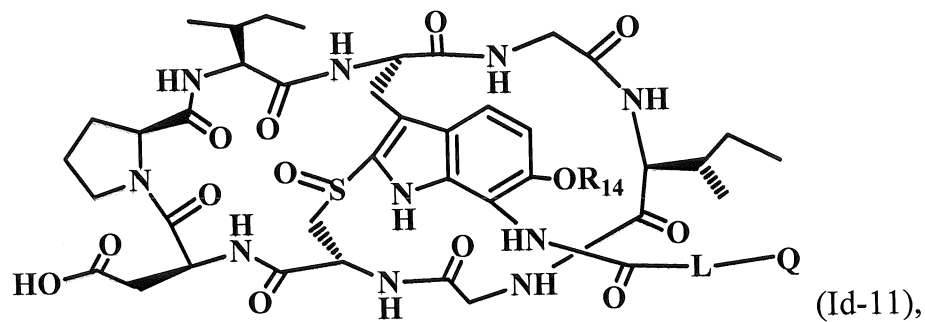
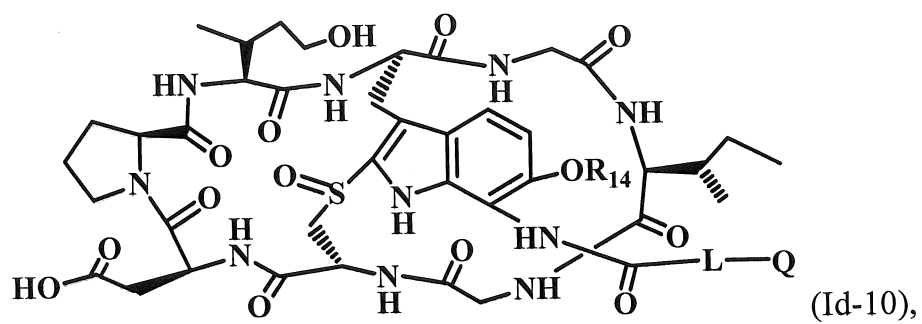
hoặc chất đồng phân dị cấu quang học, raxemat, chất đồng phân không đối quang hoặc chất đồng phân đối ảnh của nó,

trong đó  $R_{10}$ , L và Q được xác định giống như trong điểm 1.

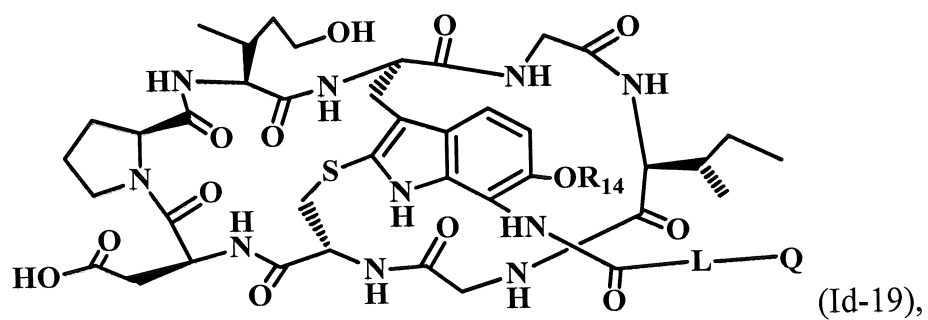
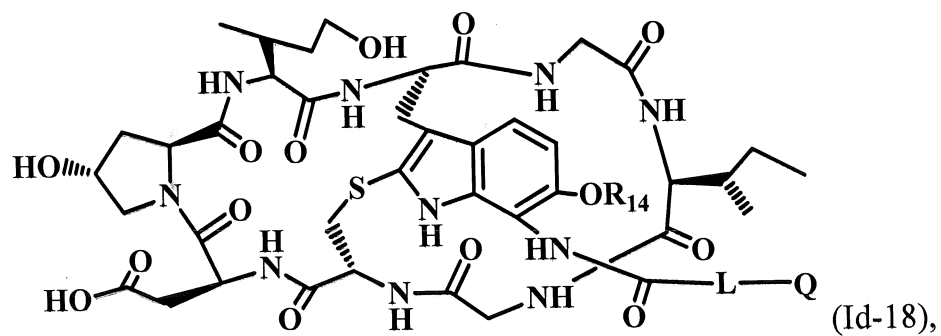
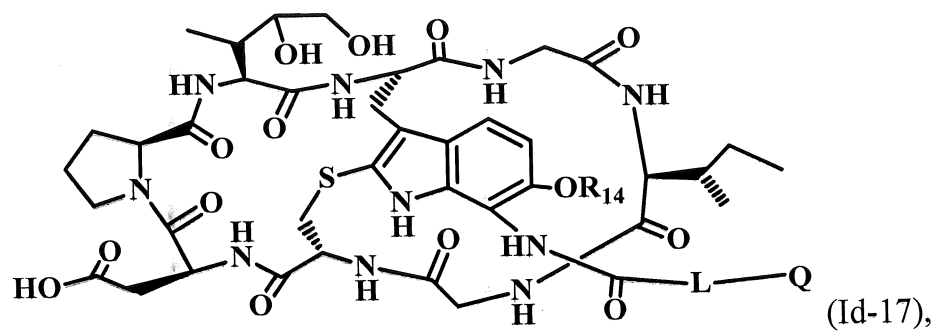
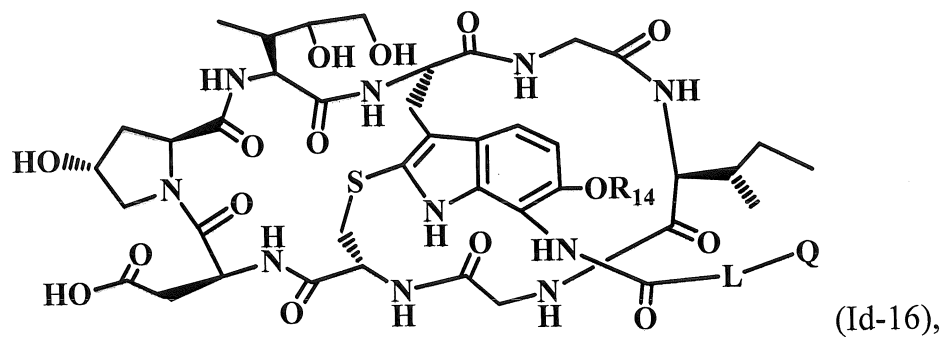
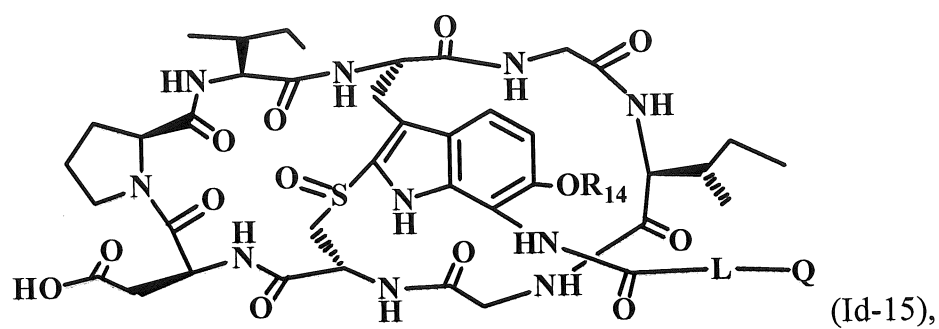
5. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức (Id-1), (Id-2), (Id-3), (Id-4), (Id-5), (Id-6), (Id-7), (Id-8), (Id-9), (Id-10), (Id-11), (Id-12), (Id-13), (Id-14), (Id-15), (Id-16), (Id-17), (Id-18), (Id-19), (Id-20), hoặc (Id-21) sau đây:

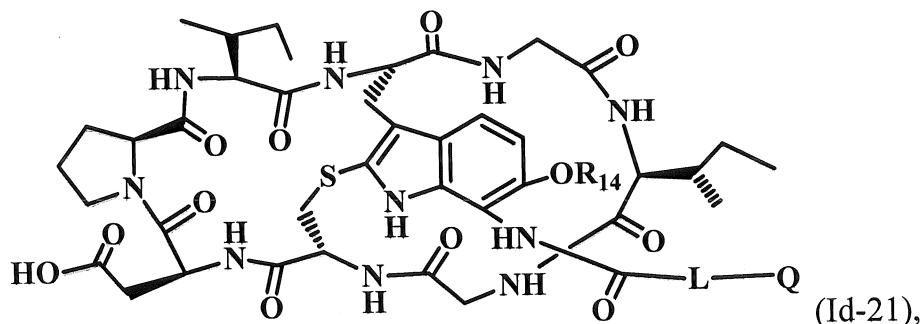
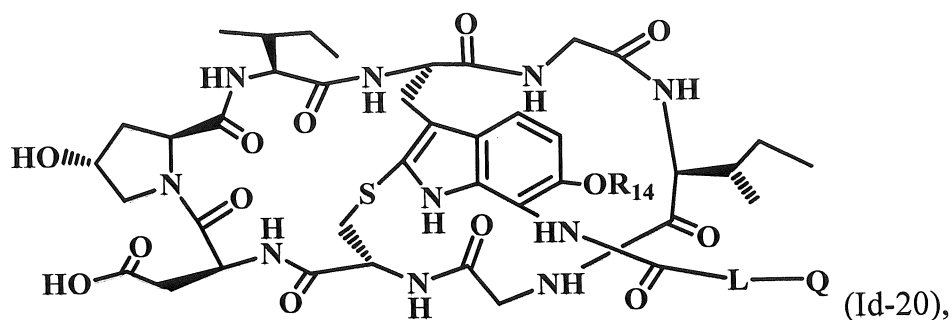








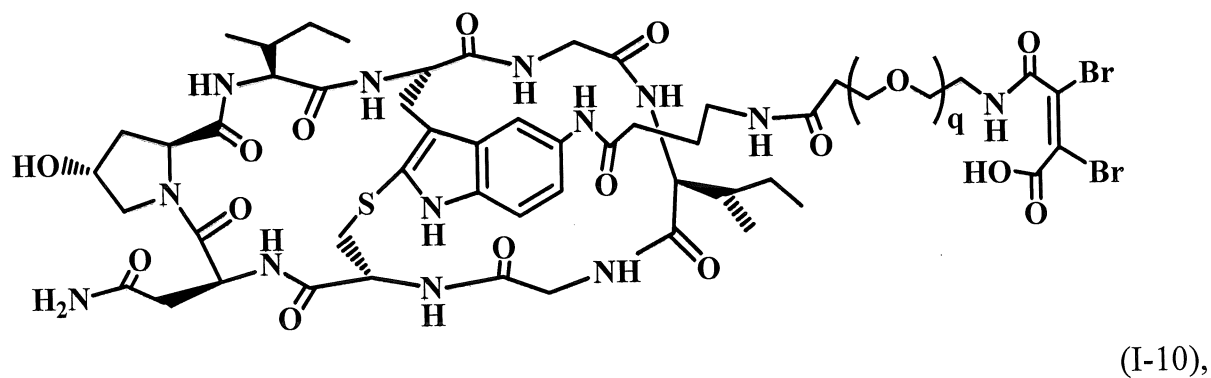
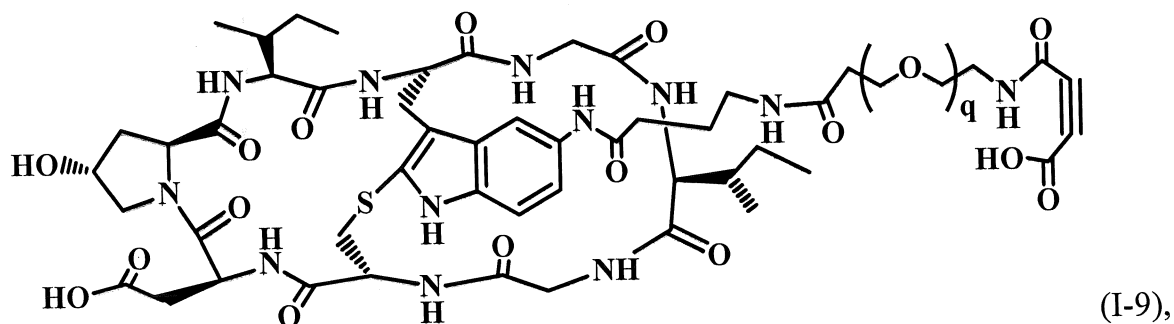
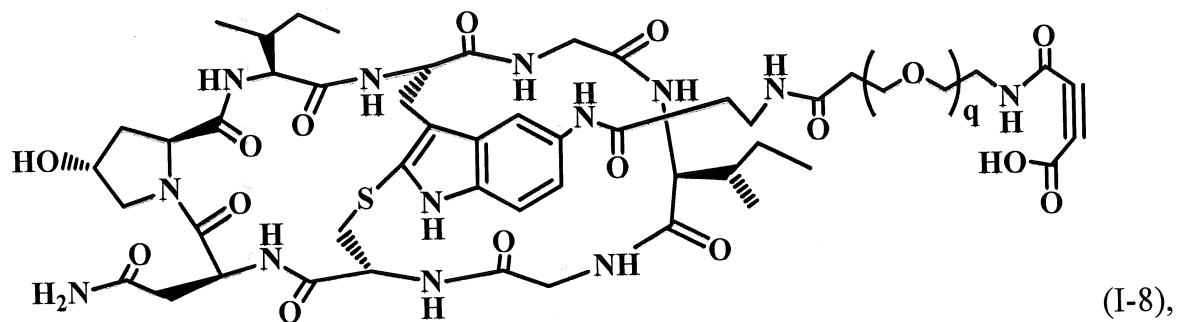
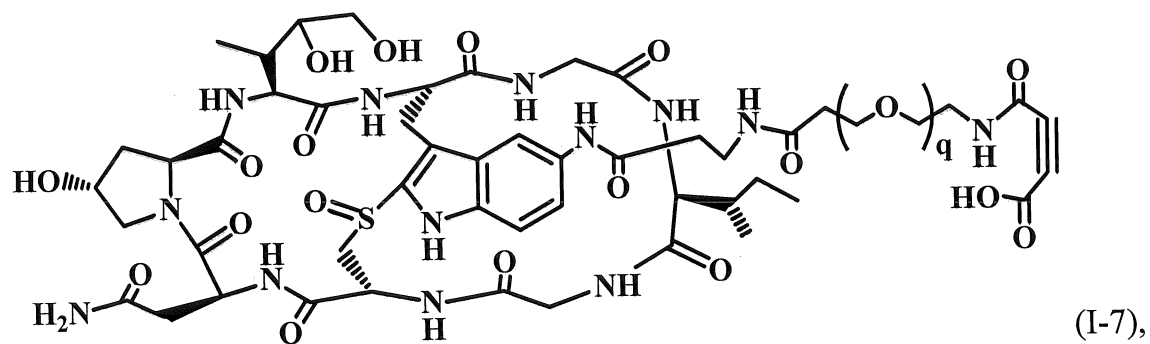
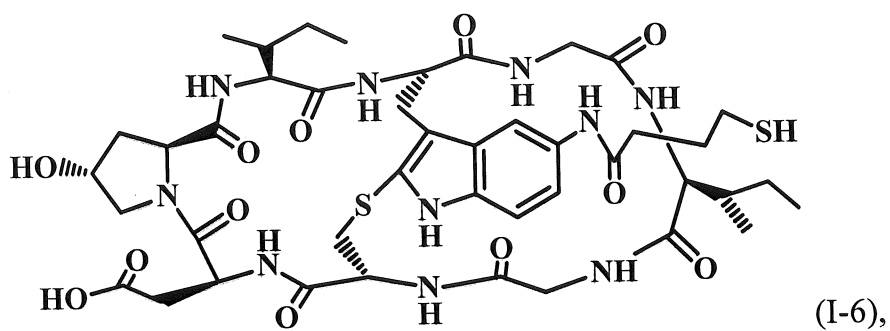


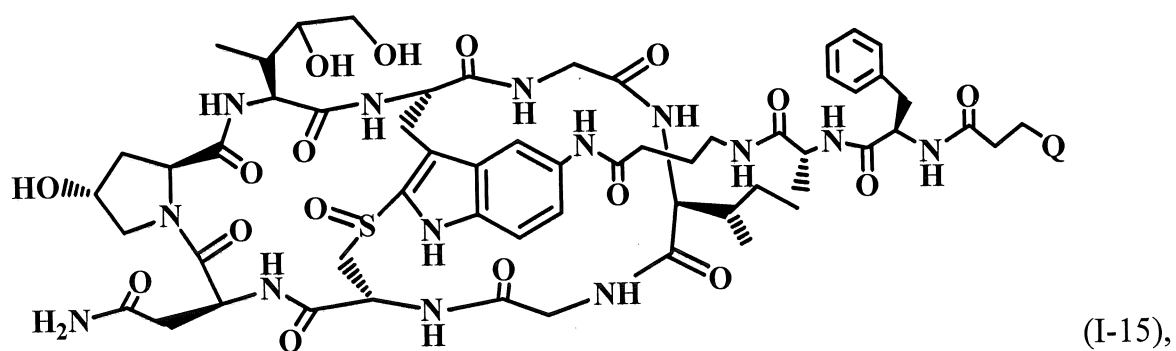
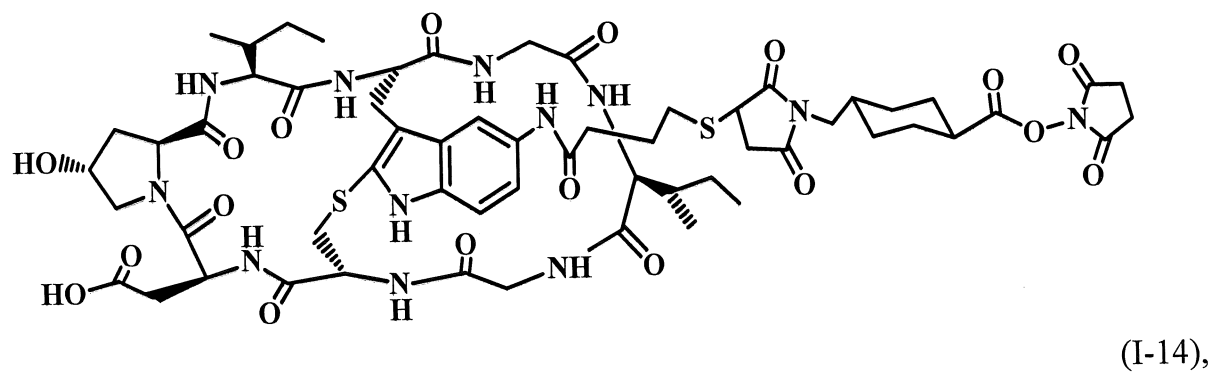
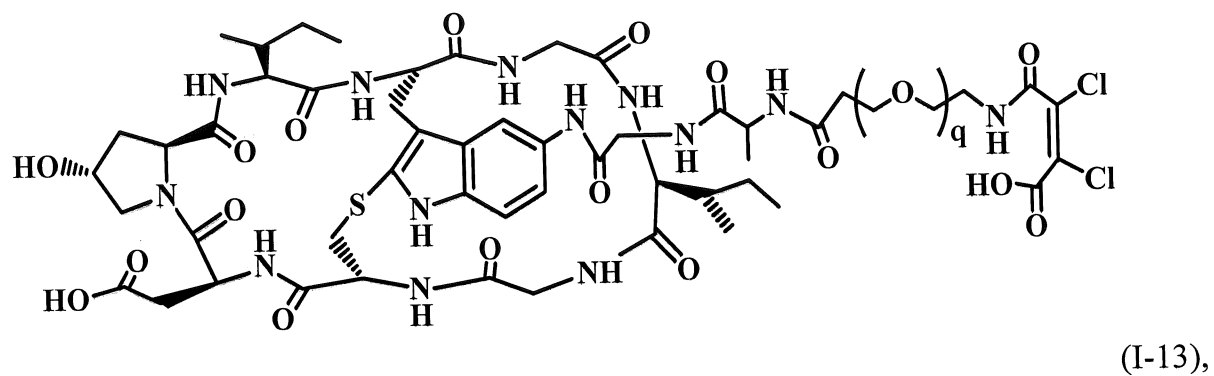
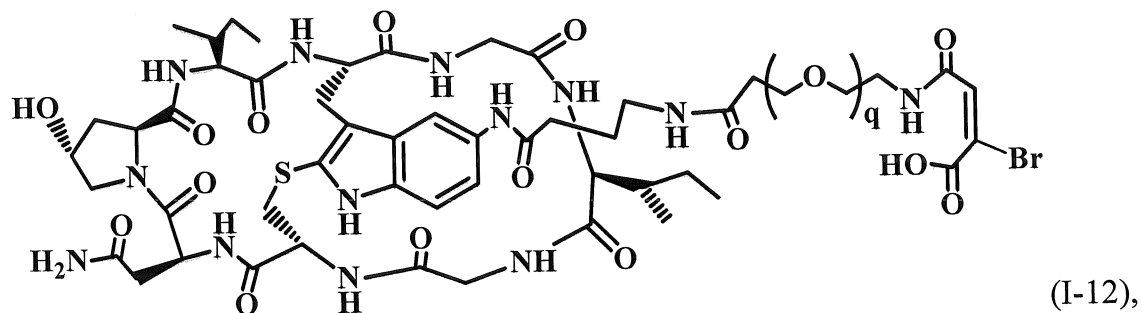
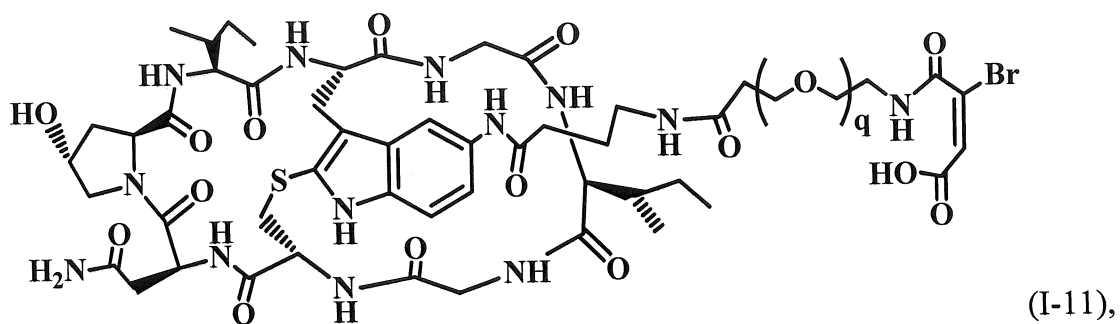


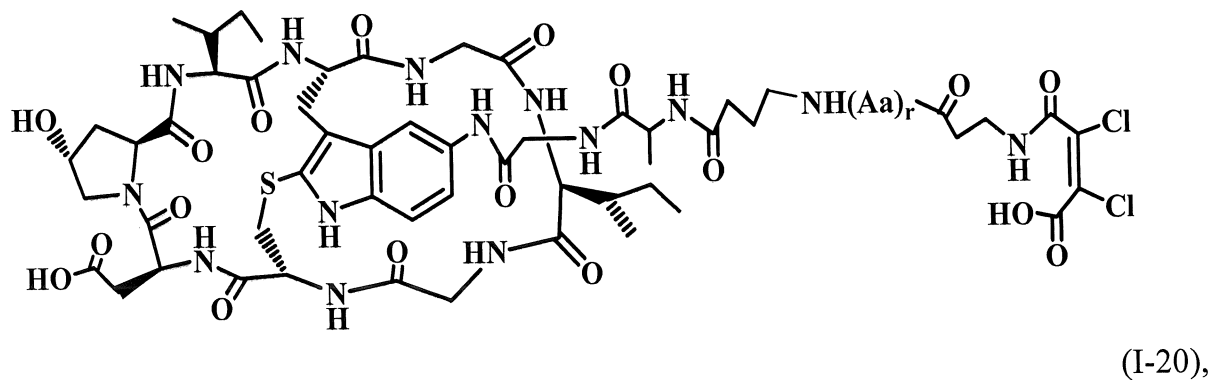
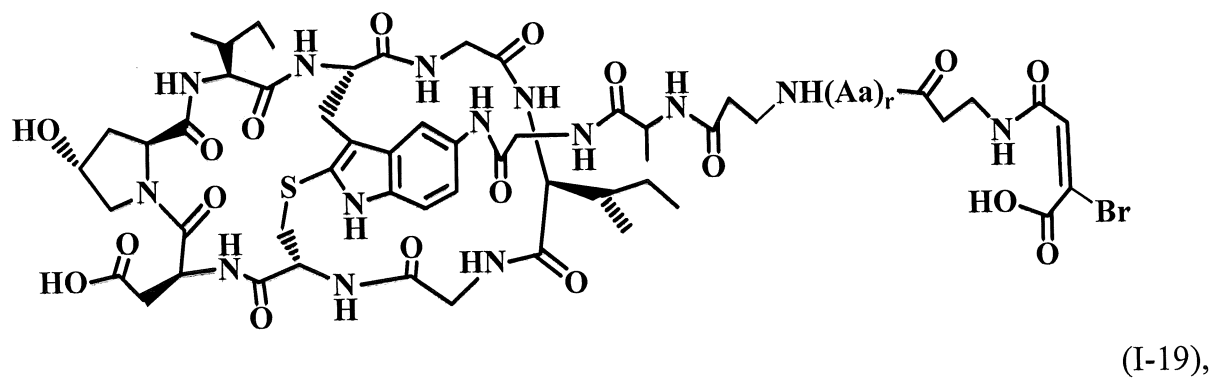
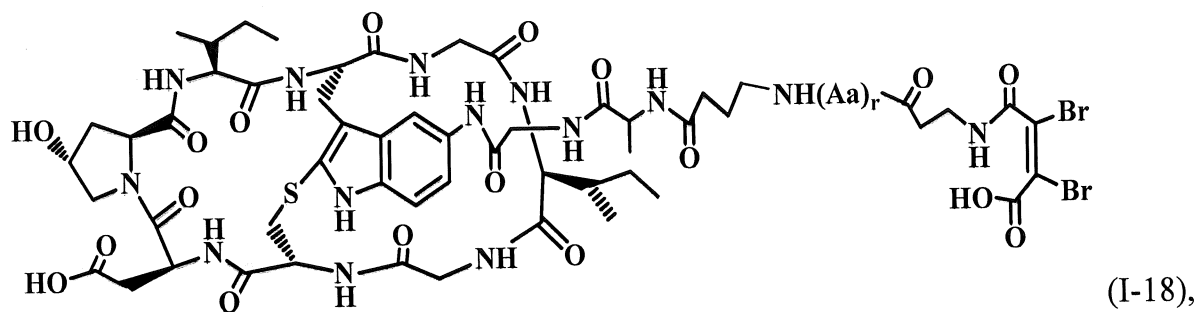
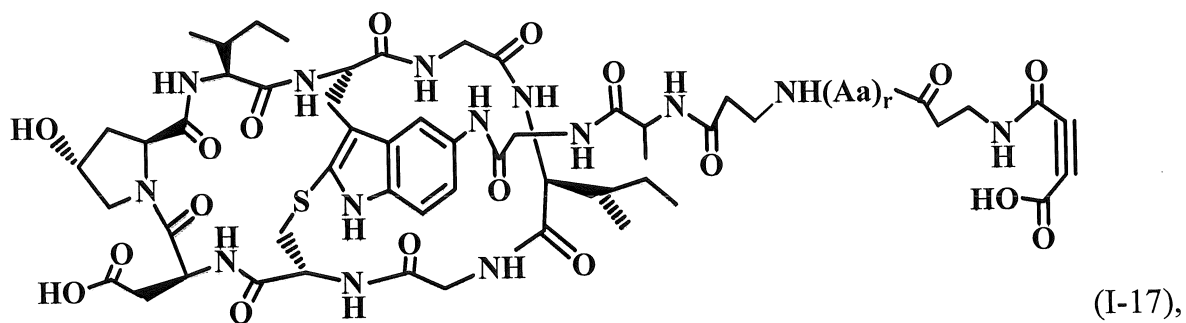
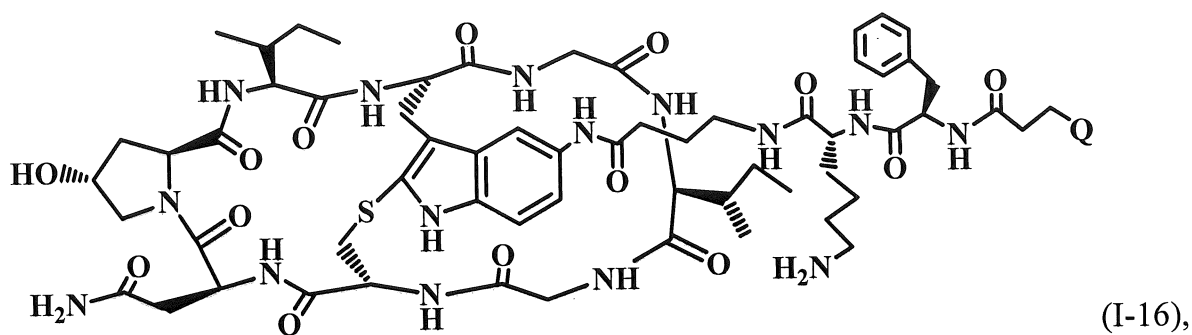
trong đó L và Q được xác định giống như trong điểm 1,  $R_{14}$  là  $H$ ,  $PO_3^{2-}$ ,  $SO_3^-$ ,  $R_{12}$ ,  $-COR_{12}$ ,  $-COCH_3$ ,  $-COOR_{12}$ ,  $-CONR_{12}R_{12}'$ ,  $-C(=O)R_{12}NH(Aa)_t$ , trong đó Aa là axit amin hoặc polypeptit, t nằm trong khoảng từ 0 đến 100;  $-CSNHR_{12}$  (thiocarbamat);  $-SOR_{12}$  (sulfoxit);  $-SO_2R_{12}$  (sulfon);  $-SO_3^-$ ,  $HSO_3^-$ ,  $HSO_2^-$ , hoặc muối của  $HSO_3^-$ ,  $SO_3^{2-}$  hoặc  $-HSO_2^-$  (sulphit);  $P(O)(OM_1)(OM_2)$ ,  $CH_2OP(O)(OM_1)(OM_2)$ ,  $SO_3M_1$ ; glycosit (glucosit, galactosit, manosit, glucuronosit, alosit, fructosit),  $M_1$  và  $M_2$  độc lập là  $H$ ,  $Na$ ,  $K$ ,  $Ca$ ,  $Mg$ ,  $NH_4$ ,  $NR_1'R_2'R_3'$ ;  $R_1'$ ,  $R_2'$  và  $R_3'$  độc lập là  $H$ ,  $C_1\sim C_8$  alkyl.

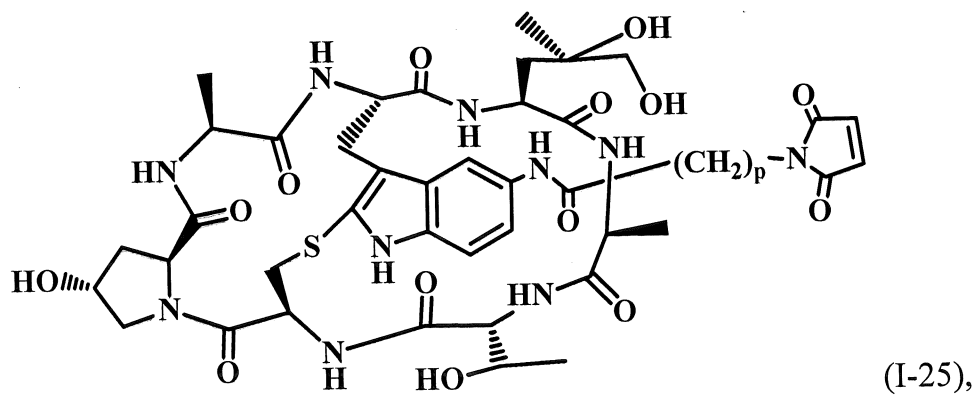
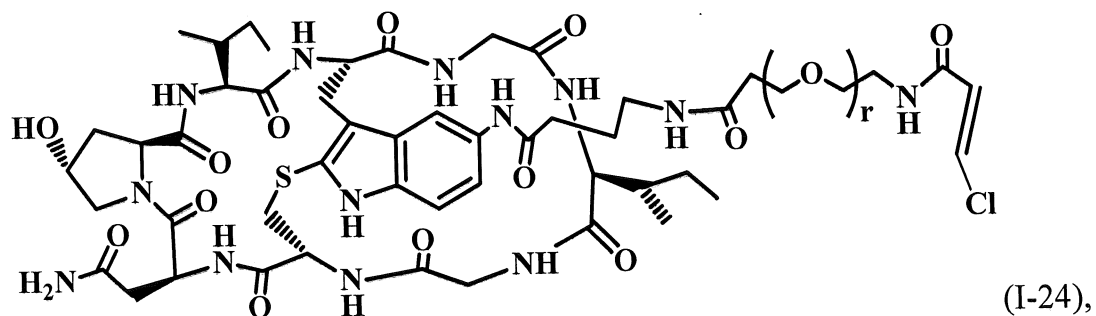
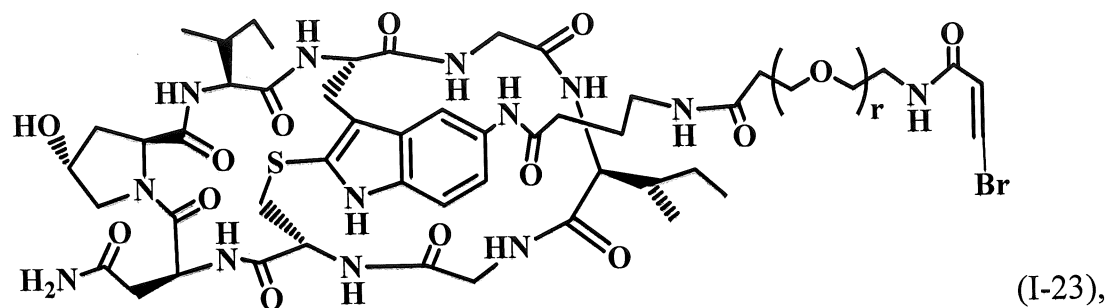
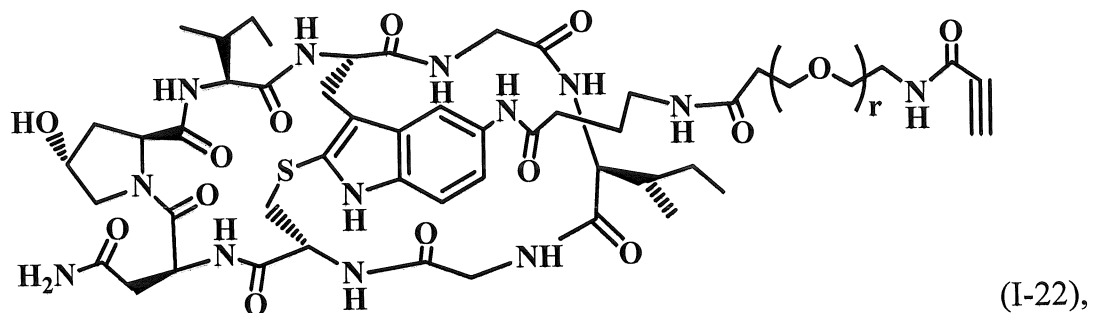
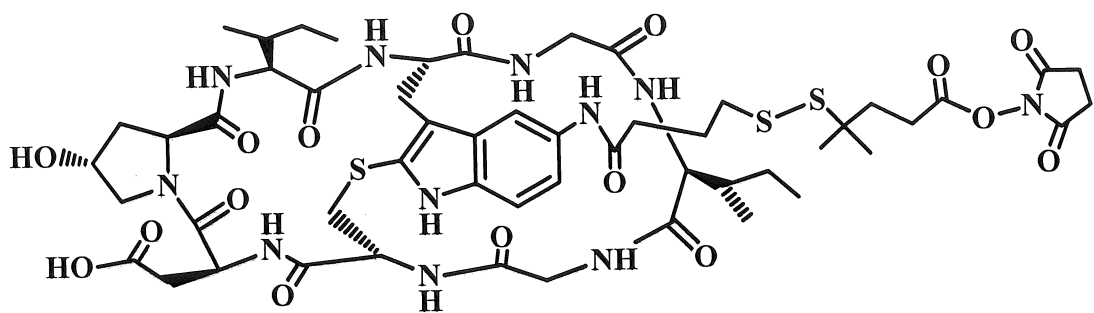
6. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức (I-1), (I-2), (I-3), (I-4), (I-5), (I-6), (I-7), (I-8), (I-9), (I-10), (I-11), (I-12), (I-13), (I-14), (I-15), (I-16), (I-17), (I-18), (I-19), (I-20), (I-21), (I-22), (I-23), (I-24), (I-25), (I-26), (I-27), (I-28), (I-29), (I-30), (I-31), (I-32), (I-33), (I-34), (I-35), (I-36), (I-37), (I-38), (I-39), (I-40), (I-41), (I-42), (I-43), (I-44), (I-45), (I-46), (I-47), (I-48), (I-49), (I-50), (I-51), (I-52), (I-53), (I-54), (I-55), (I-56), (I-57), (I-58), (I-59), (I-60), (I-61), (I-62), (I-63), (I-64), (I-65), (I-66), (I-67), (I-68), (I-69), (I-70), (I-71), (I-72), (I-73), (I-74), (I-75), (I-76), (I-77), (I-78), (I-79), (I-80), (I-81), (I-82), (I-83), (I-84), (I-85), (I-86), (I-87), (I-88), (I-89), (I-90), (I-91), (I-92), (I-93), (I-94), (I-95), (I-96) hoặc (I-97) sau đây:

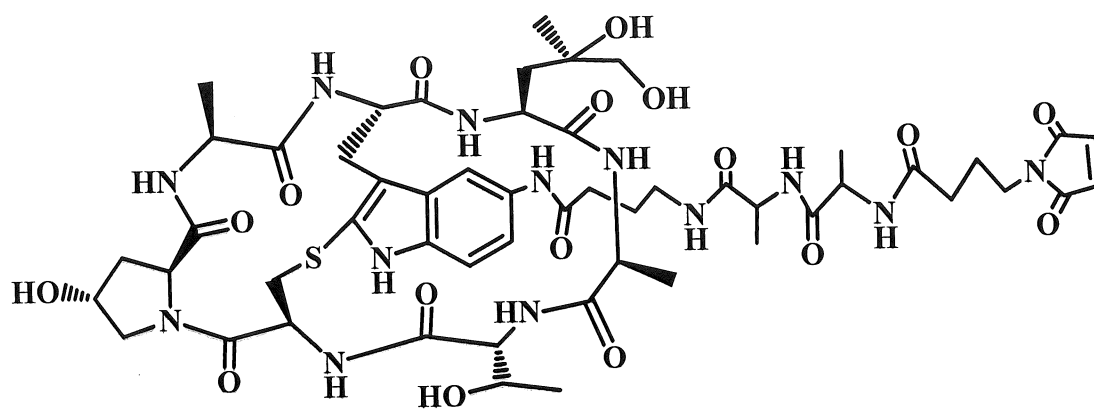




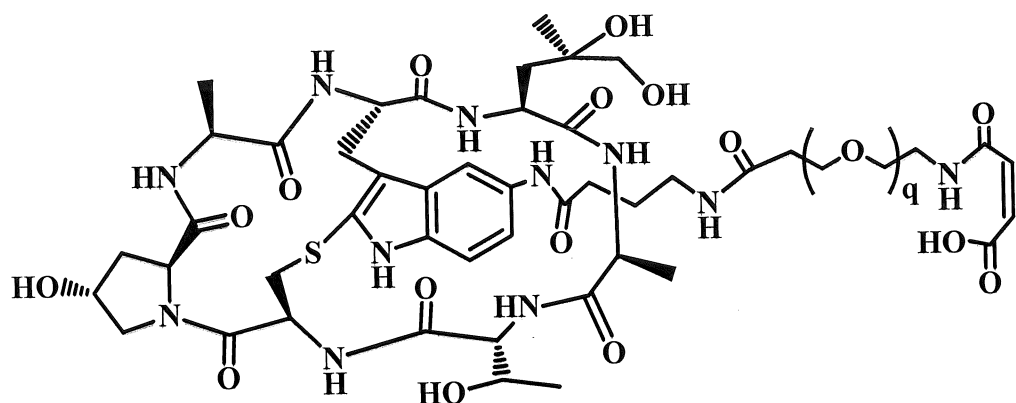




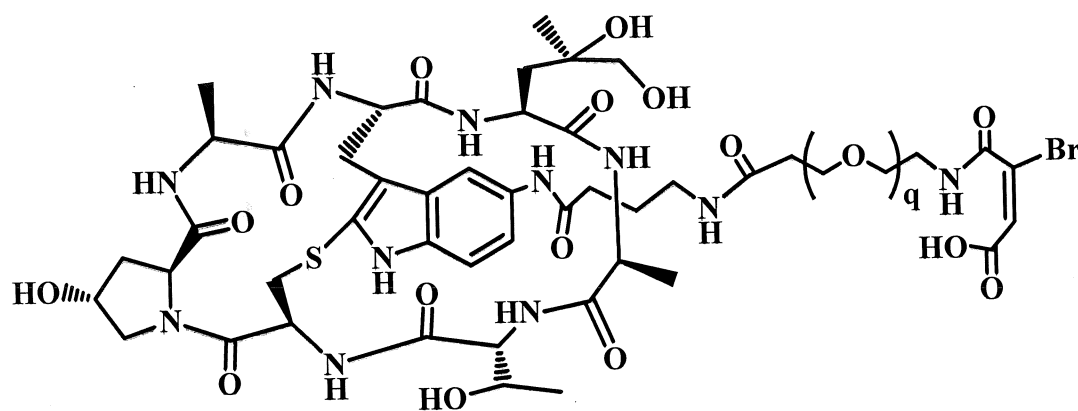




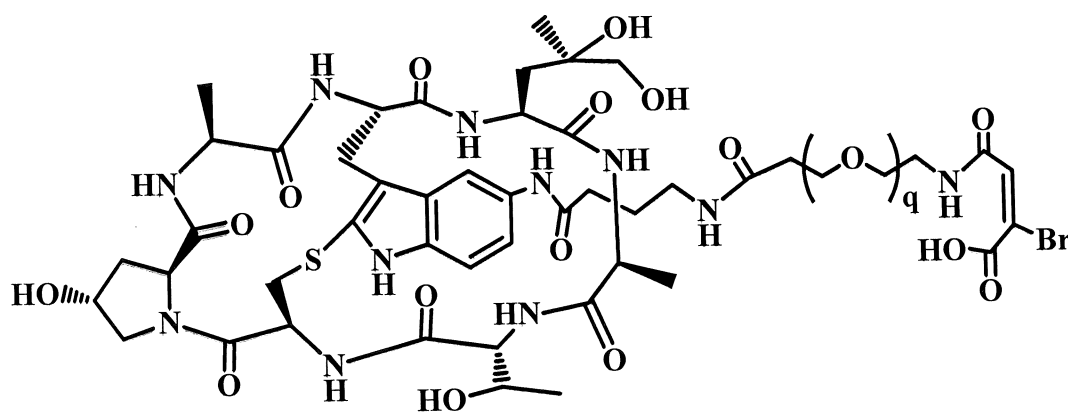
(I-26),



(I-27),

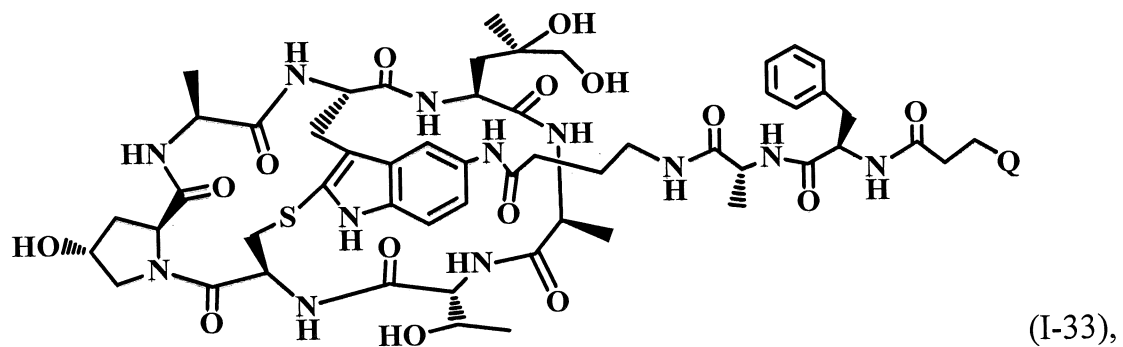
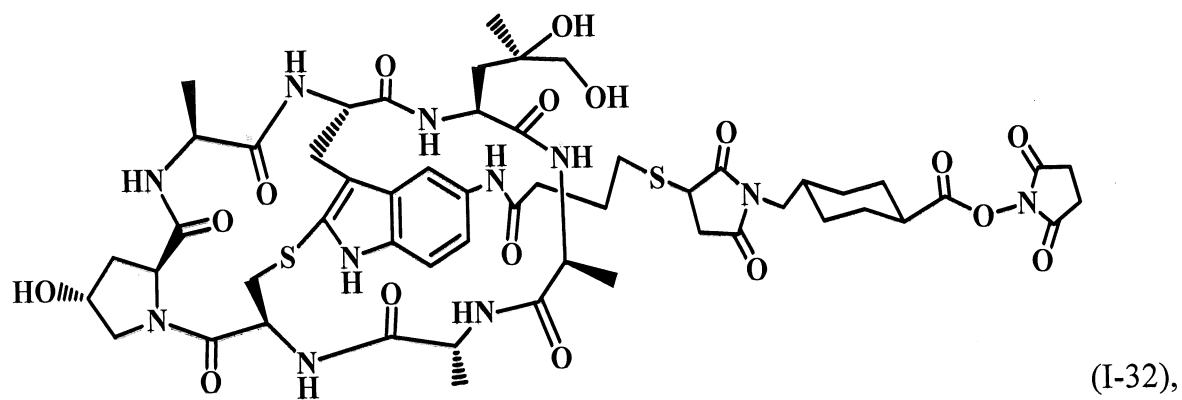
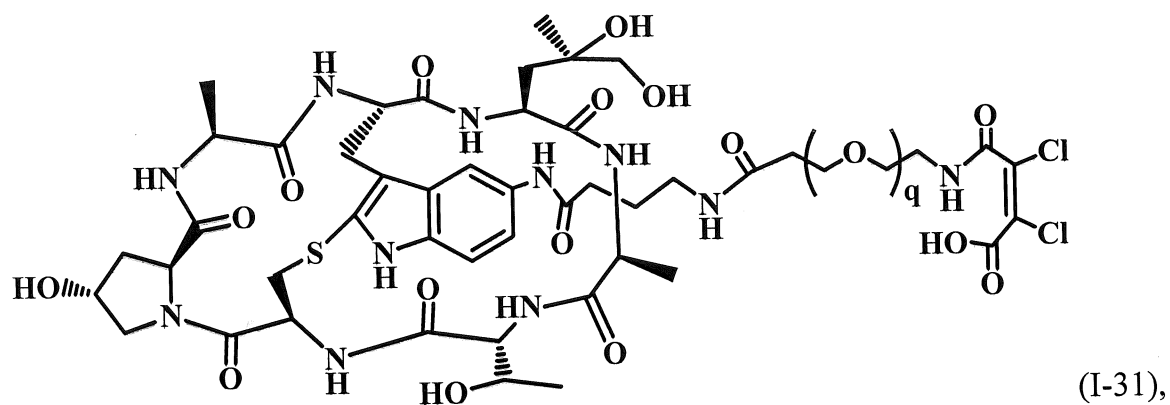
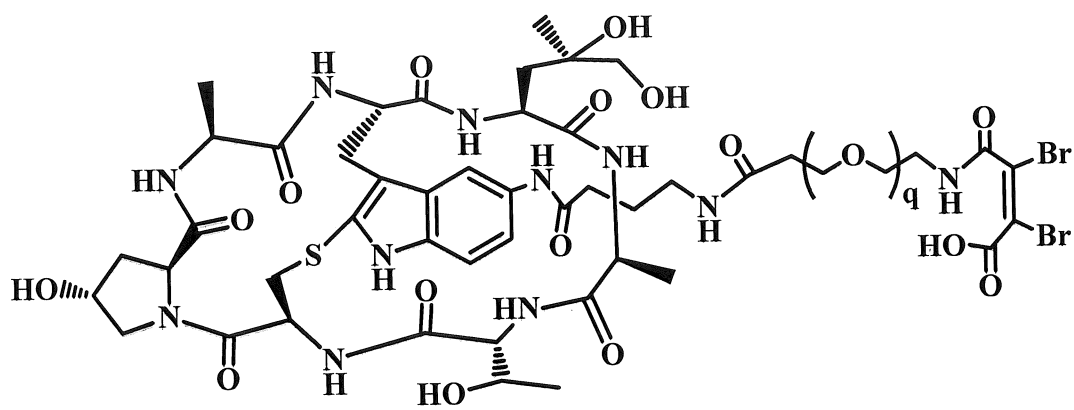


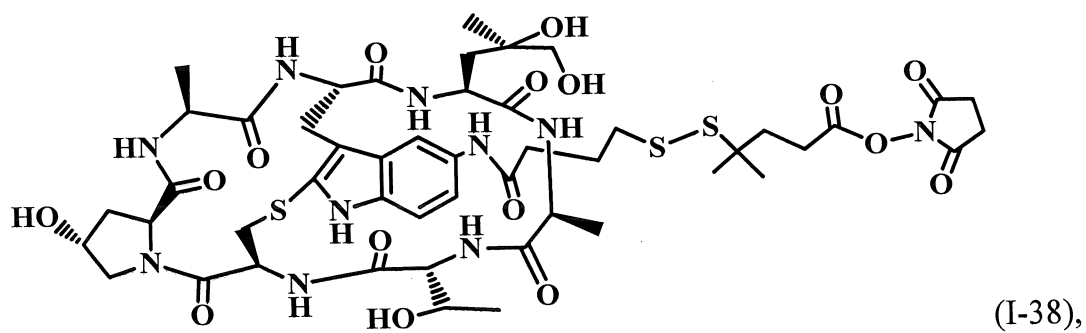
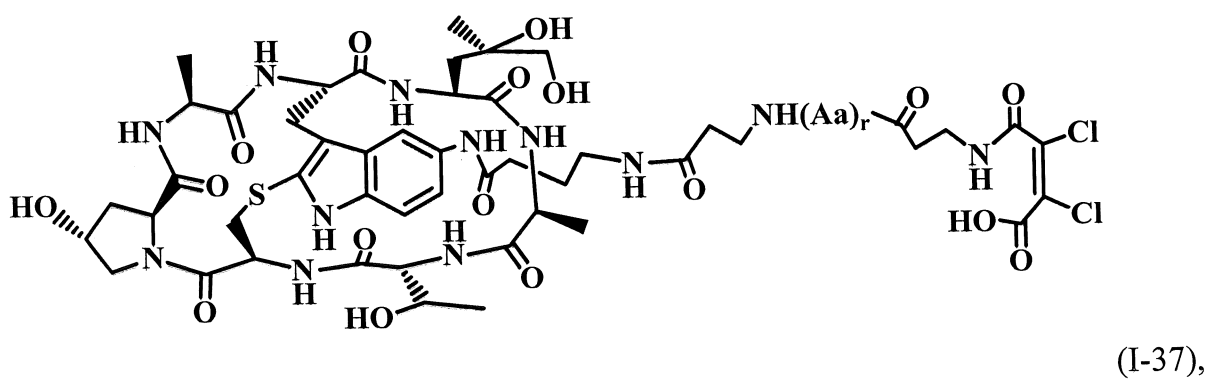
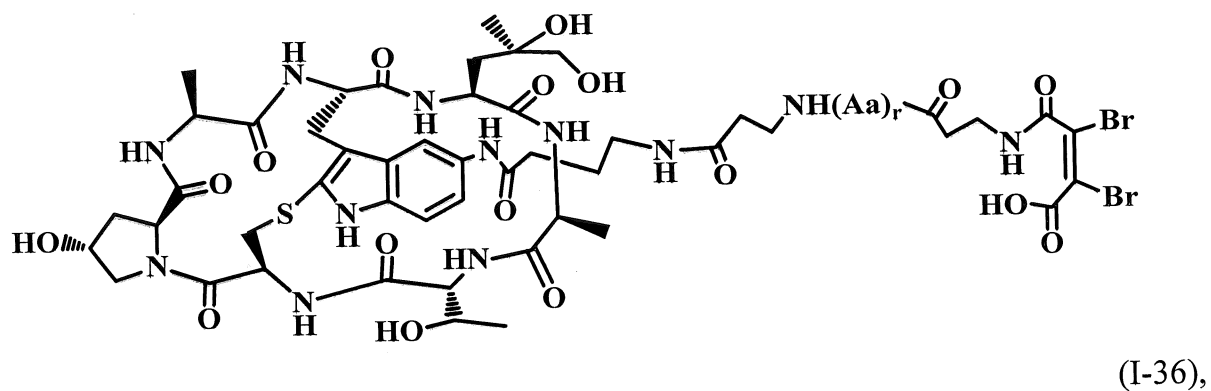
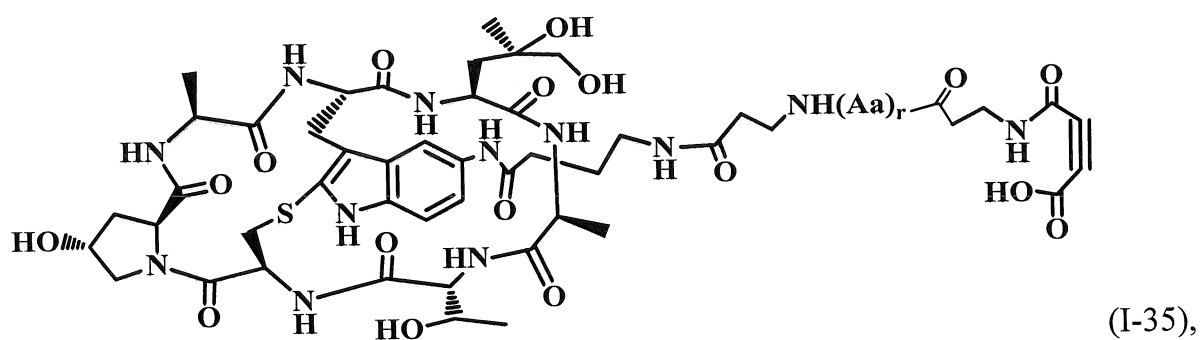
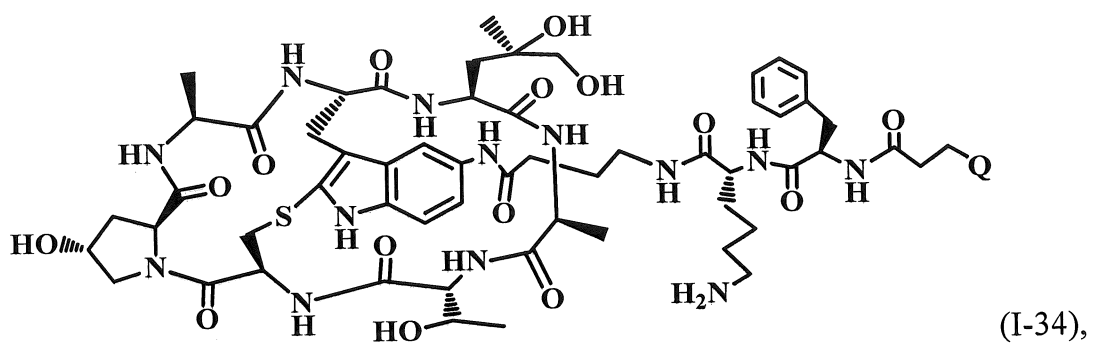
(I-28),

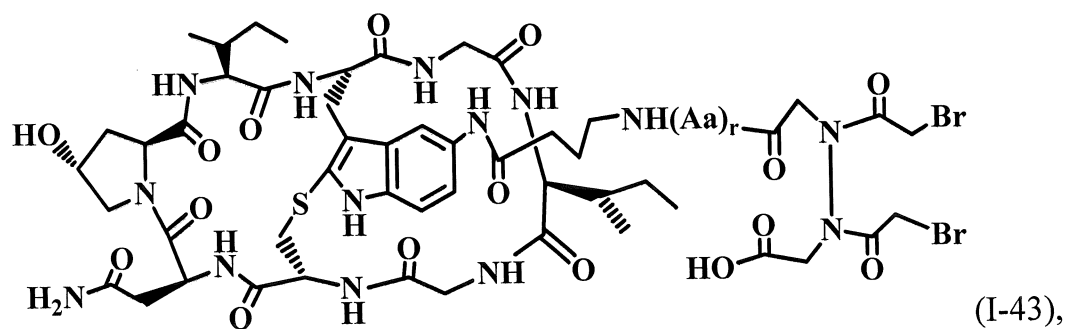
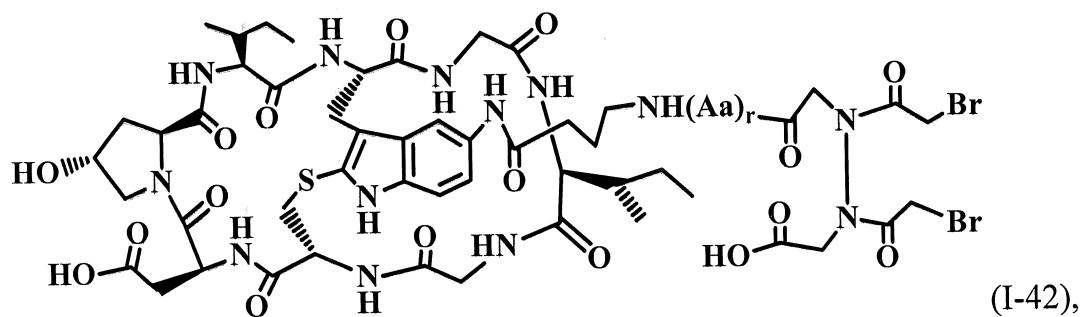
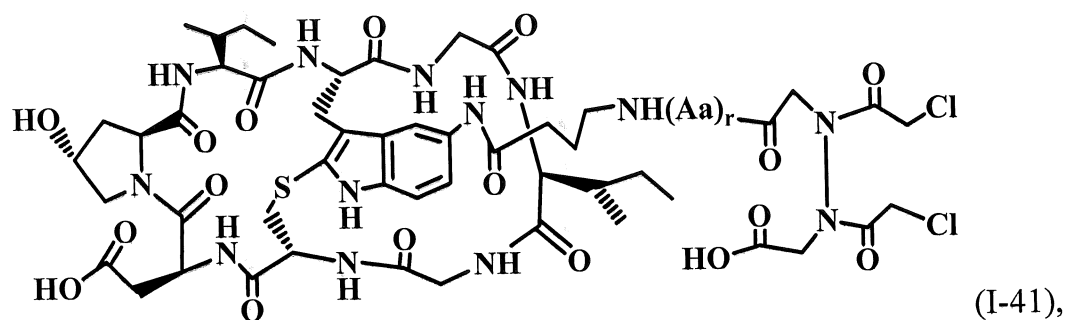
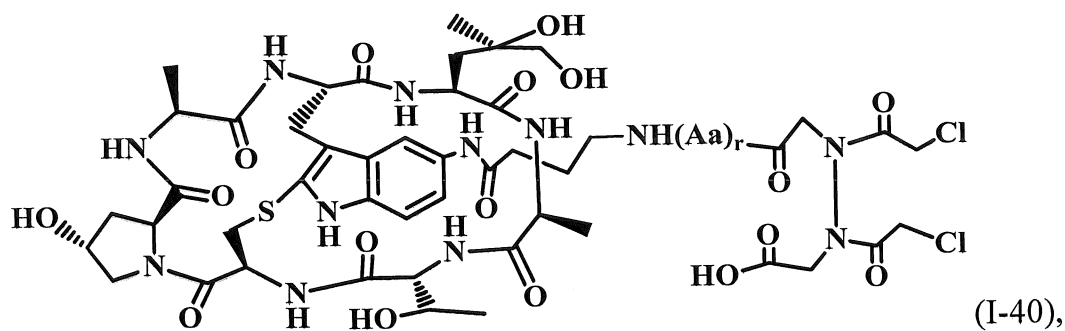
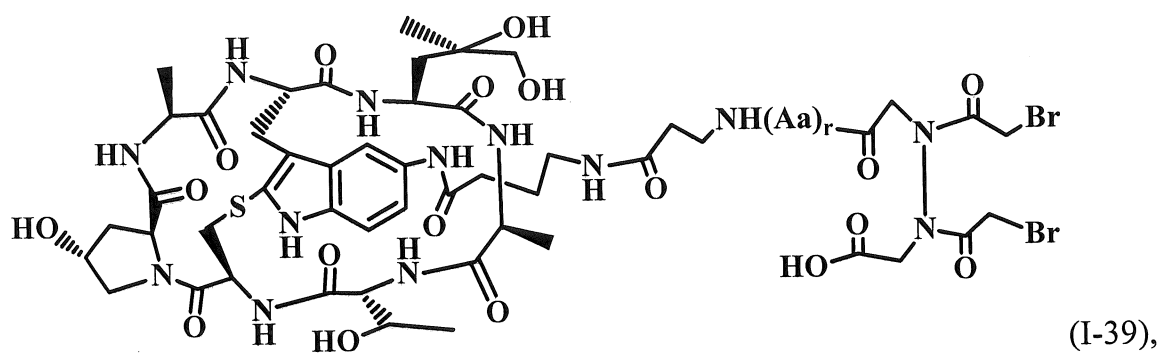


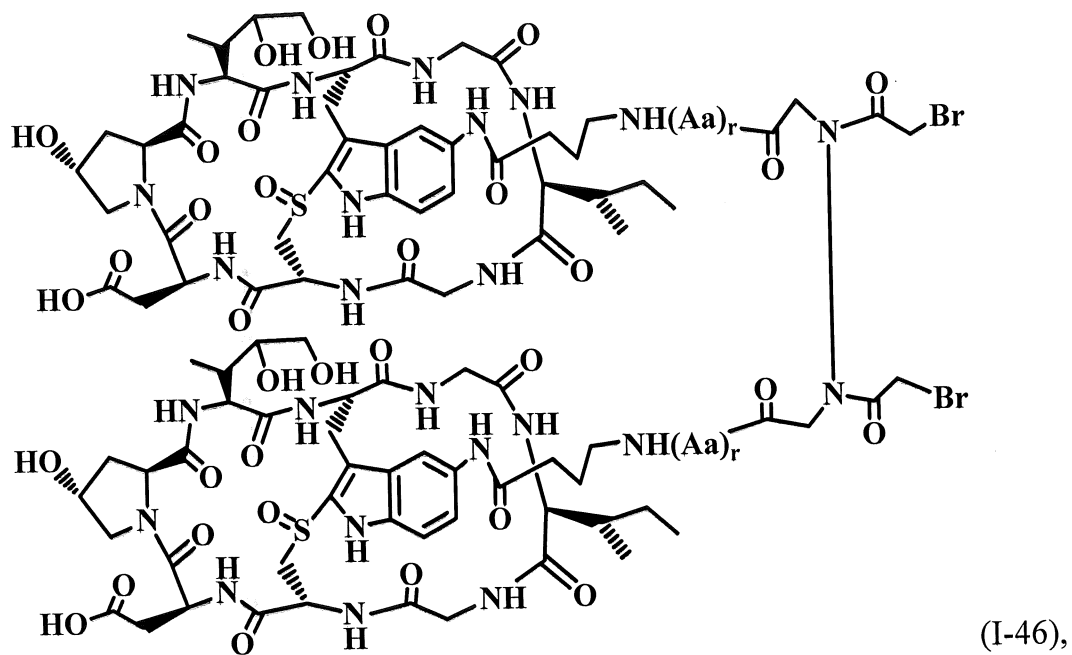
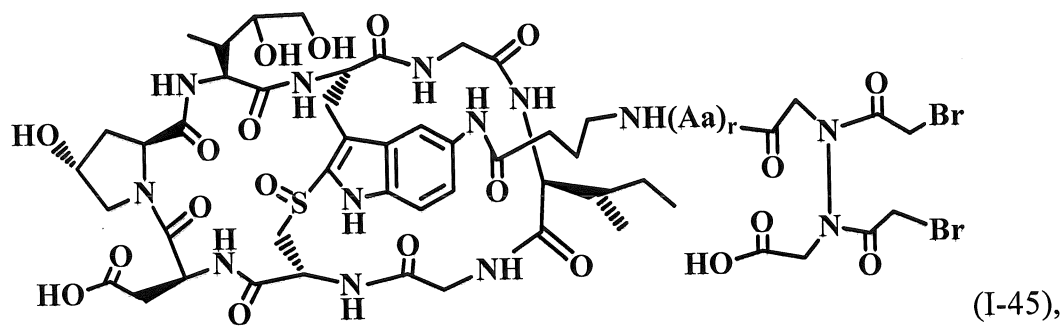
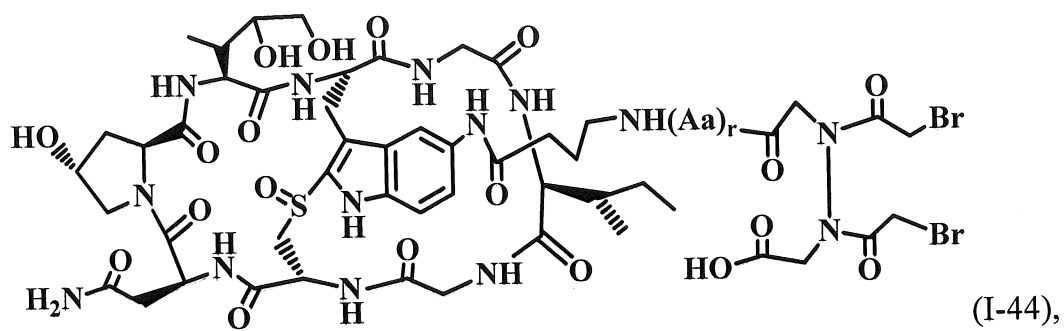
(I-29),

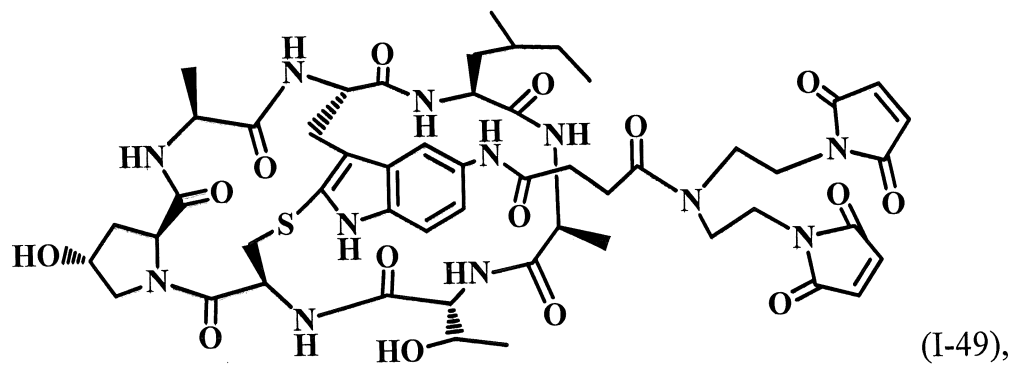
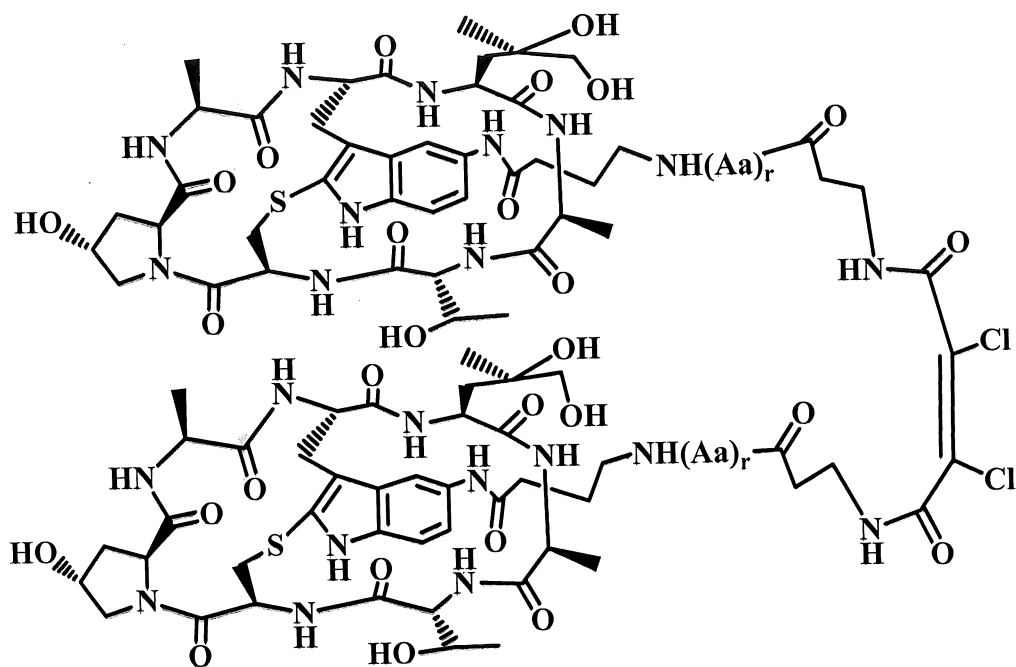
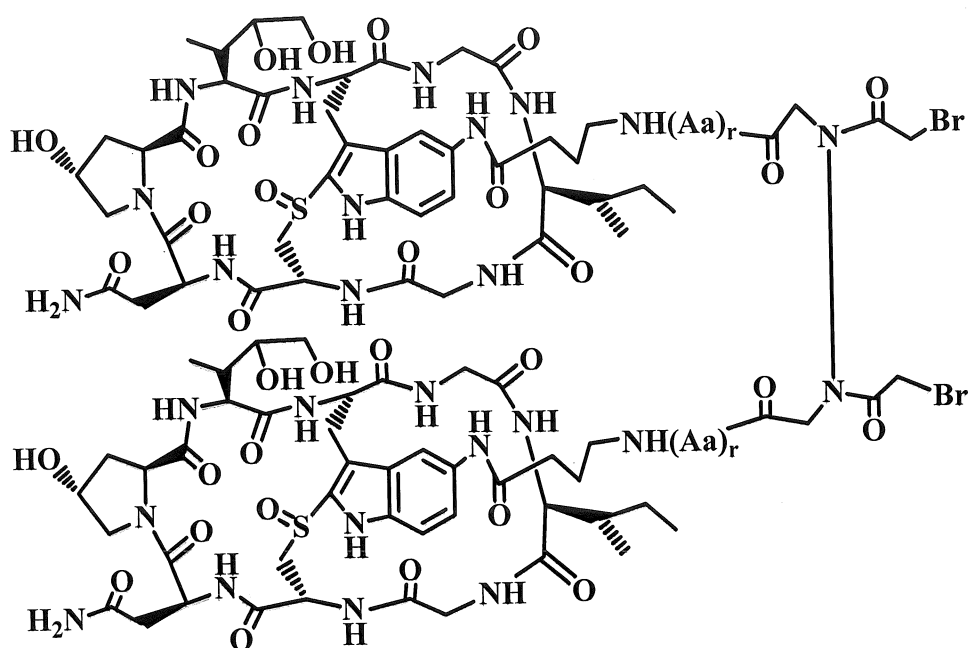


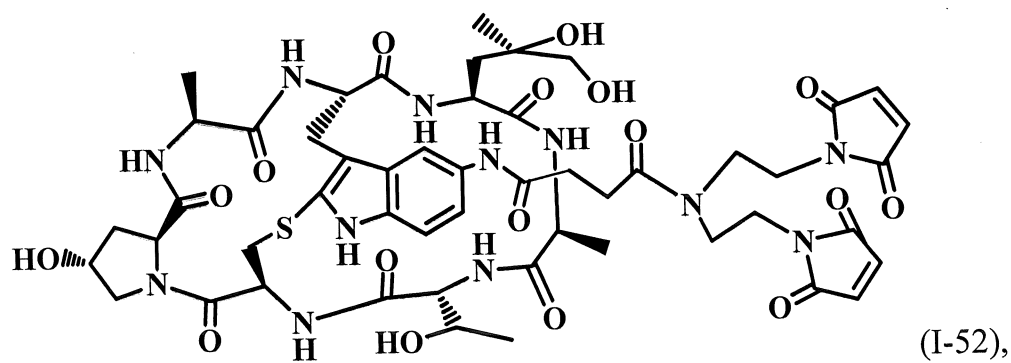
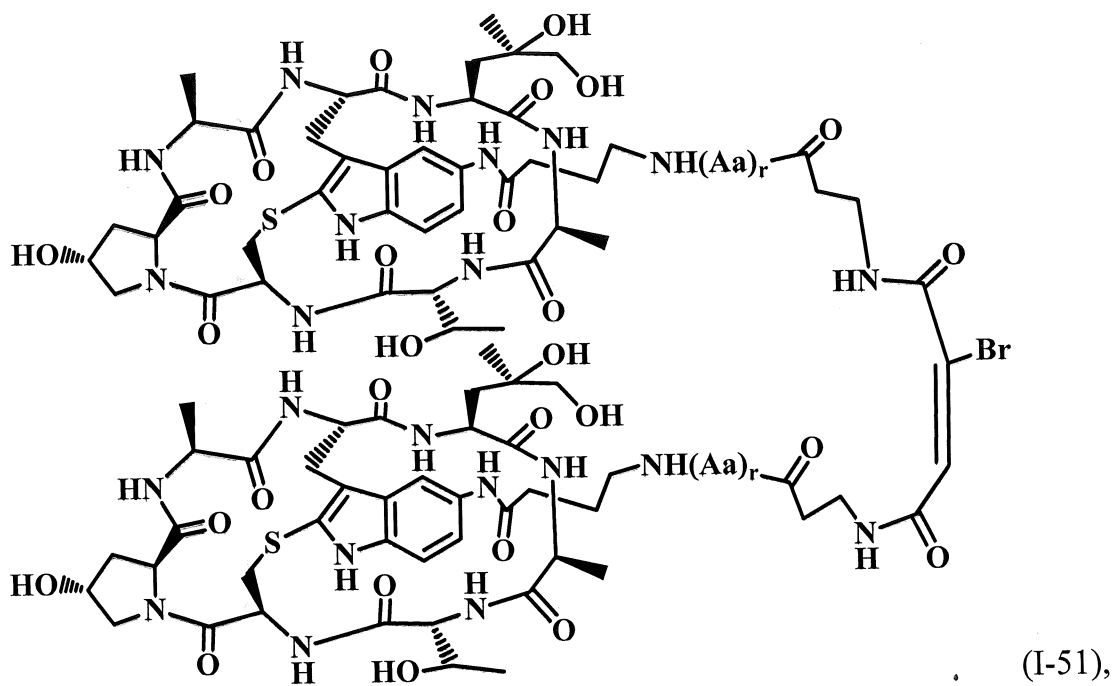
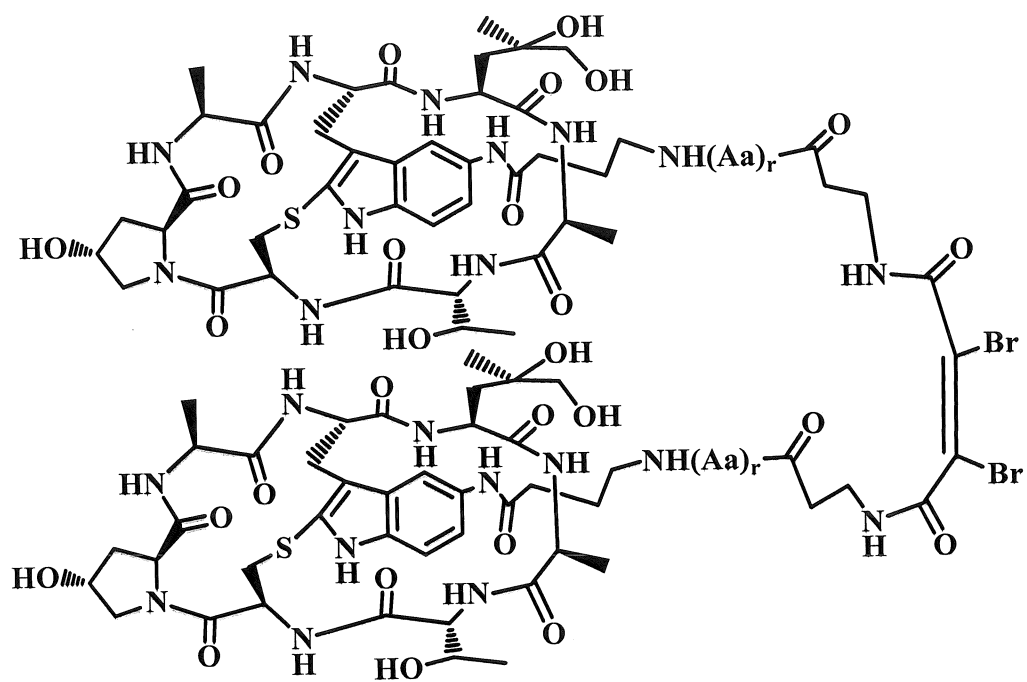


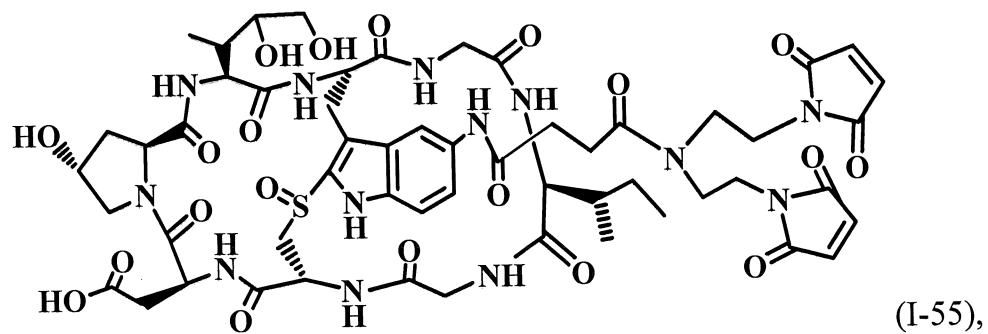
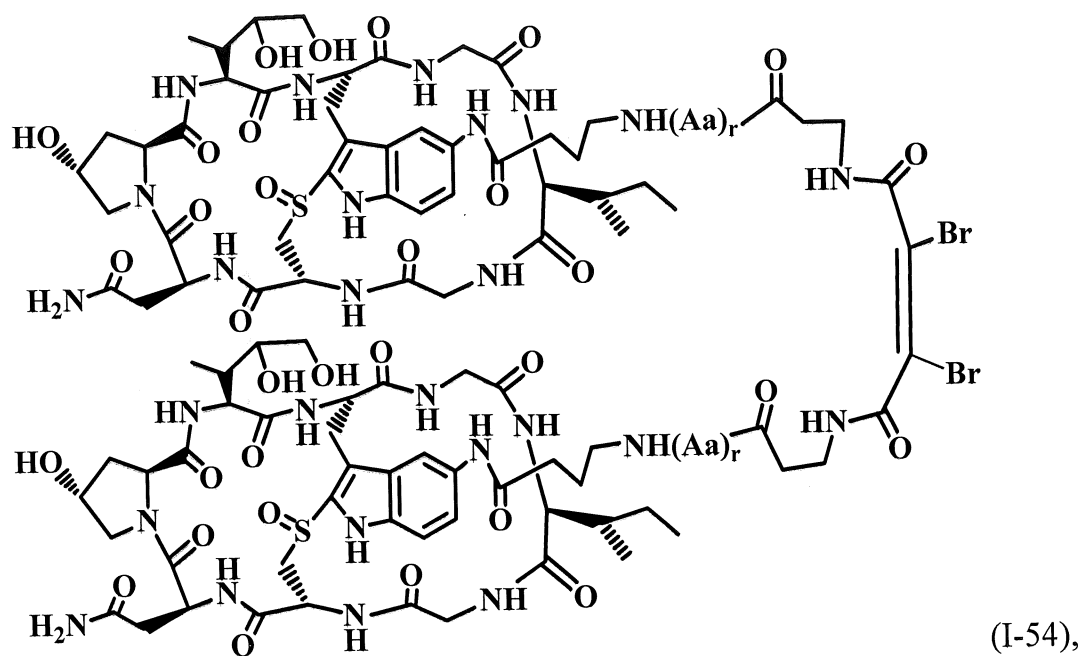
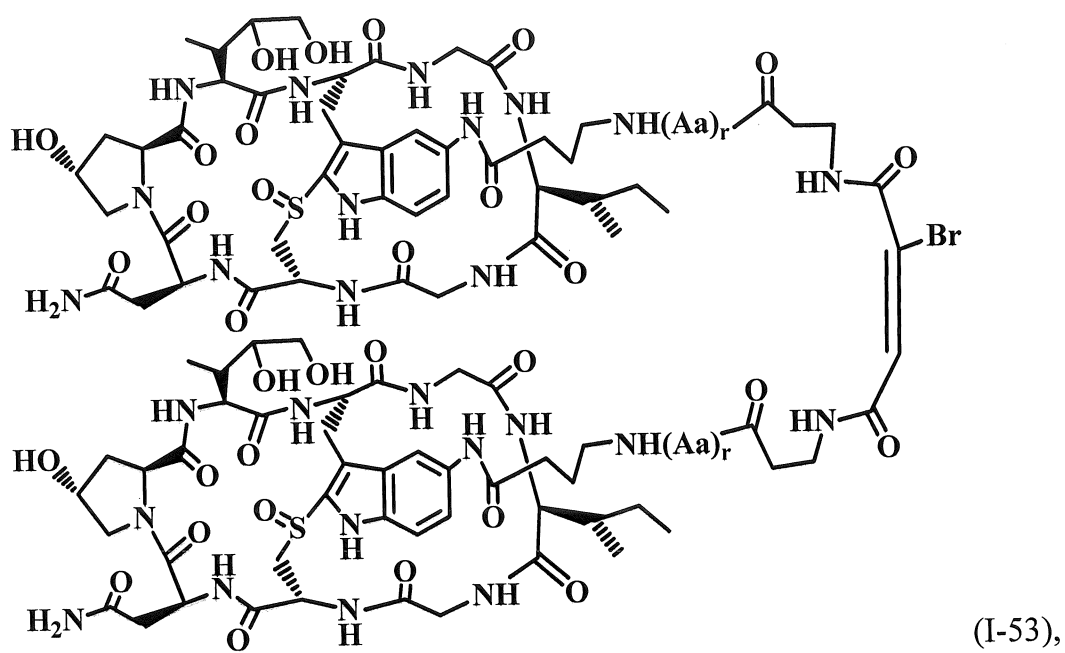


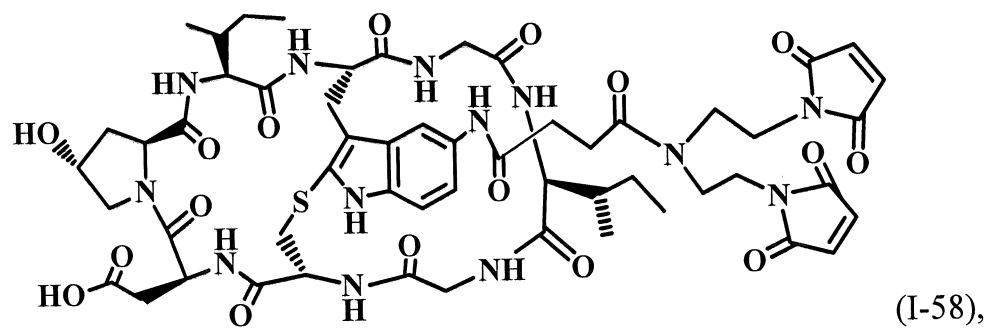
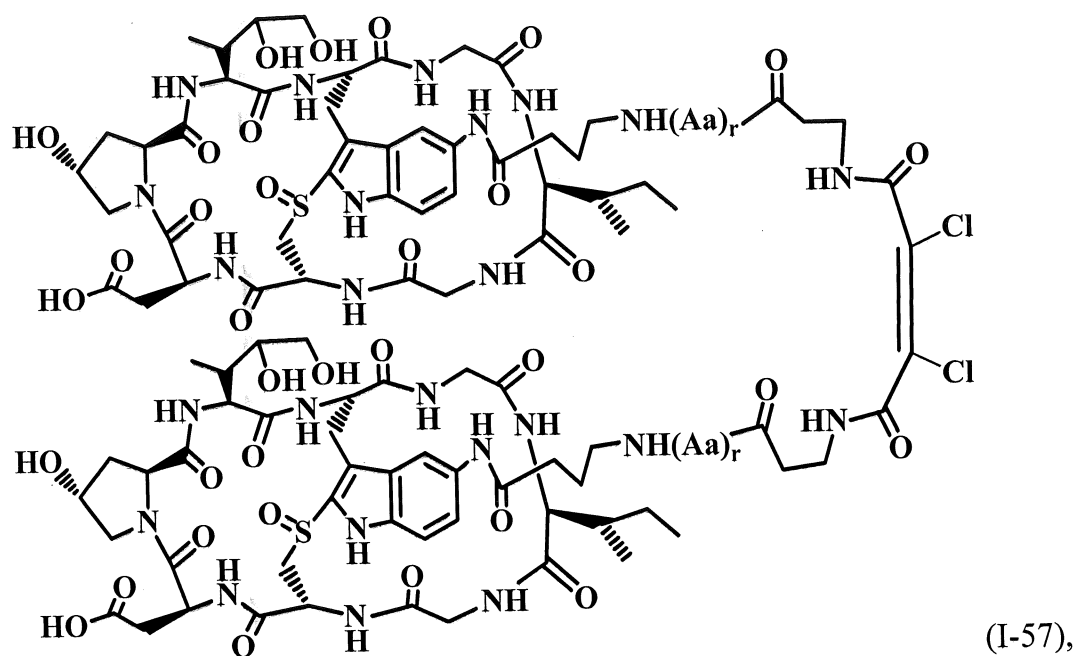
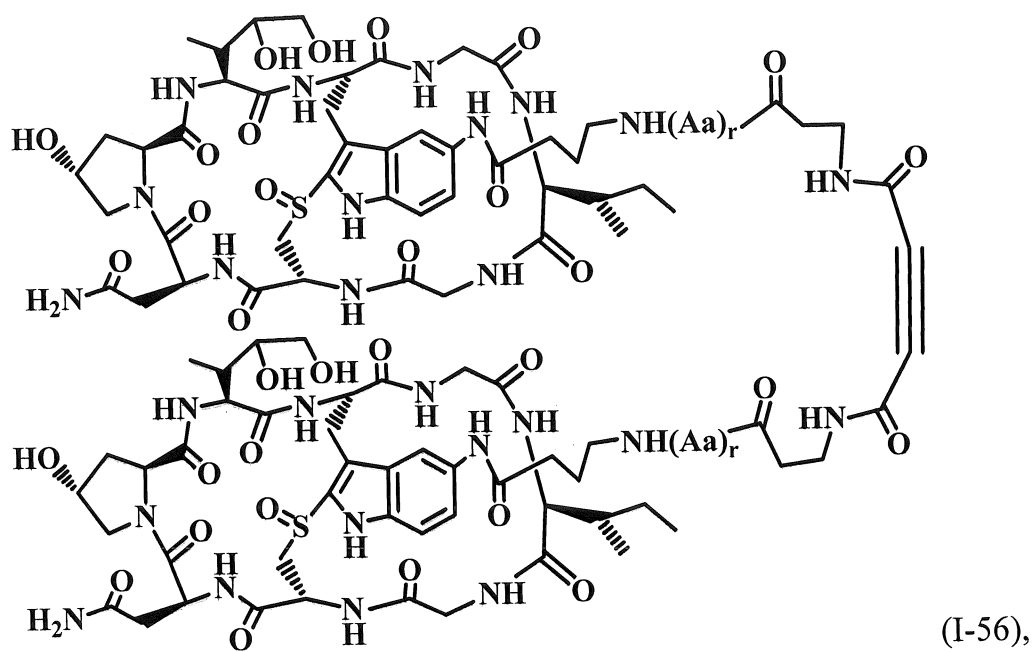




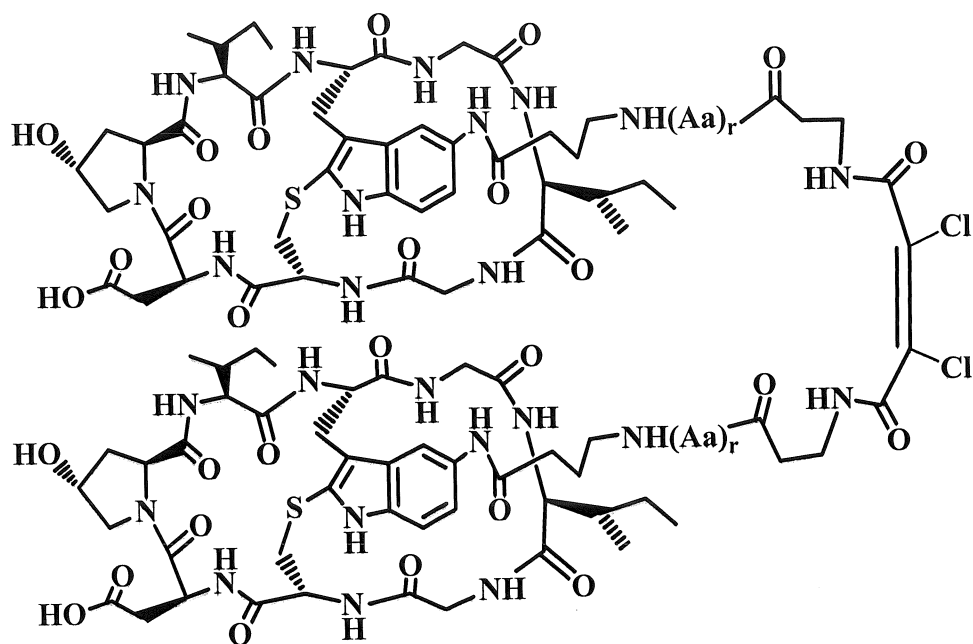




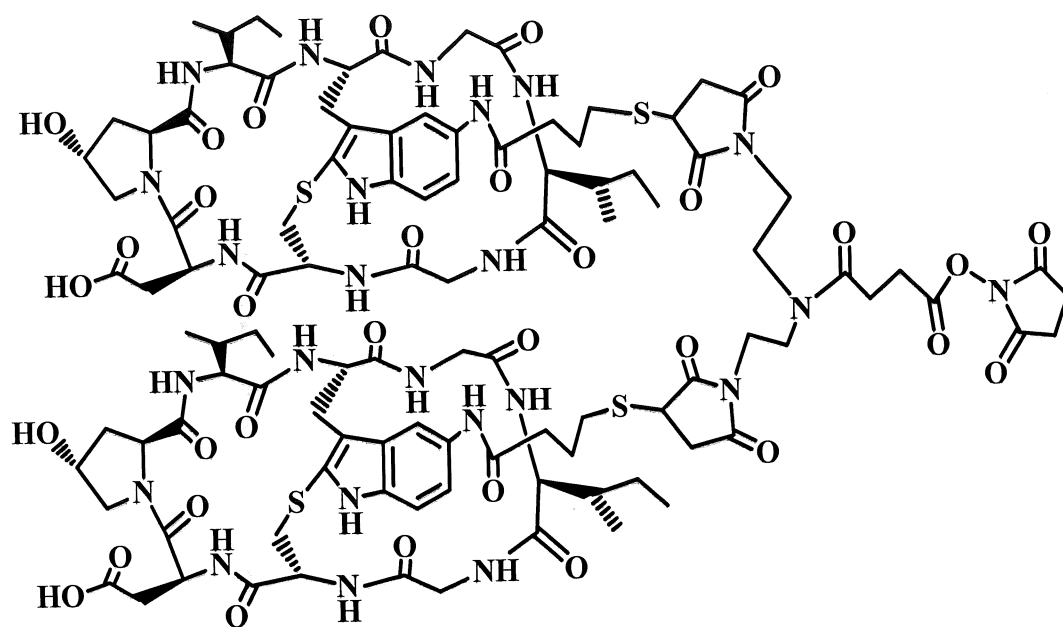




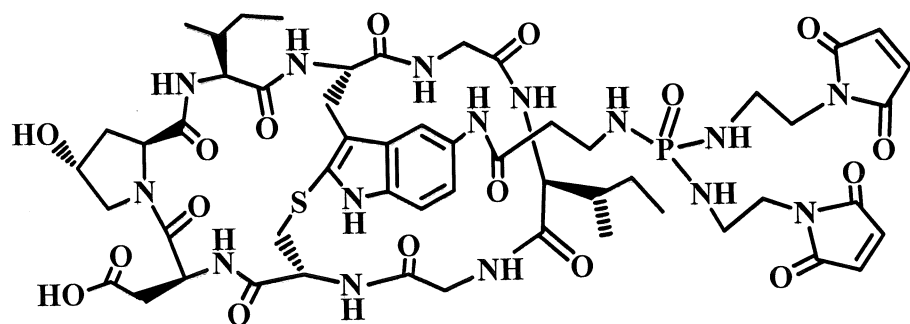




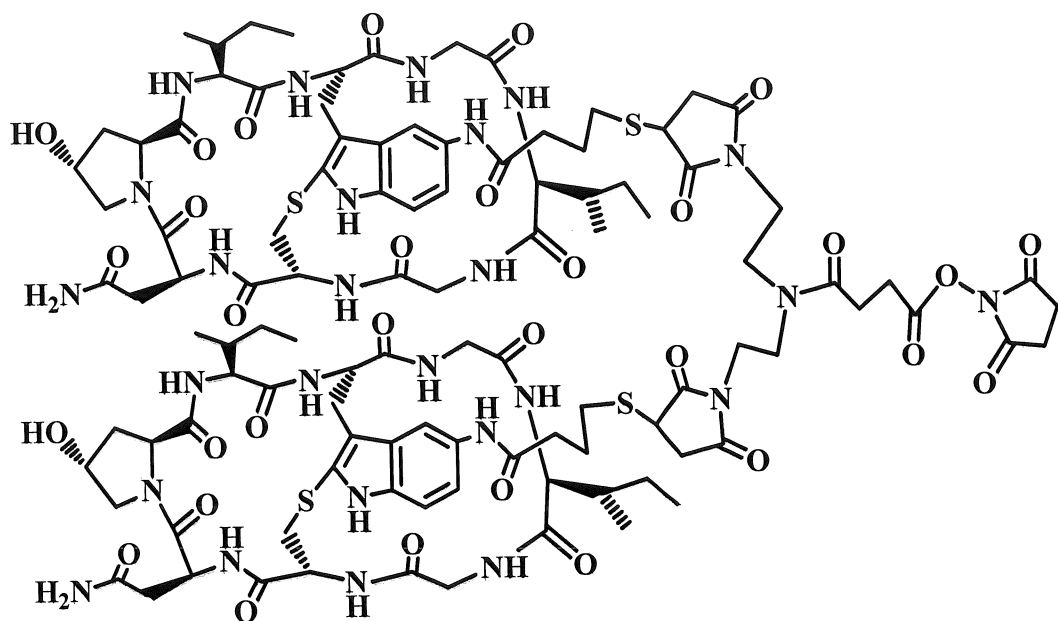
(I-59),



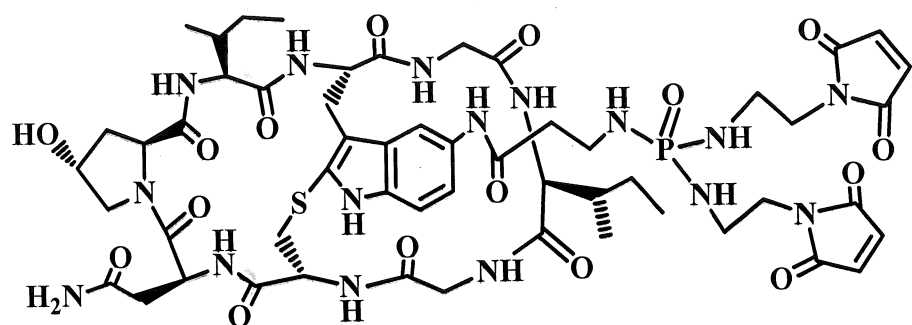
(I-60),



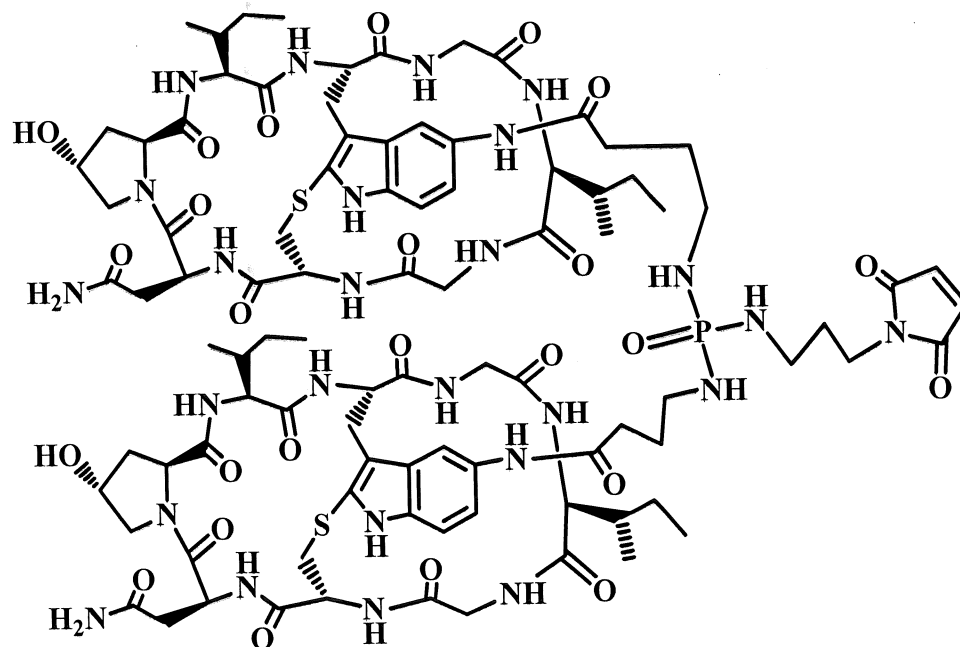
(I-61),



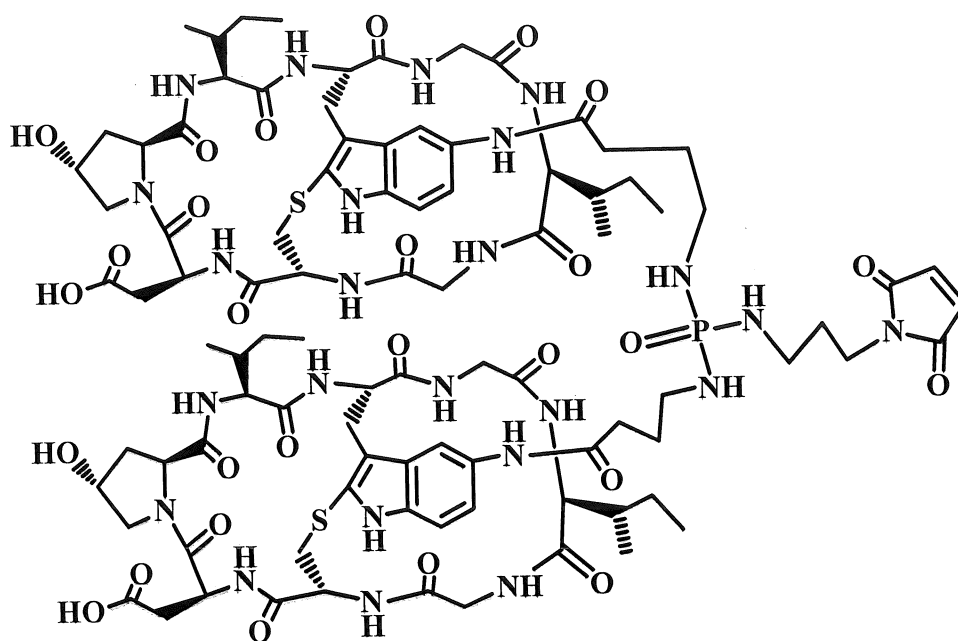
(I-62),



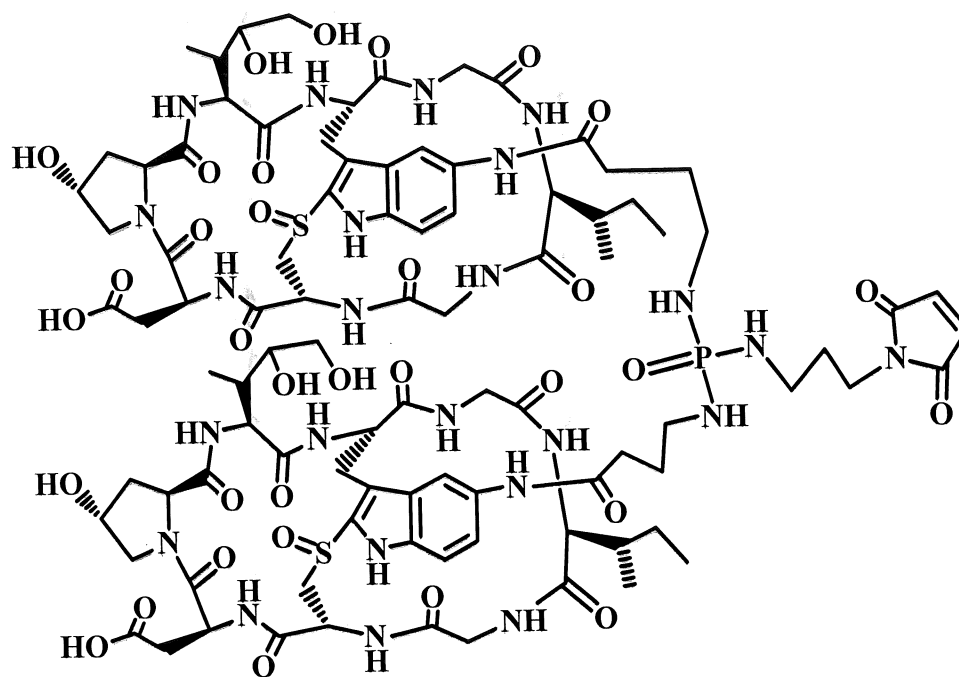
(I-63),



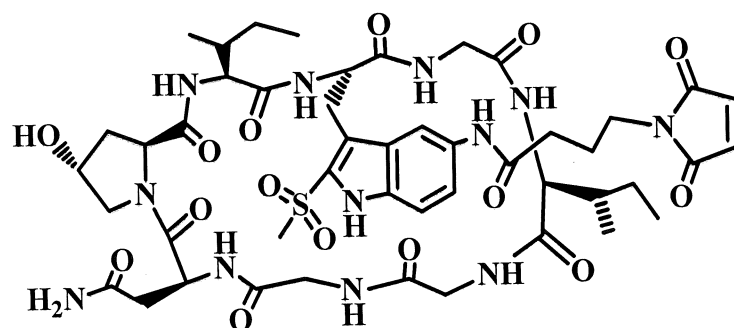
(I-64),



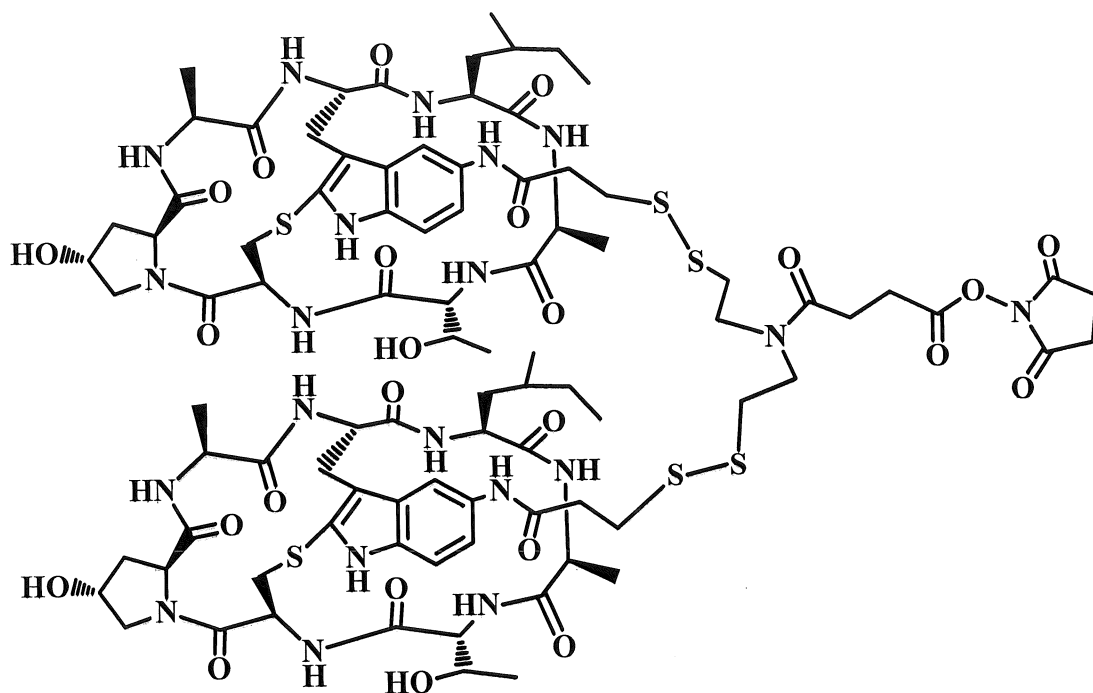
(I-65),



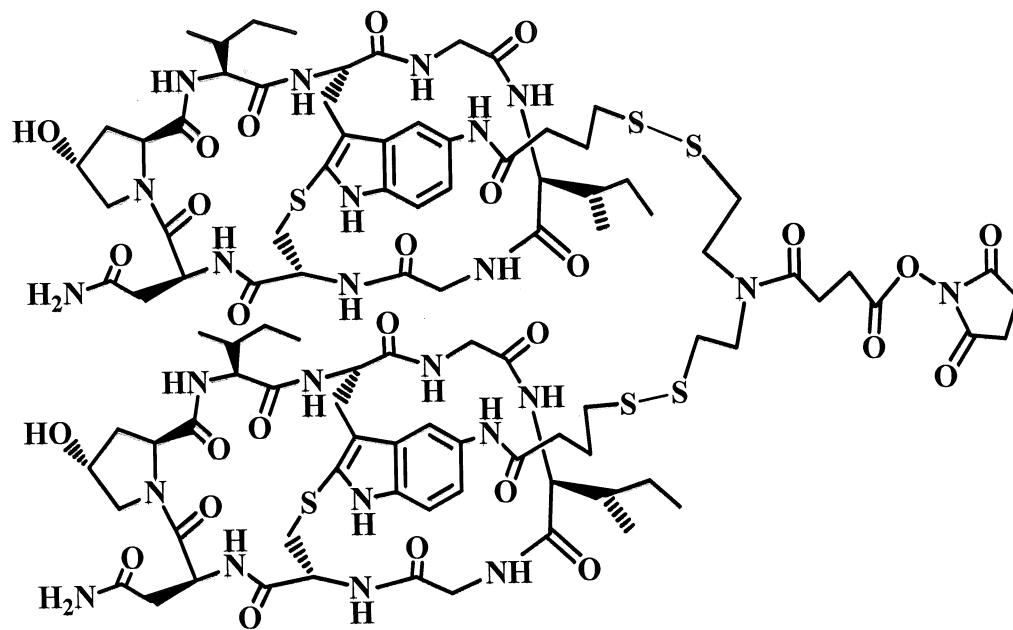
(I-66),



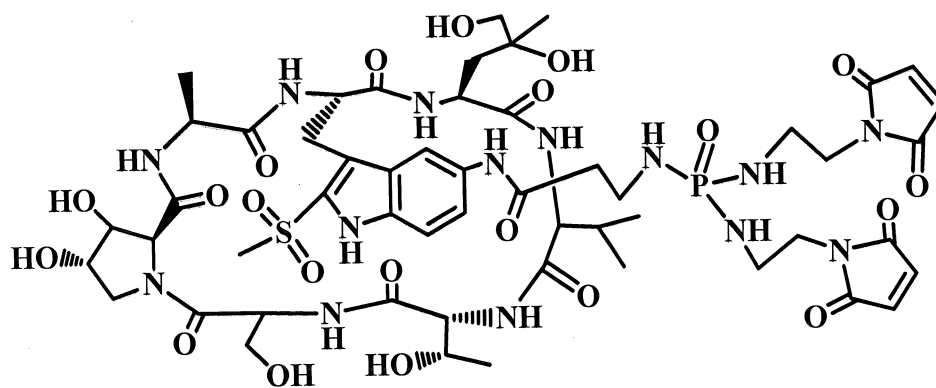
(I-67),



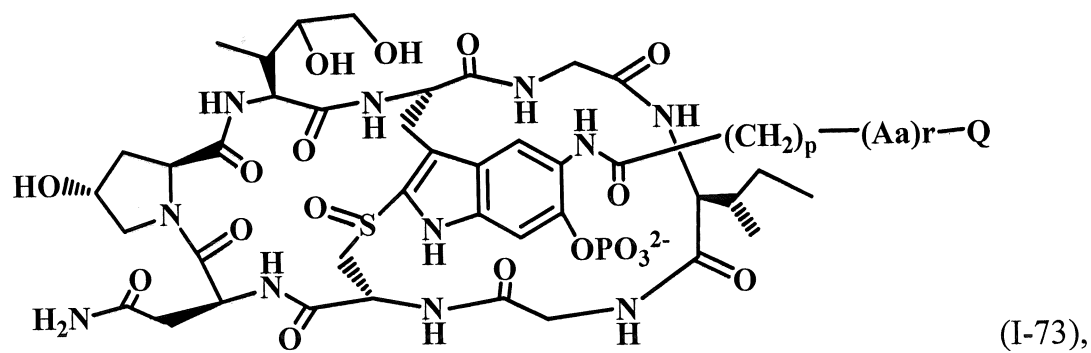
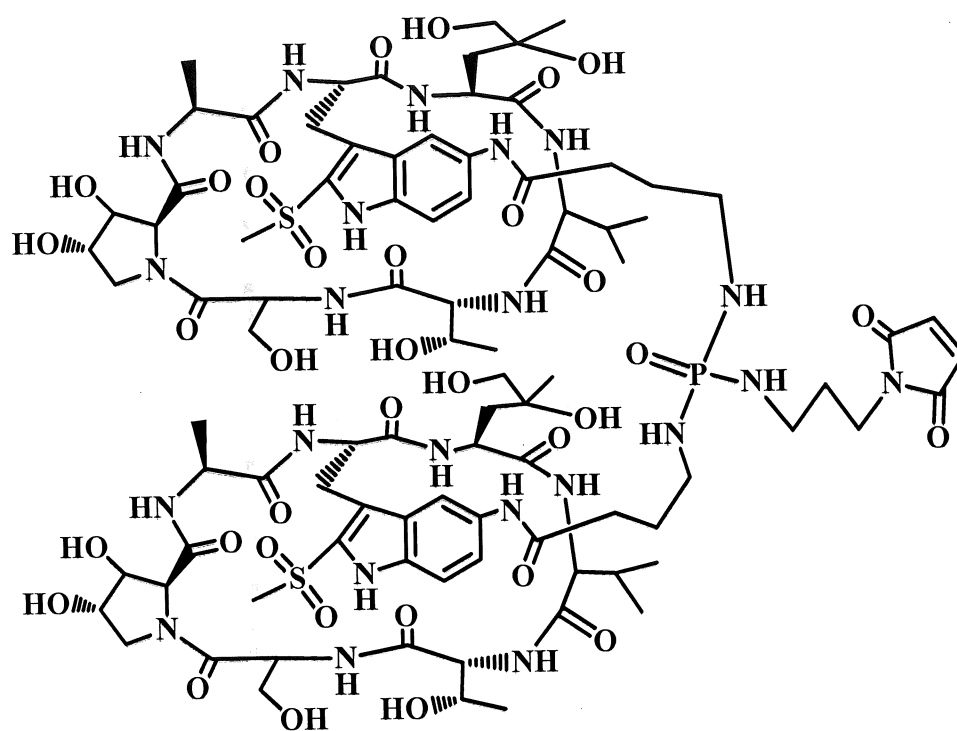
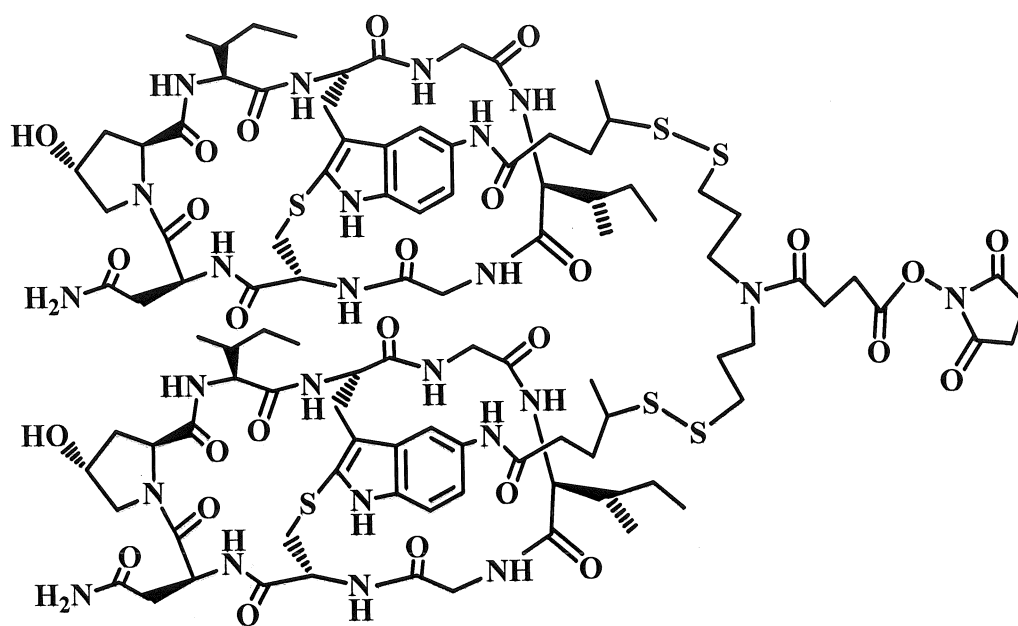
(I-68),

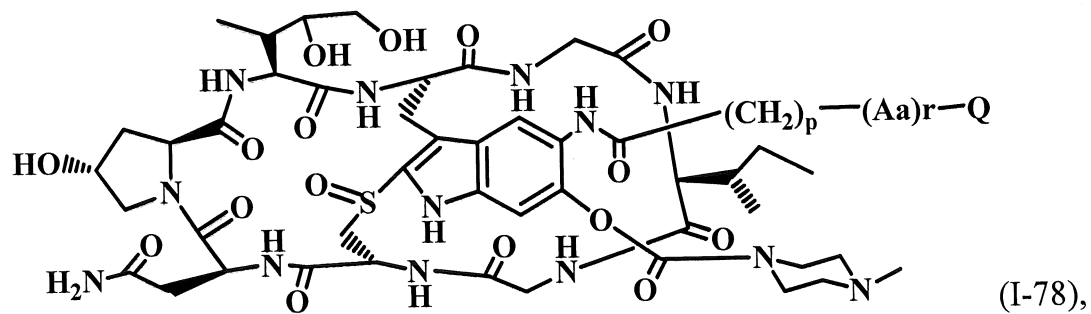
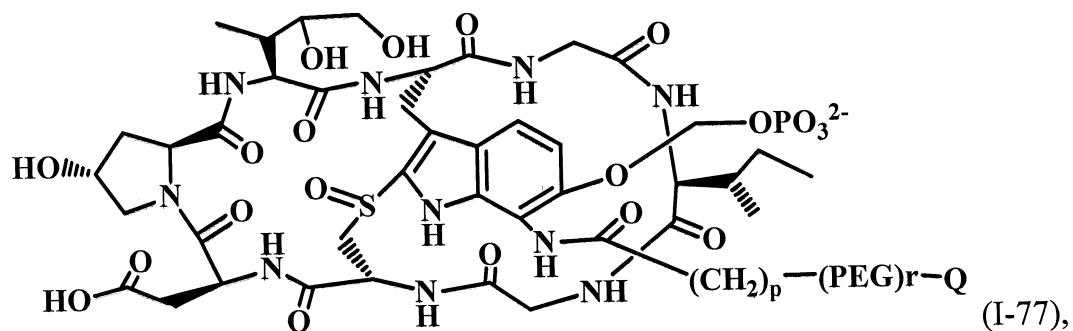
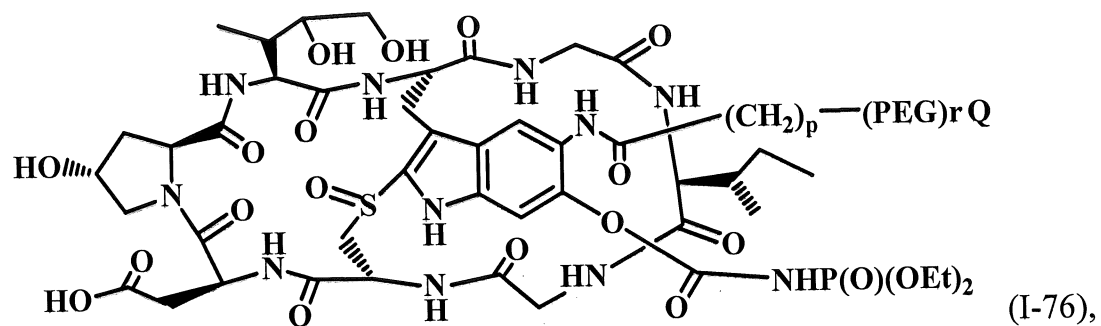
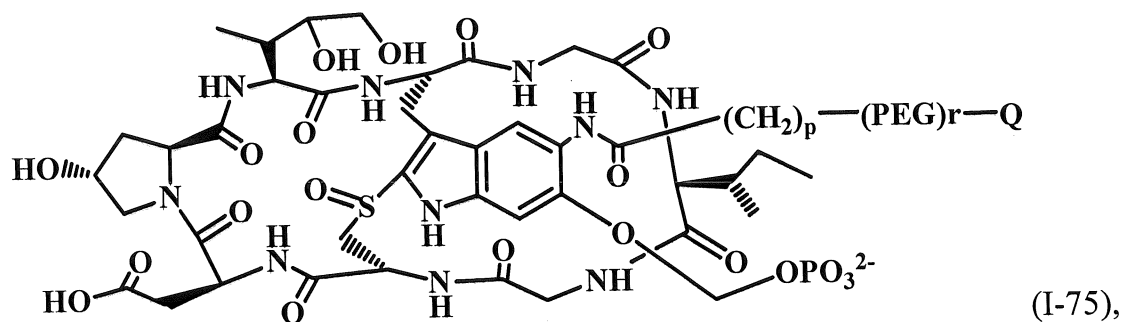
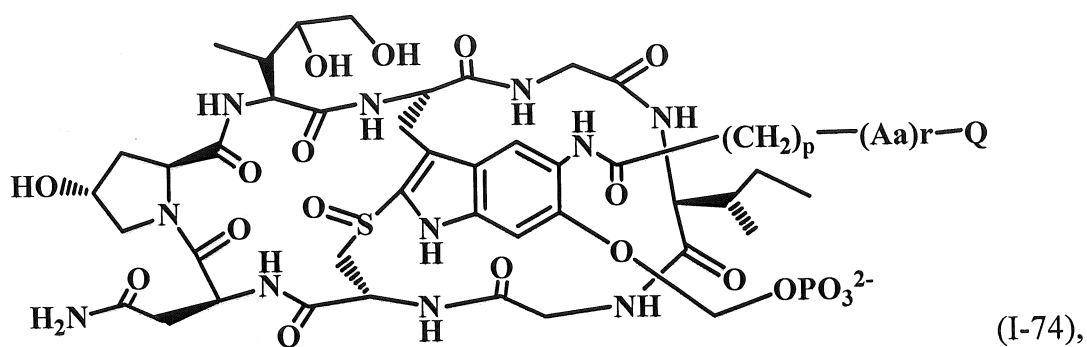


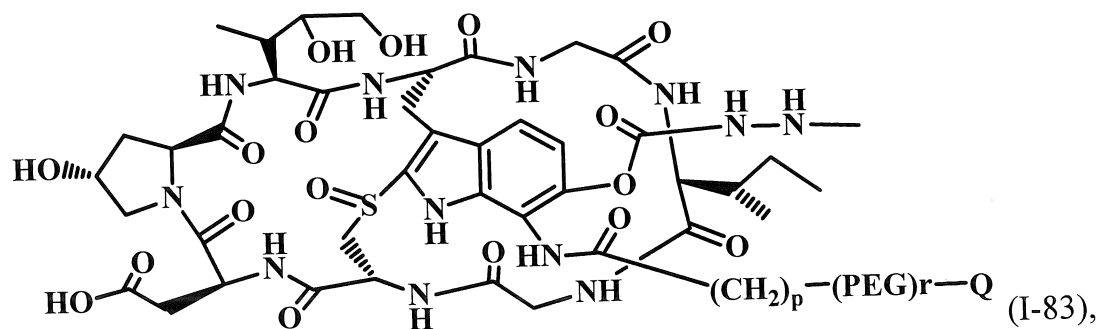
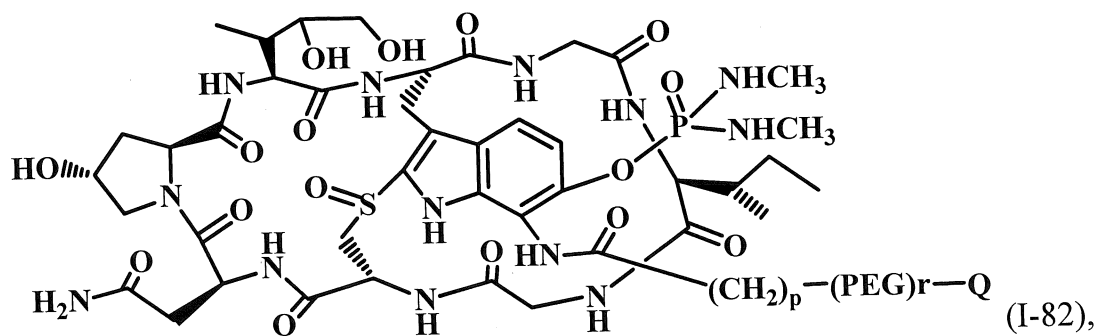
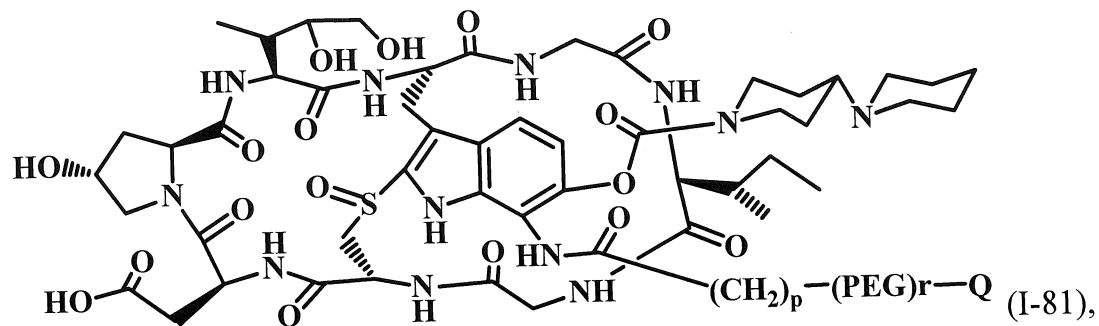
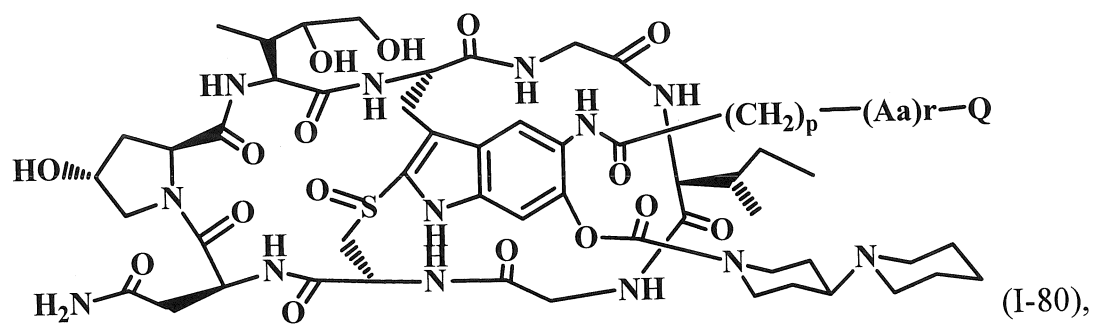
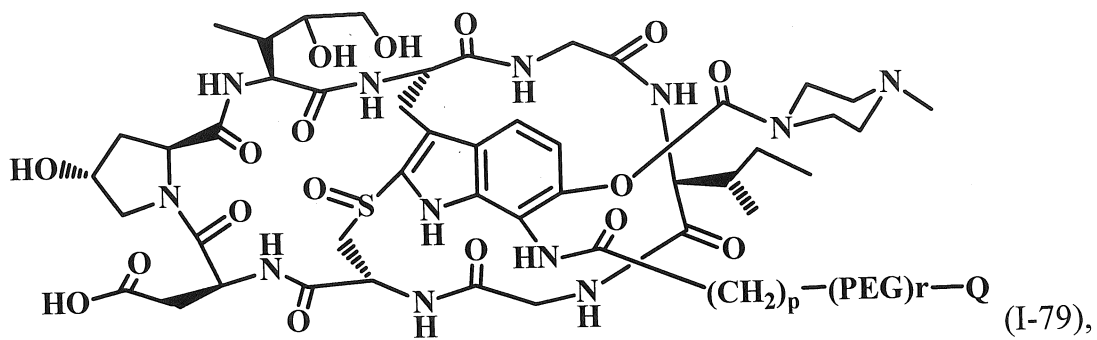
(I-69),

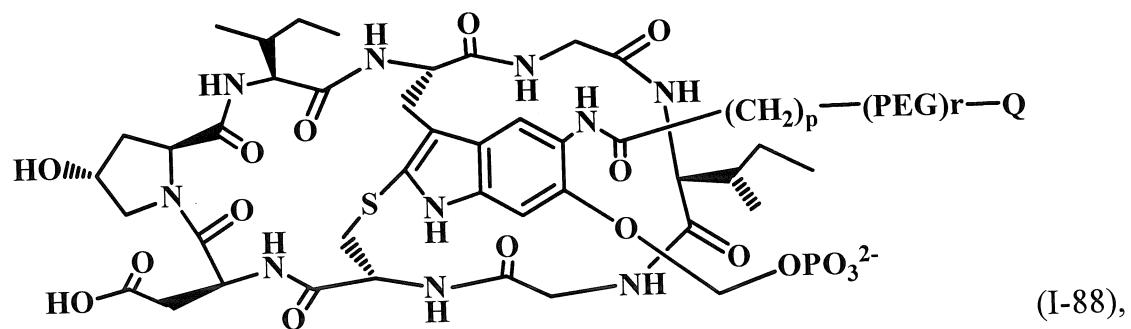
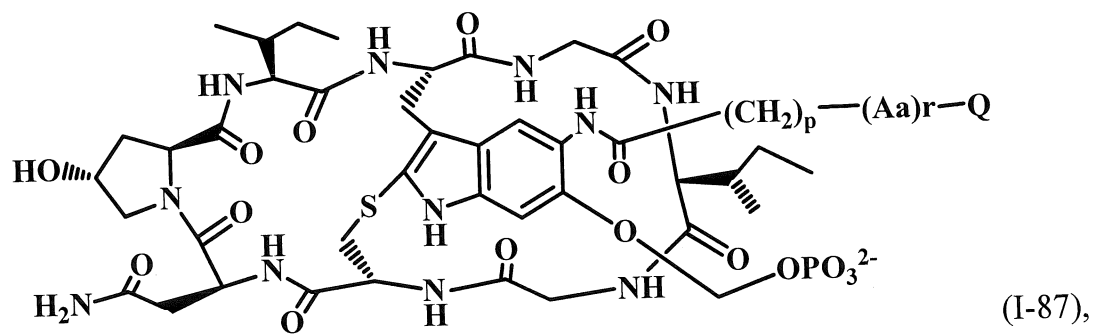
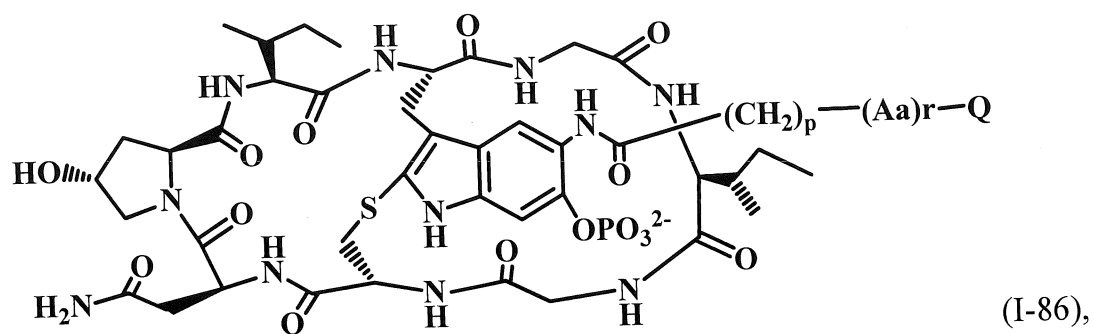
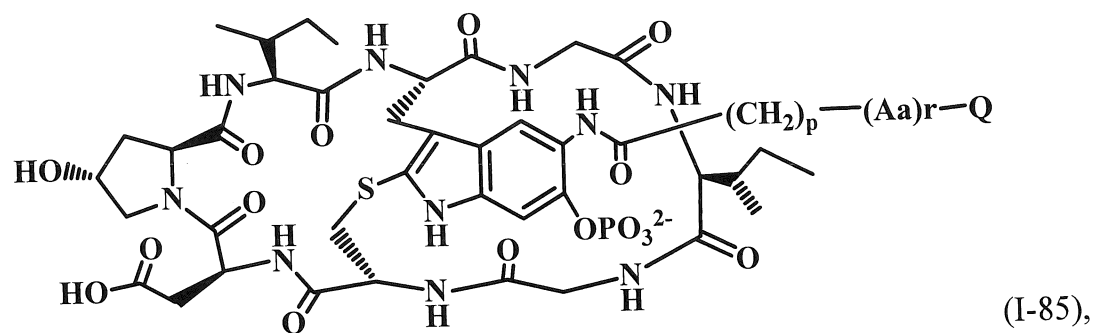
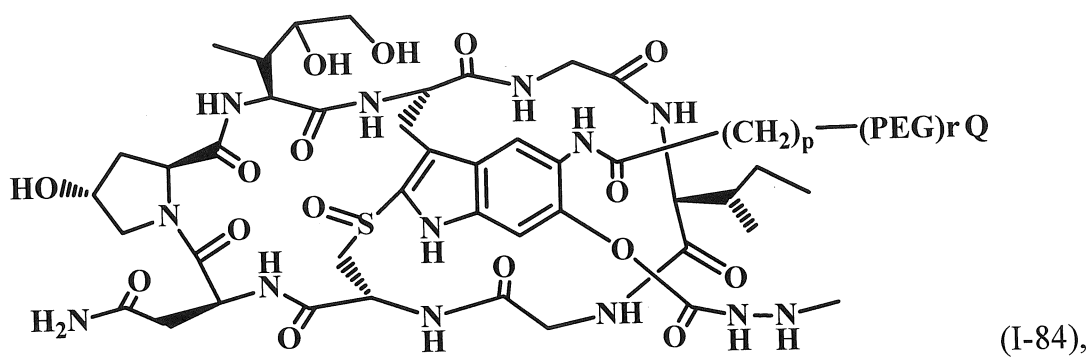


(I-70),

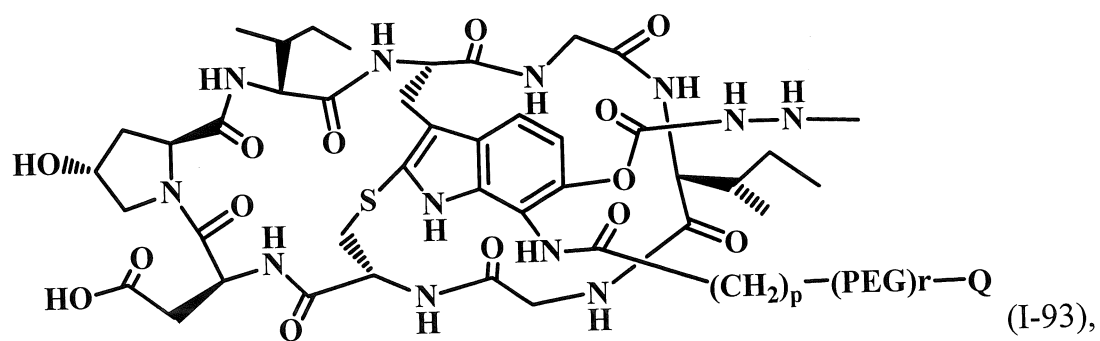
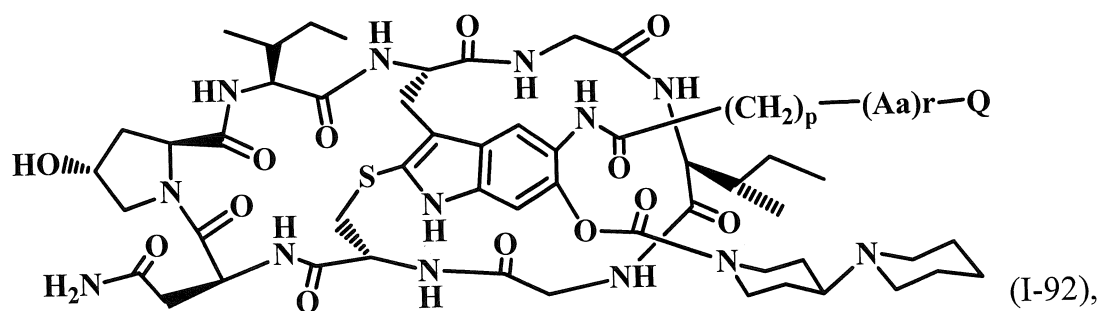
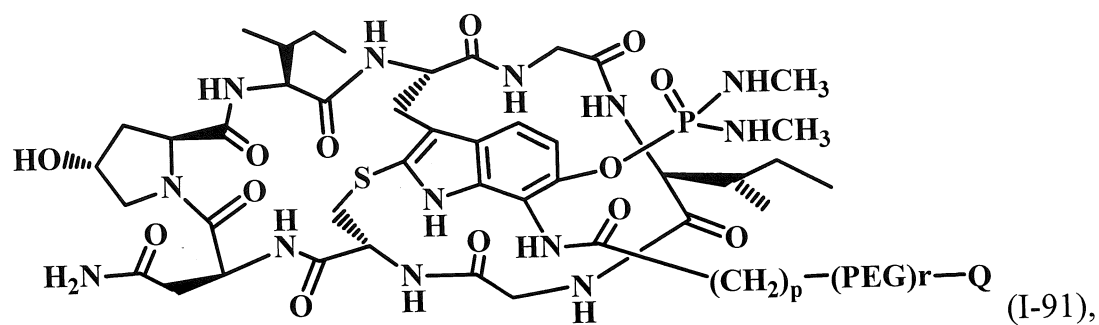
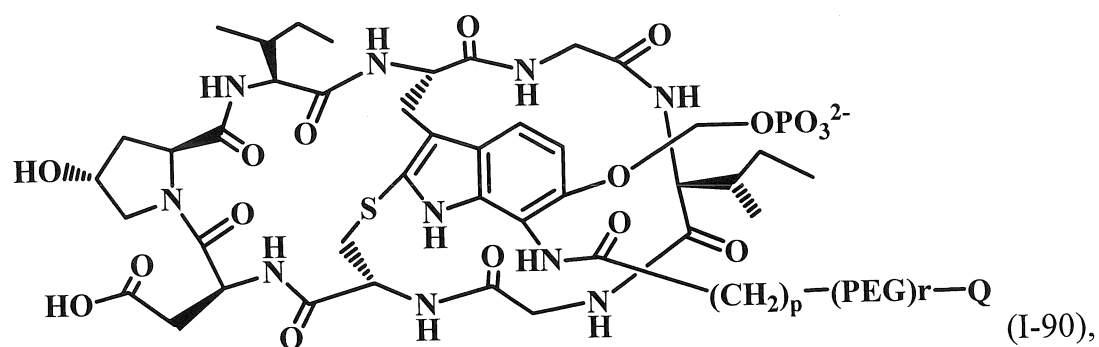
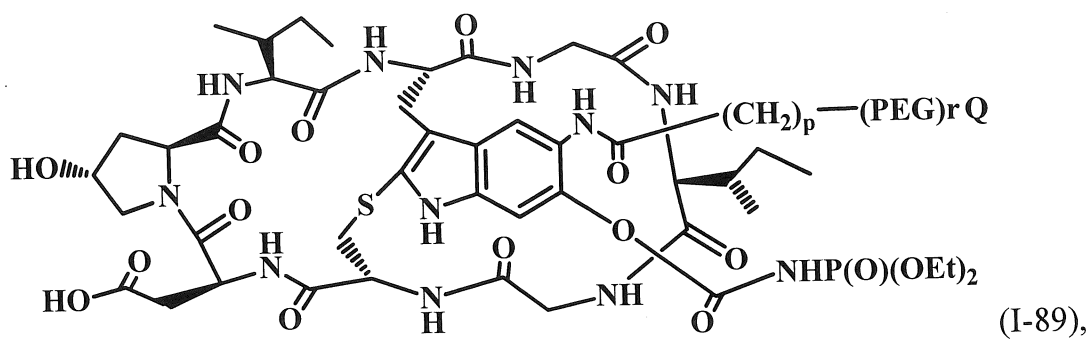


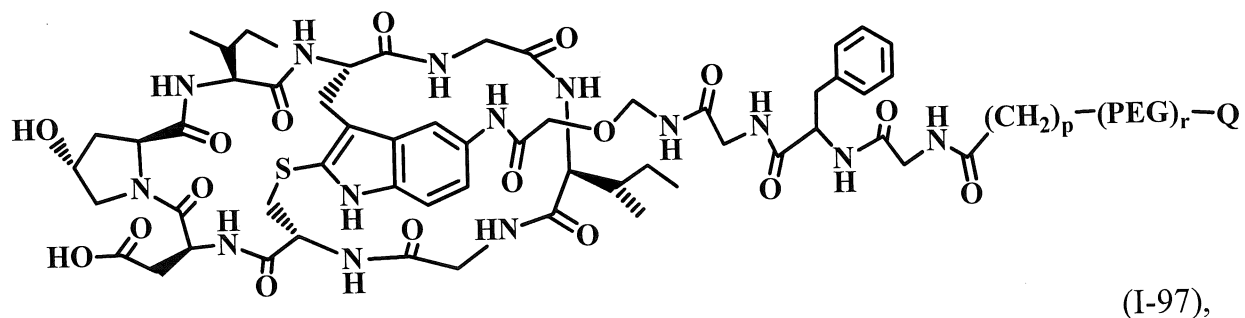
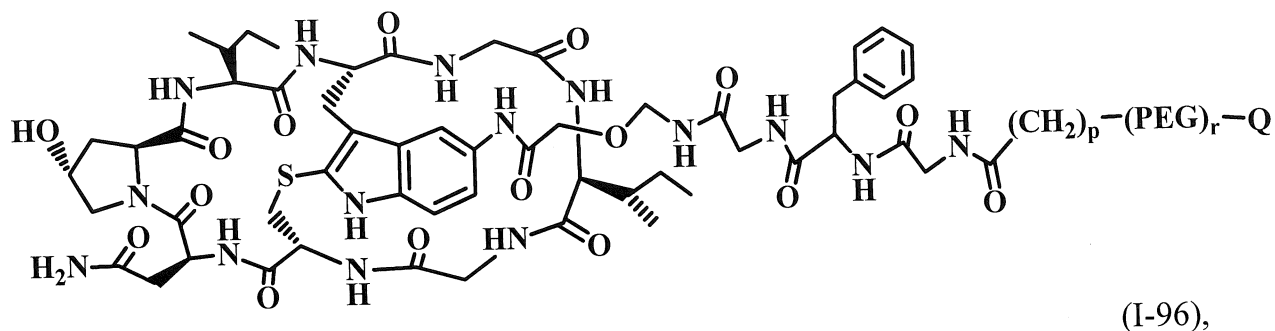
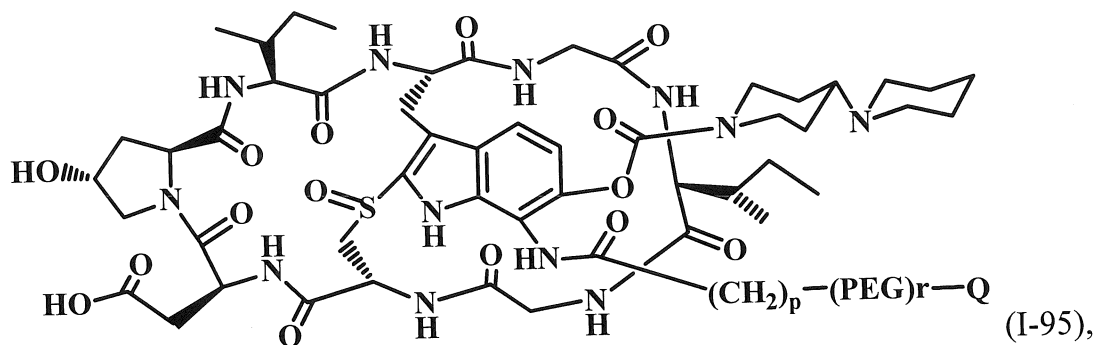
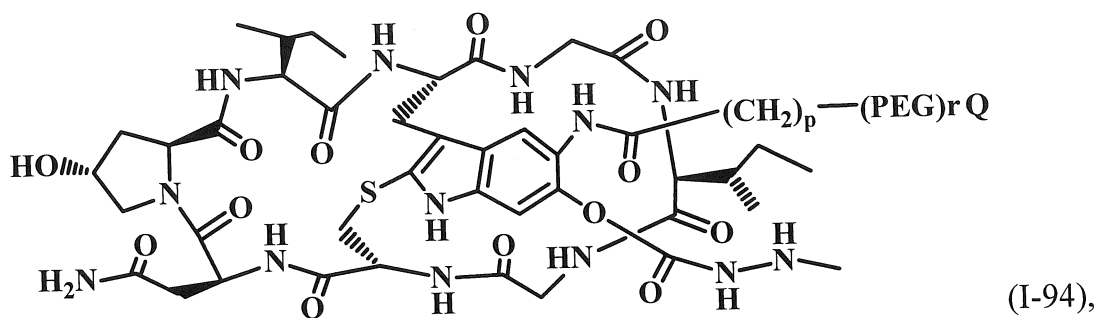










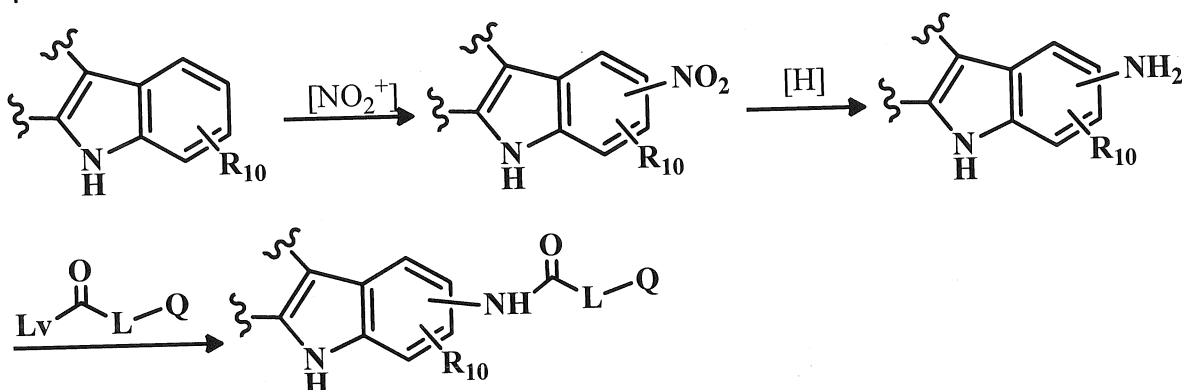


hoặc muối, hydrat, hoặc muối hydrat hoá được dụng, hoặc cấu trúc tinh thể đa hình của nó, hoặc chất đồng phân dị cấu quang học, raxemat, chất đồng phân không đối quang hoặc chất đồng phân đối ảnh của nó.

trong đó Aa, r, n, p, q và Q được xác định giống như trong điểm 1, PEG là polyetylen glycol có công thức  $-(OCH_2CH_2)_r$ .

7. Phương pháp điều chế hợp chất theo điểm 1, trong đó phương pháp này bao gồm các bước lần lượt là (i) nitro hóa dây thorn của đơn vị indol, (ii) khử nhóm nitro trên

vòng benzen của đơn vị indol thành amin, và (iii) ngưng tụ hợp chất amin tạo thành với nhóm liên kết có nhóm carboxylic có khả năng phản ứng hoặc có thể phản ứng để tạo ra liên kết amit như được thể hiện dưới đây:



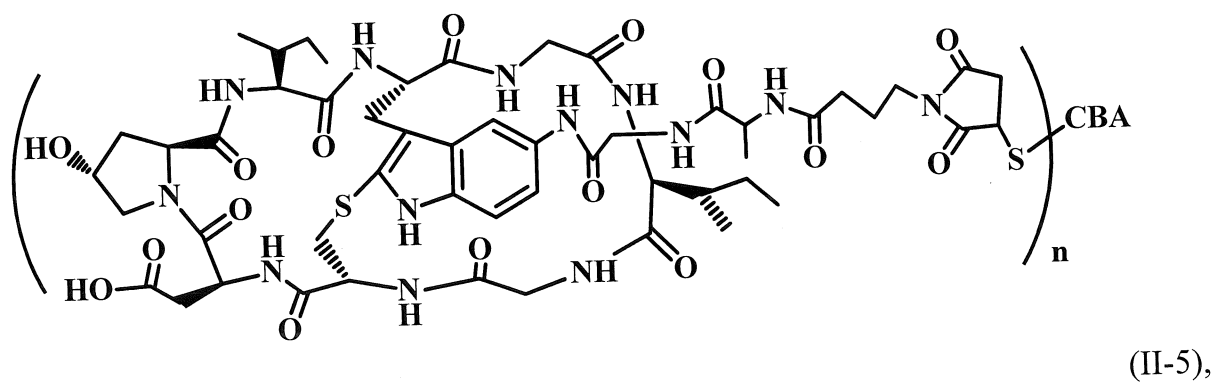
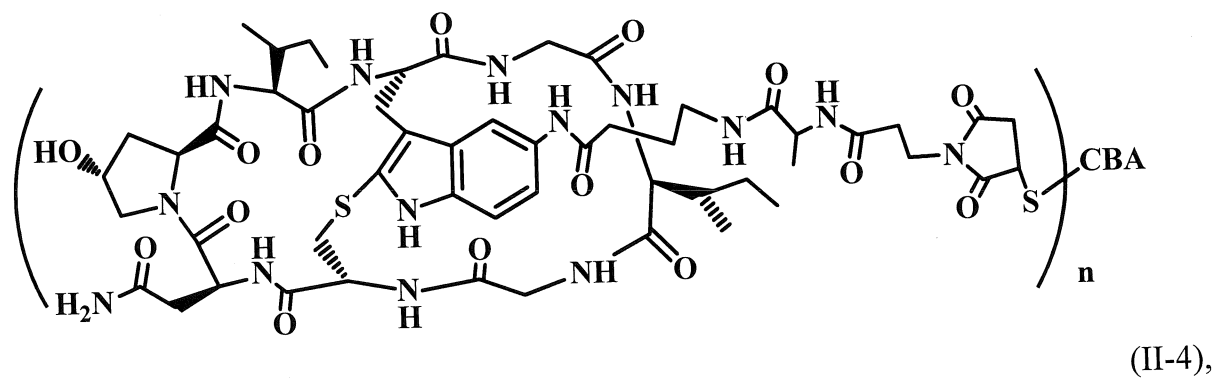
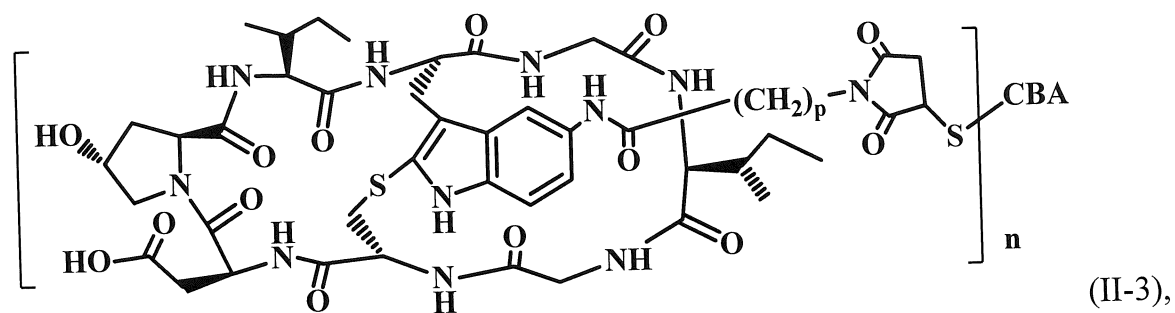
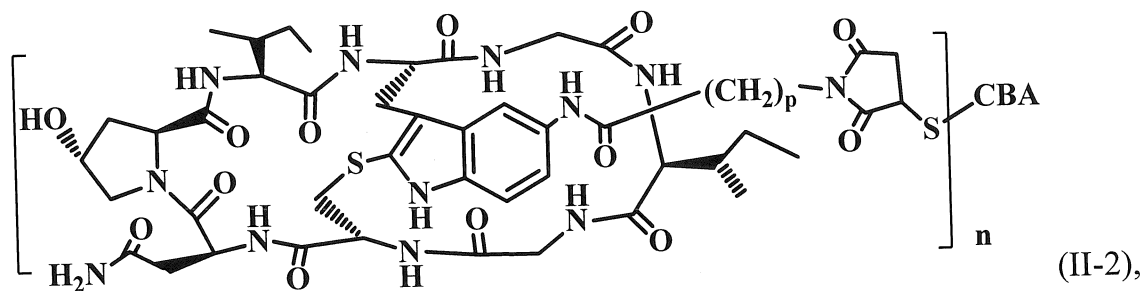
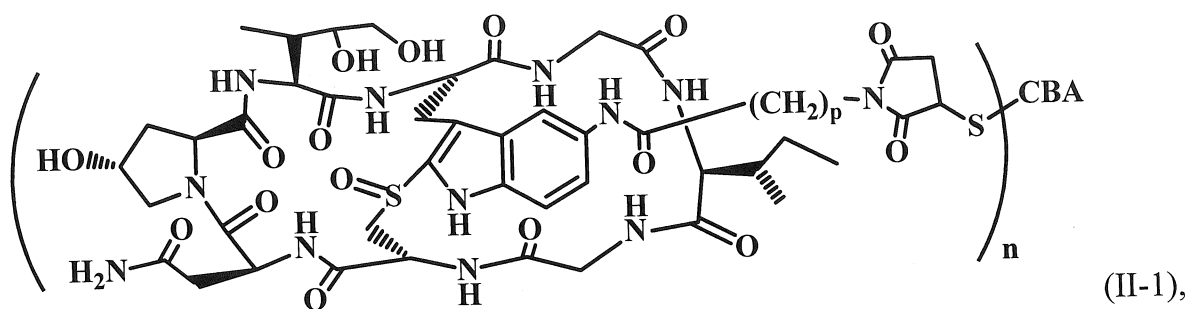
trong đó  $R_{10}$ , L và Q được xác định giống như trong điểm 1, trong đó Lv là nhóm rời chuyển được chọn từ nhóm bao gồm OH, halogen, NHS (N-hydroxyl succinimit), nitrophenol, pentalflophenol, và hợp chất trung gian được tạo ra từ sự liên kết peptit hoặc từ phản ứng Mitsunobu.

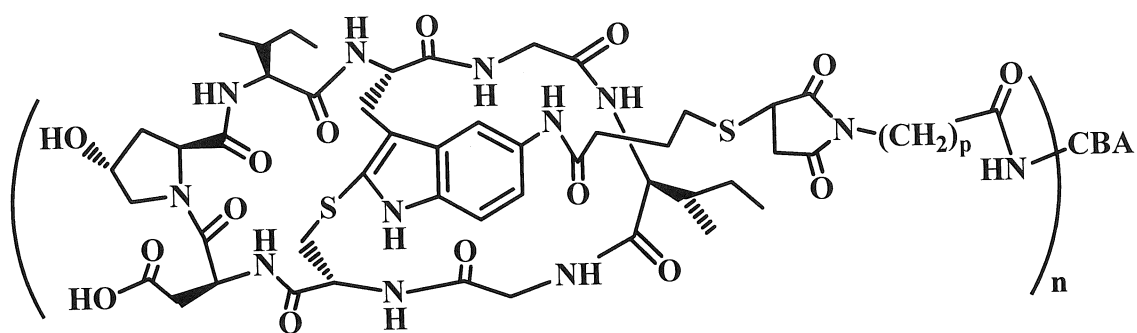
8. Hợp chất theo điểm 1, trong đó nhóm liên kết L có thể được chọn từ nhóm bao gồm:  $R_{12}$ ,  $OR_{12}$ ,  $OR_{12}O$ ,  $NHR_{12}$ ,  $NHR_{12}NH$ ,  $NR_{11}R_{12}$ ,  $SR_{12}S$ ,  $OR_{12}NH$ ,  $OR_{12}Ar$ ,  $NHR_{12}Ar$ ,  $NR_{11}R_{12}NR_{12}'R_{12}''$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p(Aa)_r(CR_{12}'R_{12}'')_q(OCH_2CH_2)_t$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p(CR_{12}'R_{12}'')_q(Aa)_r(OCH_2CH_2)_t$ ,  $-(Aa)_r(CR_{11}R_{12})_p(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,  $(OCH_2CH_2)_t$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p(CR_{12}'R_{12}'')_n(OCH_2CH_2)_t(Aa)_r$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p(CH=CH)(CR_{12}'R_{12}'')_q(Aa)_r(OCH_2CH_2)_t$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p(NR_{12}'CO)(Aa)_r(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,  $-(OCH_2CH_2)_t$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p(Aa)_t(NHCO)(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,  $-(OCH_2CH_2)_t$ ,  $(CR_{11}R_{12})_p(OCO)(Aa)_r$ ,  $(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,  $-(OCH_2CH_2)_t$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p(OCNR_7)(Aa)_r(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,  $(OCH_2CH_2)_t$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p(CO)-(Aa)_r(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,  $(OCH_2CH_2)_t$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p(NR_{11}CO)(Aa)_r(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,  $(OCH_2CH_2)_t$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p(OCO)(Aa)_r(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,  $(OCH_2CH_2)_t$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p(OCNR_7)(Aa)_r(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,  $(OCH_2CH_2)_t$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p(CO)(Aa)_r(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,  $(OCH_2CH_2)_t$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p$ ,  $phenyl-CO(Aa)_r(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p-furyl-CO-(Aa)_r(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p$ ,  $oxazolyl-CO(Aa)_r(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p-thiazolyl-CO(Aa)_r(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p-thienyl-CO(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p-imidazolyl-CO-(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p-morpholino-CO(Aa)_r(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p-piperazino-CO(Aa)_r$ ,  $(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,  $-(CR_{11}R_{12})_p-N-methylpiperazin-CO(Aa)_r(CR_{12}'R_{12}'')_q$ ,

$-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{Aa})_r\text{-phenyl-}$ ,  $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{Aa})_r\text{-furyl-}$ ,  $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-oxazolyl}(\text{Aa})_r\text{-}$ ,  
 $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-thiazolyl}(\text{Aa})_r\text{-}$ ,  $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-thienyl}(\text{Aa})_t\text{-}$ ,  $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-imidazolyl}(\text{Aa})_r\text{-}$ ,  
 $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-morpholino}(\text{Aa})_r\text{-}$ ,  $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-piperazino}(\text{Aa})_r\text{-}$ ,  $-(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-N-}$   
 $\text{methylpiperazino}(\text{Aa})_r\text{-}$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$ ,  
 $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{Aa})_r(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$ ,  $-\text{K}(\text{Aa})_r(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q$   
 $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r(\text{Aa})_t$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{CR}_7=\text{CR}_8)(\text{C}$   
 $\text{R}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{Aa})_r(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$ ,  
 $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{NR}_7\text{CO})(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{Aa})_t(\text{NR}_7\text{-}$   
 $\text{CO})(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{OCO})(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$ ,  $-\text{K}$   
 $(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{OCNR}_7)(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$ ,  
 $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{CO})(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$ ,  
 $-\text{K}(-\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{NR}_{11}\text{CO})(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$ ,  
 $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{OCO})(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{OCNR}_7)(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}$   
 $'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{CO})(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r\text{Q}$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})$   
 $p\text{-phenyl-CO}(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-furyl-CO}(\text{Aa})_t$ ,  
 $(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-oxazolyl-CO}(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-}$   
 $\text{thiazolyl-CO}(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-thienyl-CO}(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q$ ,  
 $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-imidazolyl-CO}(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-}$   
 $\text{morpholino-CO}(\text{Aa})_t(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-piperazino-CO}(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q$ ,  
 $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-N-methylpiperazin-CO}(\text{Aa})_r(\text{CR}_{12}'\text{R}_{12}'')_q$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p(\text{Aa})_r\text{-phenyl-}$ ,  
 $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_m(\text{Aa})_r\text{-furyl-}$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-oxazolyl}(\text{Aa})_r\text{-}$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_m\text{-thiazolyl-}$   
 $(\text{Aa})_r\text{-}$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-thienyl}(\text{Aa})_r\text{-}$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-imidazolyl}(\text{Aa})_r\text{-}$ ,  $-\text{K}((\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_m\text{-}$   
 $\text{morpholino}(\text{Aa})_r\text{-}$ ,  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_p\text{-piperazino}(\text{Aa})_t\text{-}$ , và  $-\text{K}(\text{CR}_{11}\text{R}_{12})_m\text{N-}$   
 $\text{methylpiperazino}(\text{Aa})_r$ ,

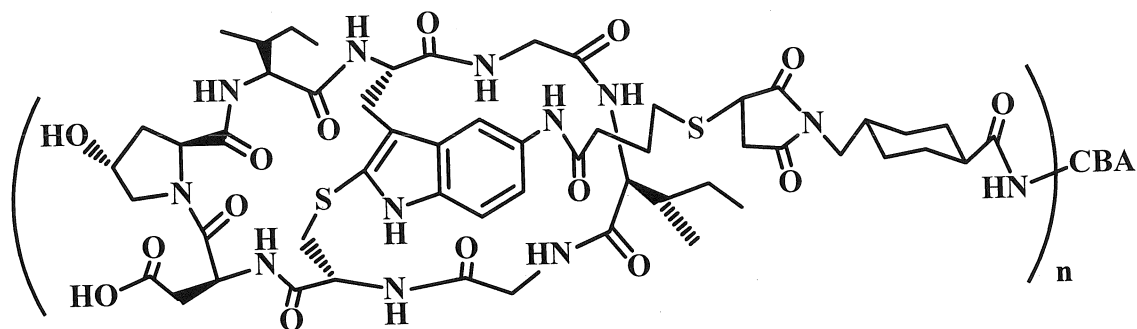
trong đó K là  $\text{NR}_{12}$ , O, S, Se, B,  $\text{C}_3\sim\text{C}_{10}$  của Ar hoặc dị vòng; trong đó Aa, r, n,  
 p, q, t,  $\text{R}_7$ ,  $\text{R}_{11}$ ,  $\text{R}_{12}$ ,  $\text{R}_{12}'$ ,  $\text{R}_{12}''$  là như được xác định trong điểm 1.

9. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức từ (II-1) đến (II-91) sau  
 đây:

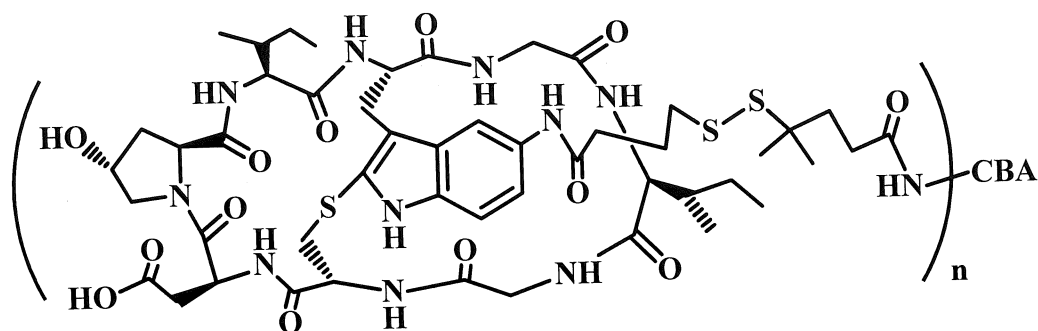




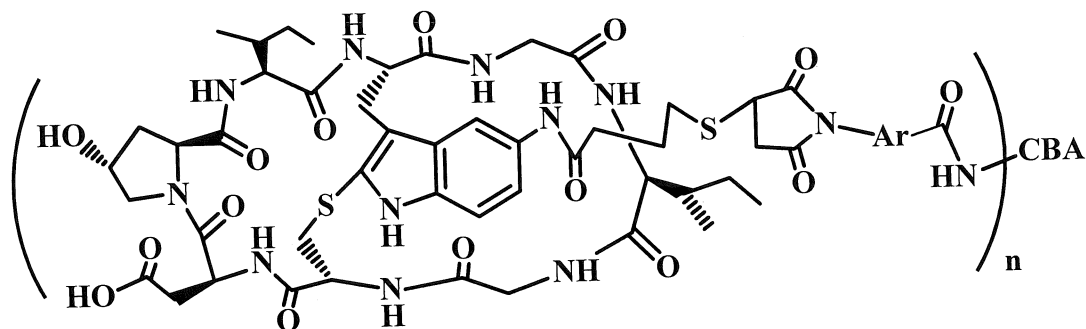
(II-6),



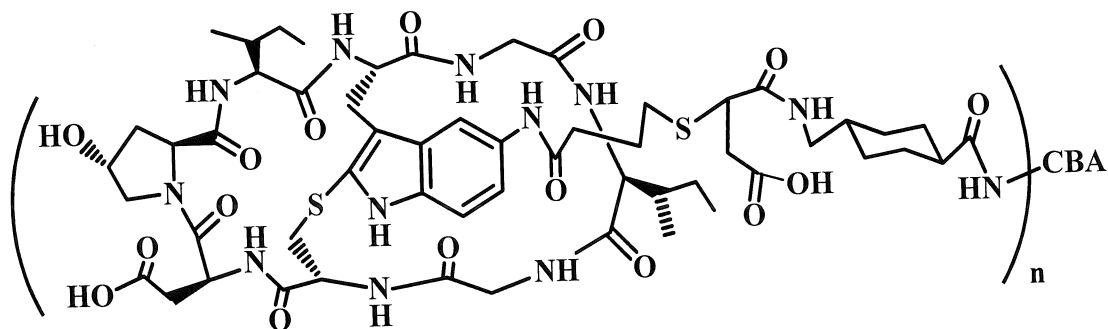
(II-7),



(II-8),



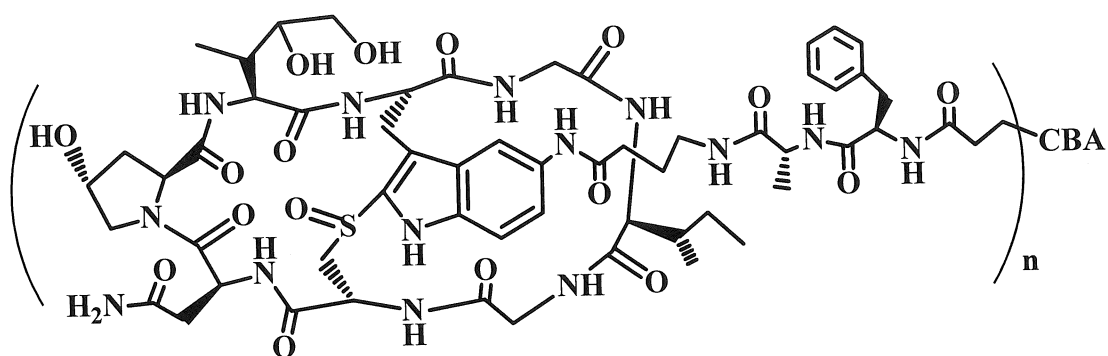
(II-9),



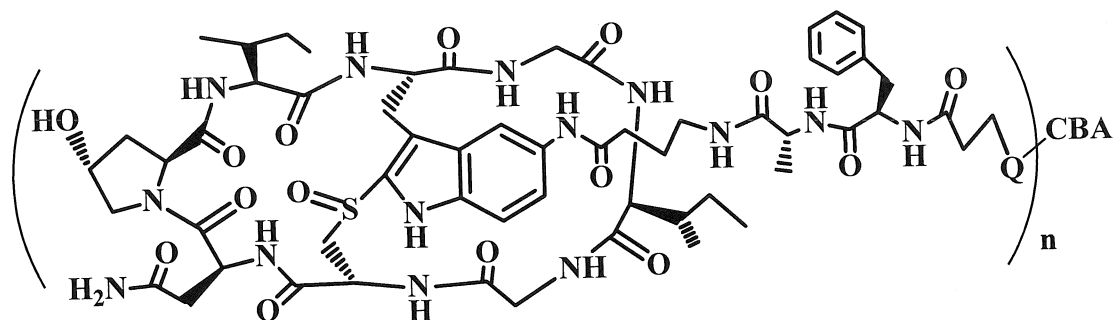
(II-10),

The chemical structure of copolymer P1 is shown. It features a central benzimidazole core. The benzimidazole ring is substituted with a hydroxyl group (HO) and a carboxylic acid group (COOH). The benzimidazole core is linked to various side chains, including a hydroxyl group (HO), a carboxylic acid group (COOH), and a CBA-terminated poly(ester sulfone) chain. The structure is enclosed in brackets with a subscript 'n'.

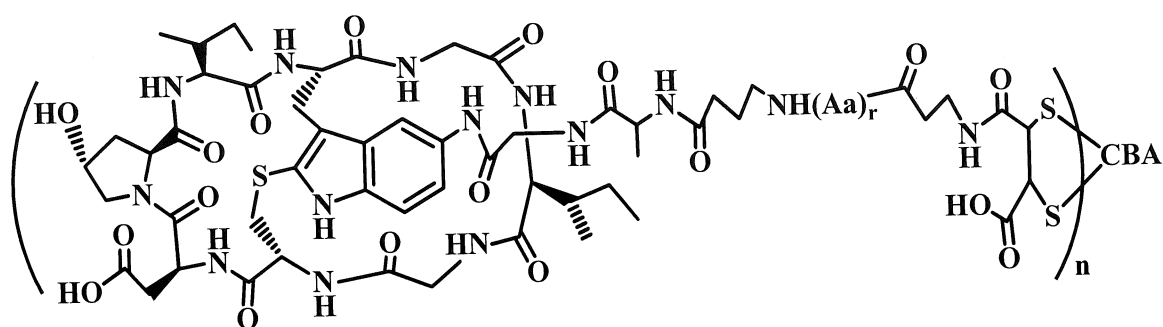
-235-



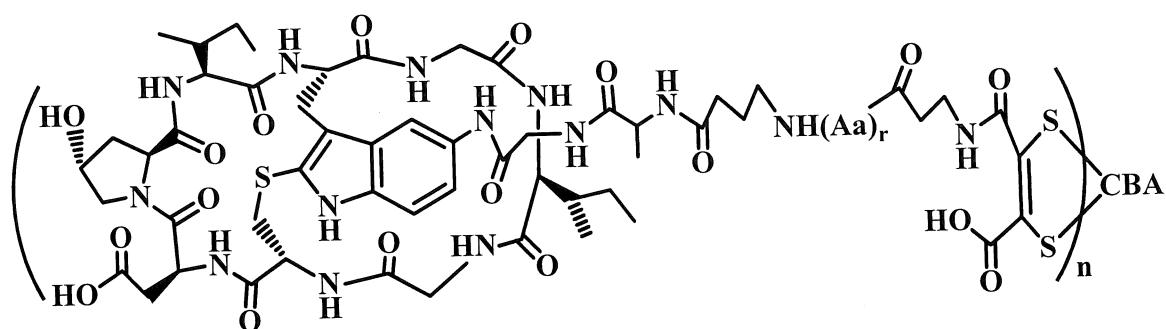
(II-15),



(II-16),

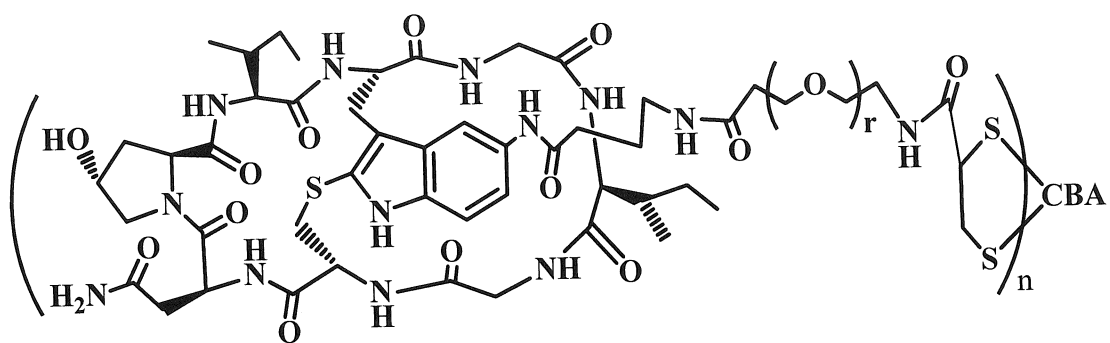


(II-17),

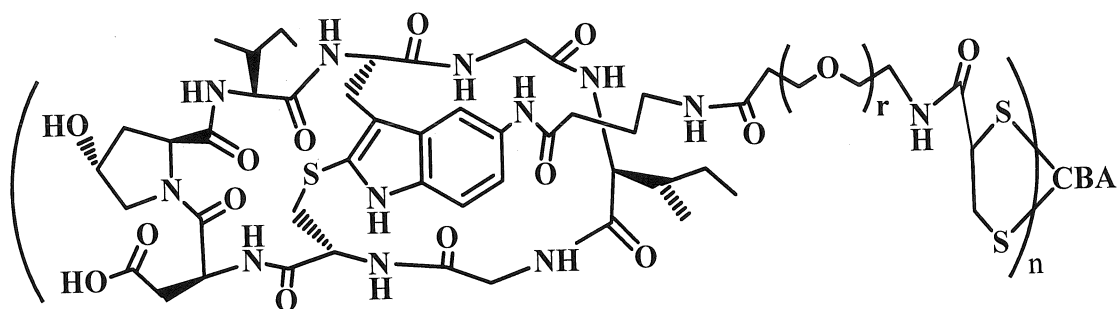


(II-18),

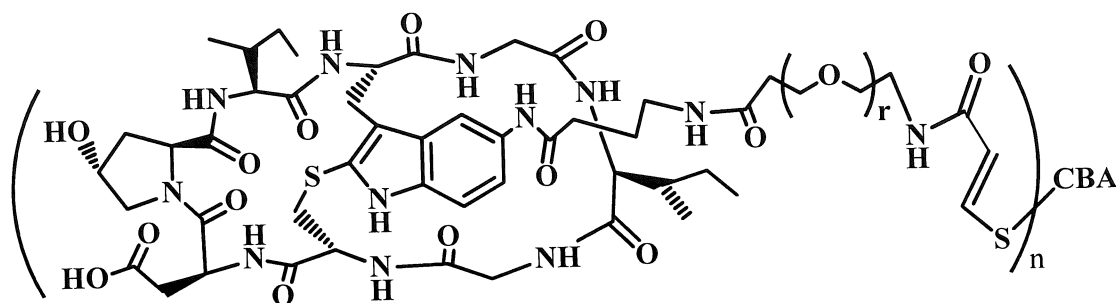




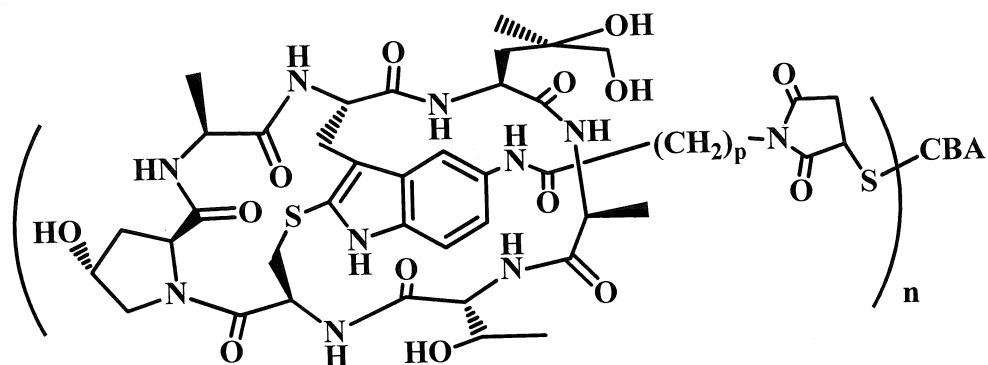
(II-19),



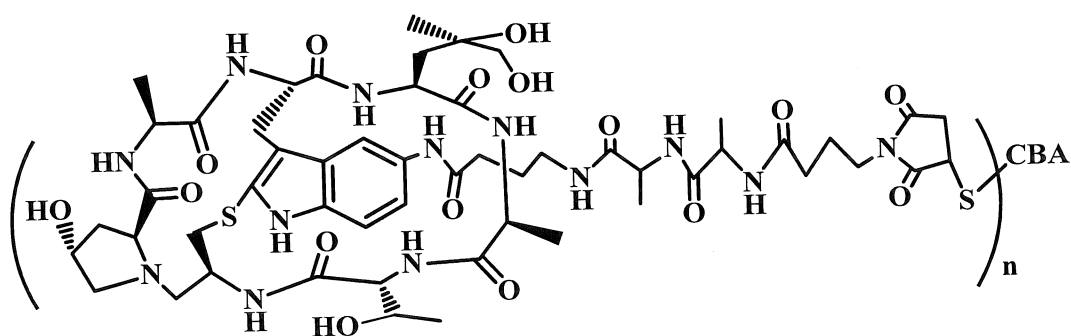
(II-20),



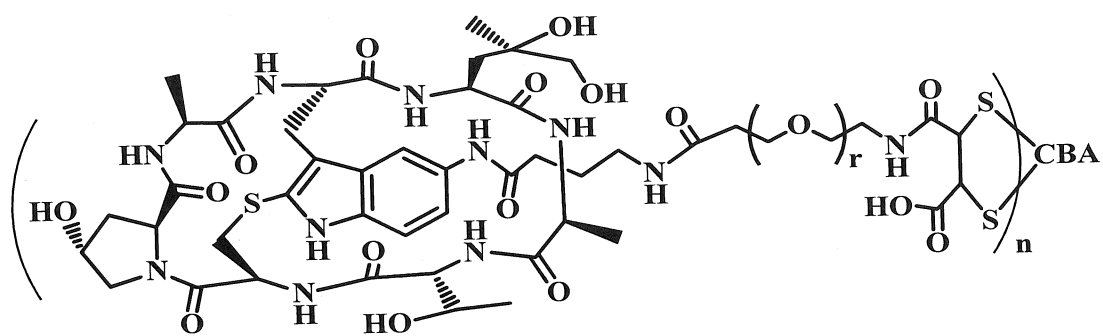
(II-21),



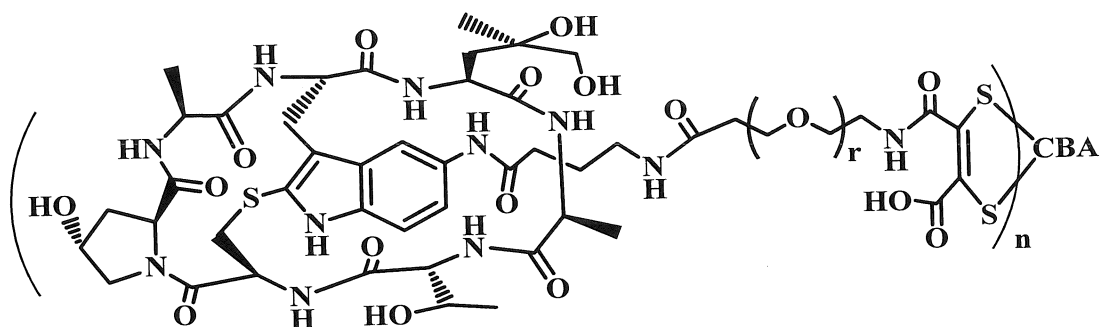
(II-22),



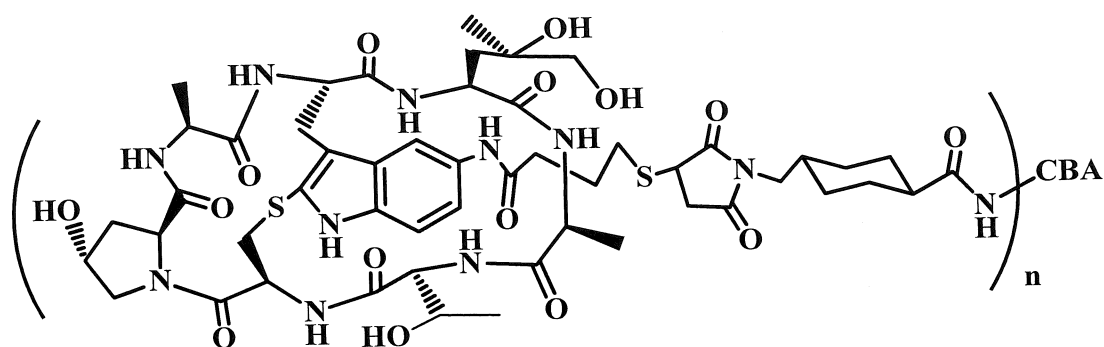
(II-23),



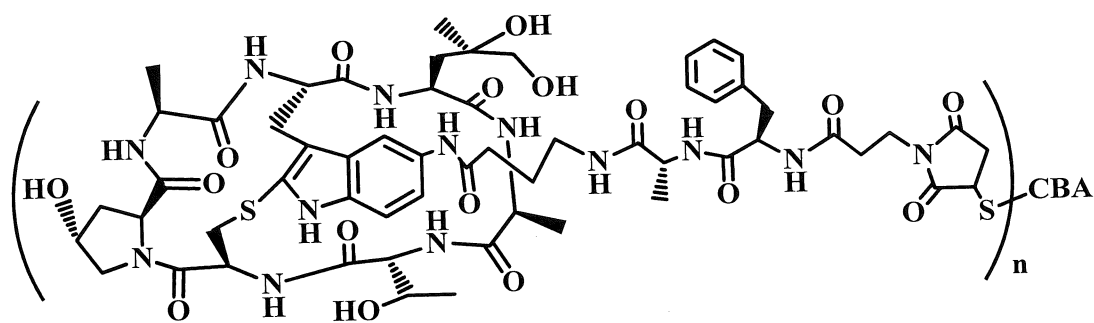
(II-24),



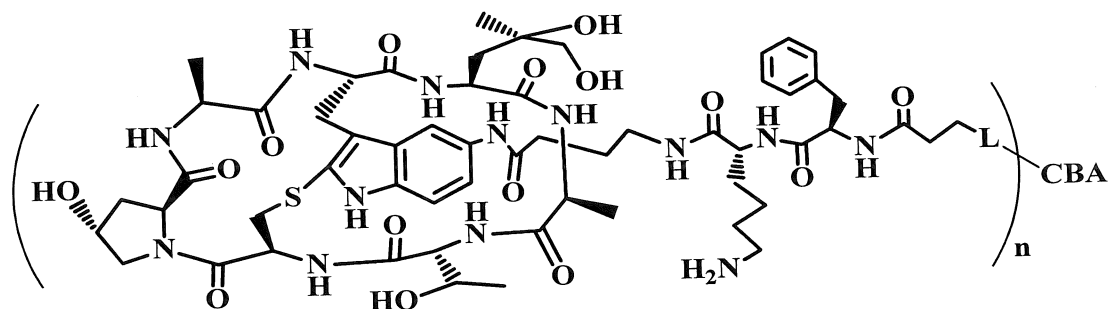
(II-25),



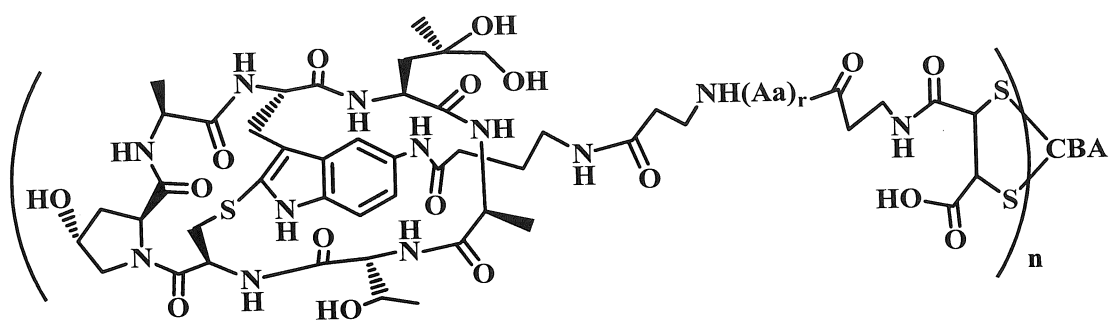
(II-26),



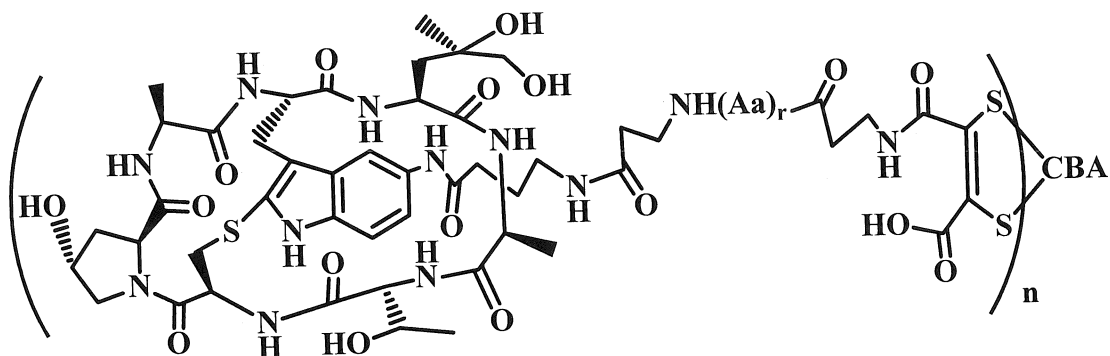
(II-27),



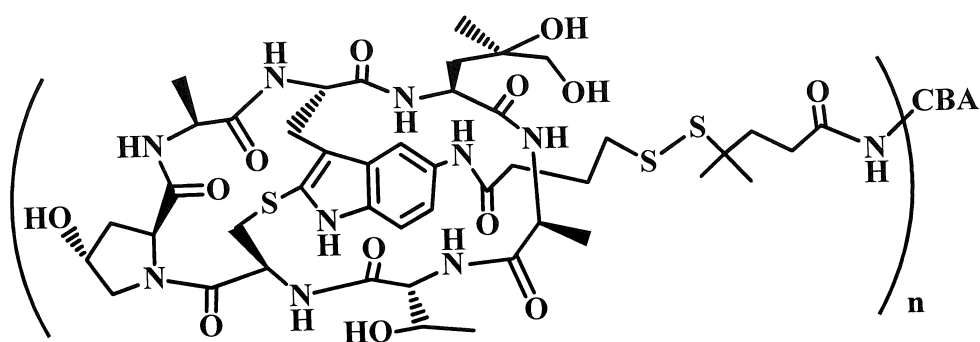
(II-28),



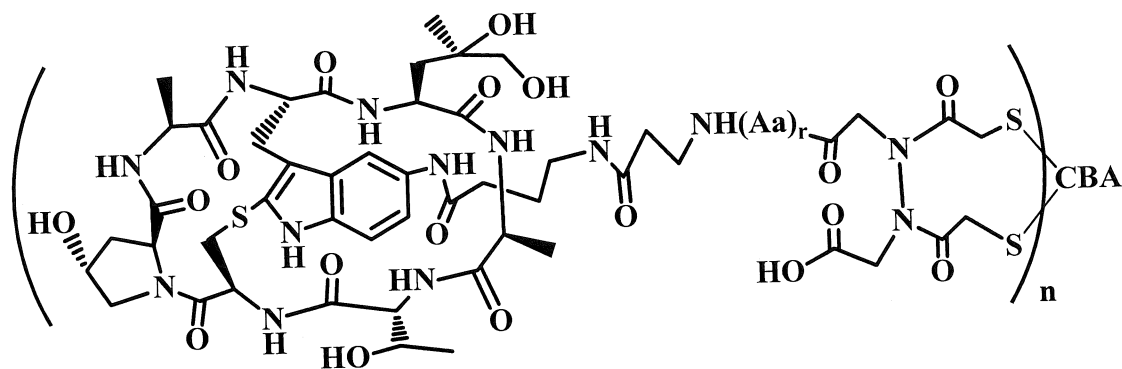
(II-29),



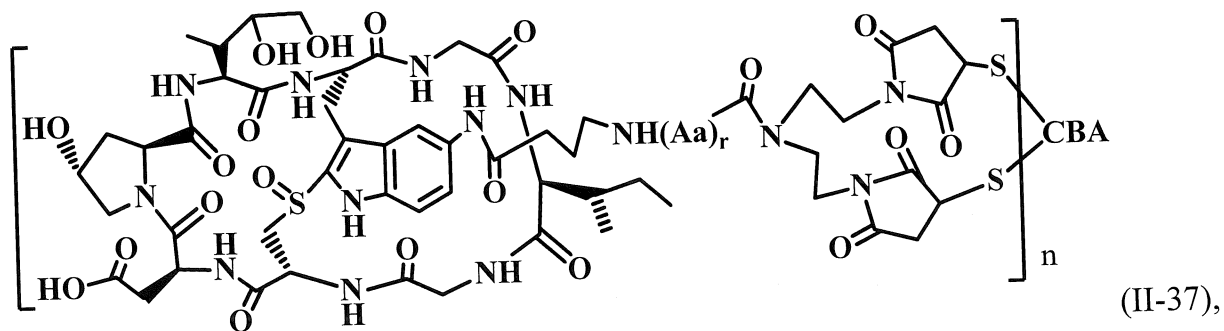
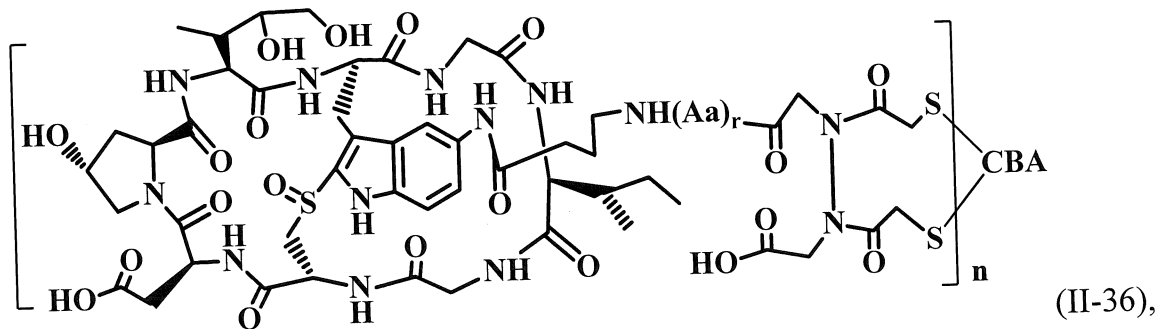
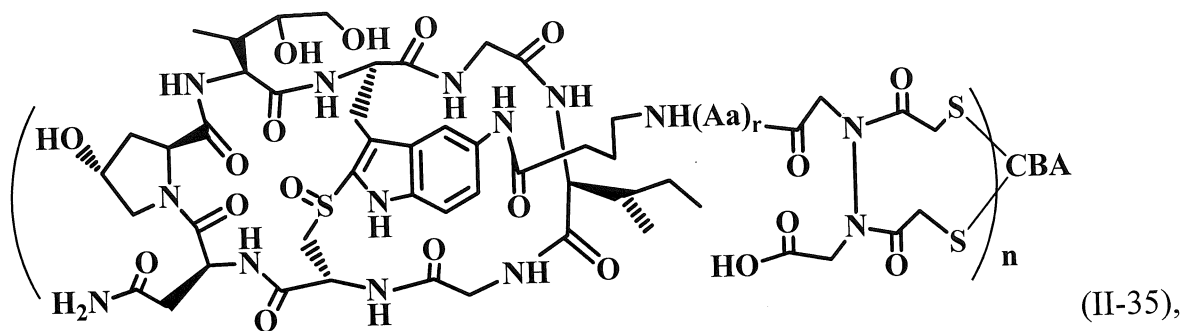
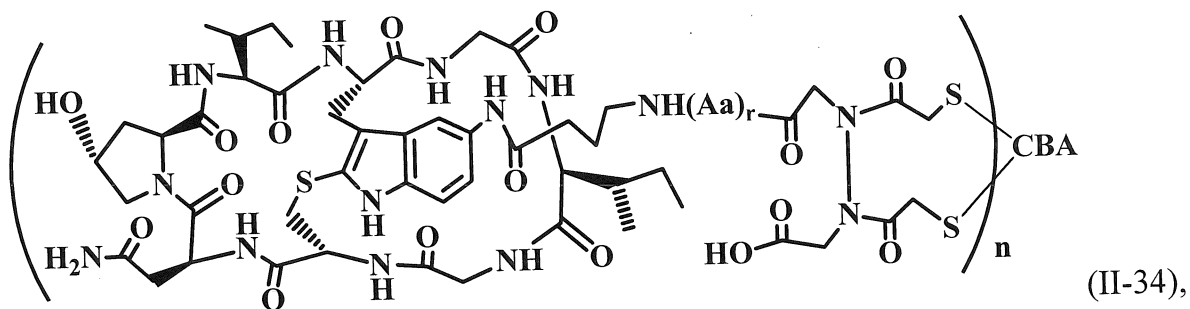
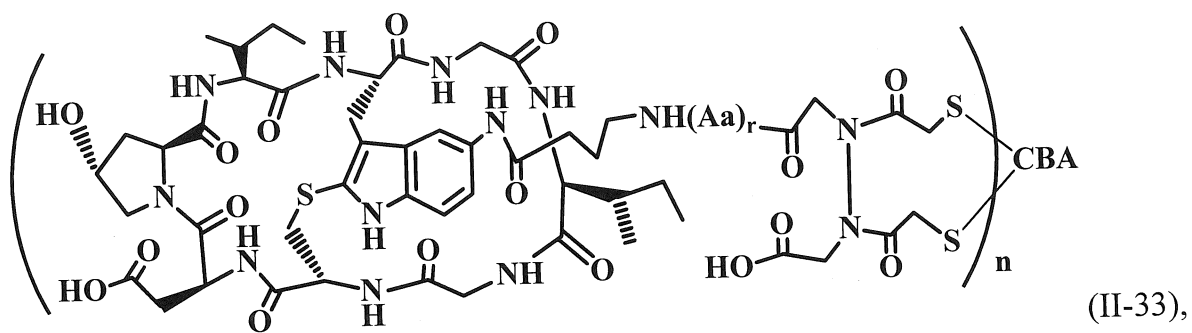
(II-30),

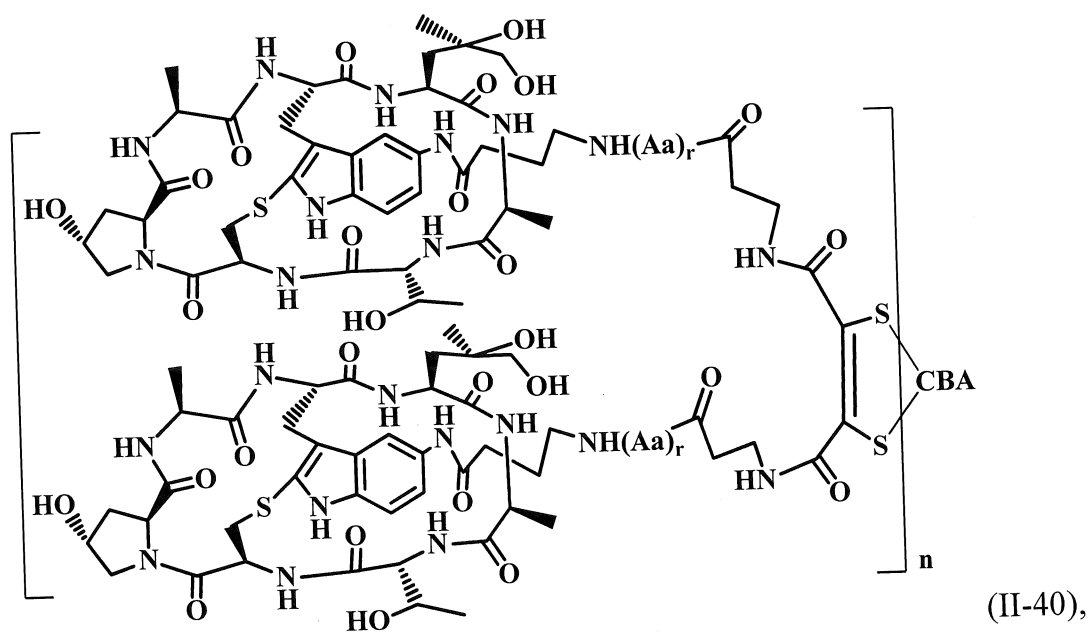
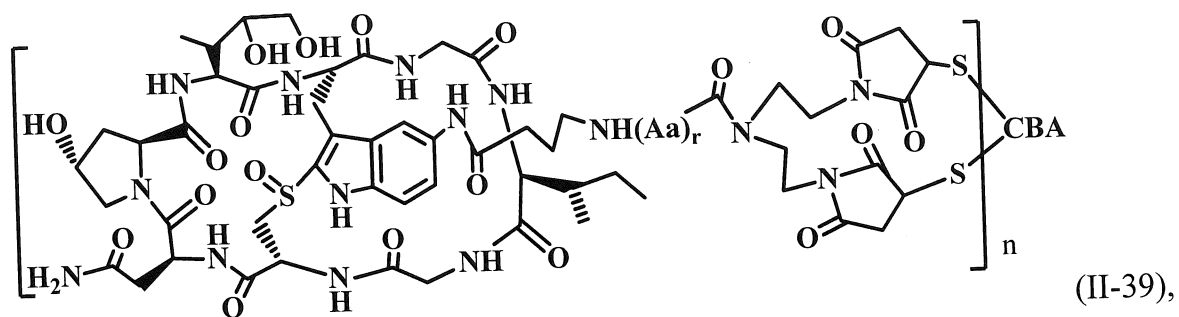
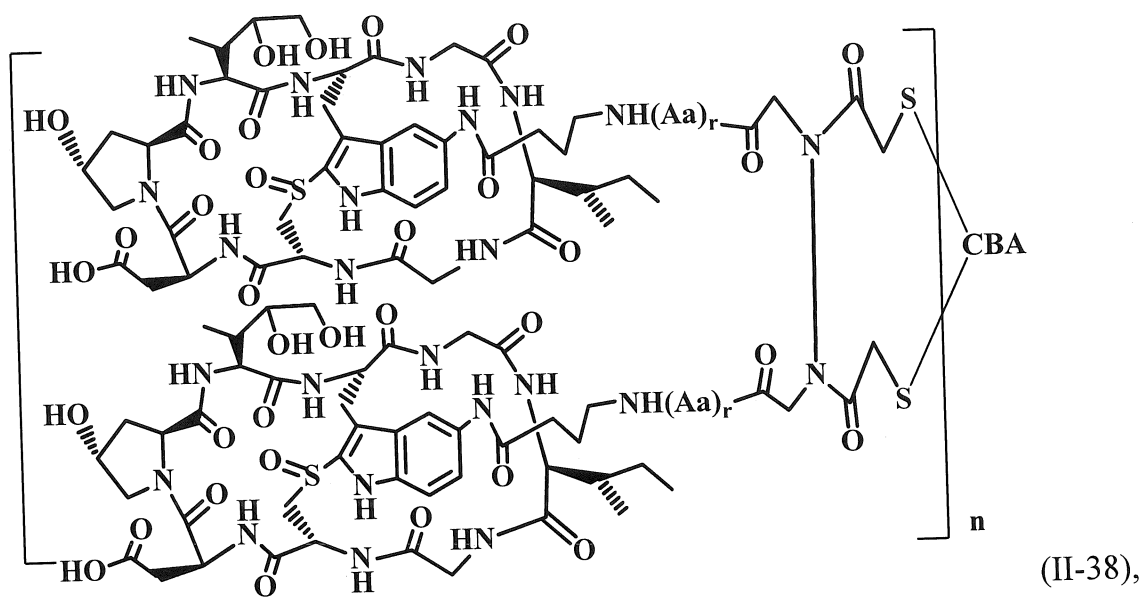


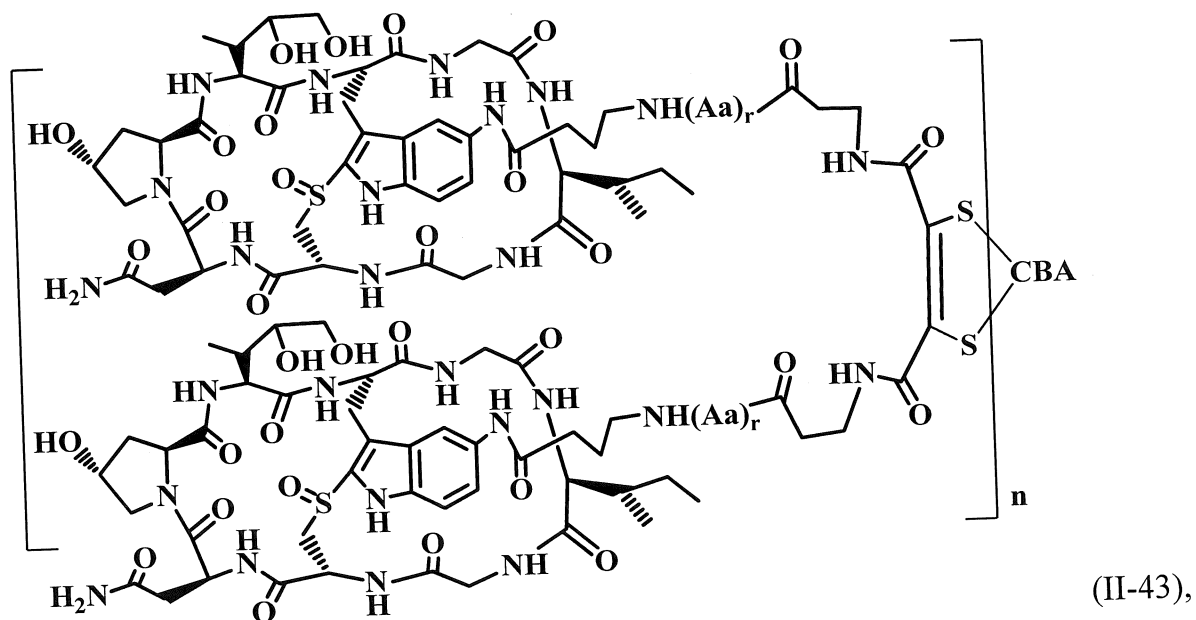
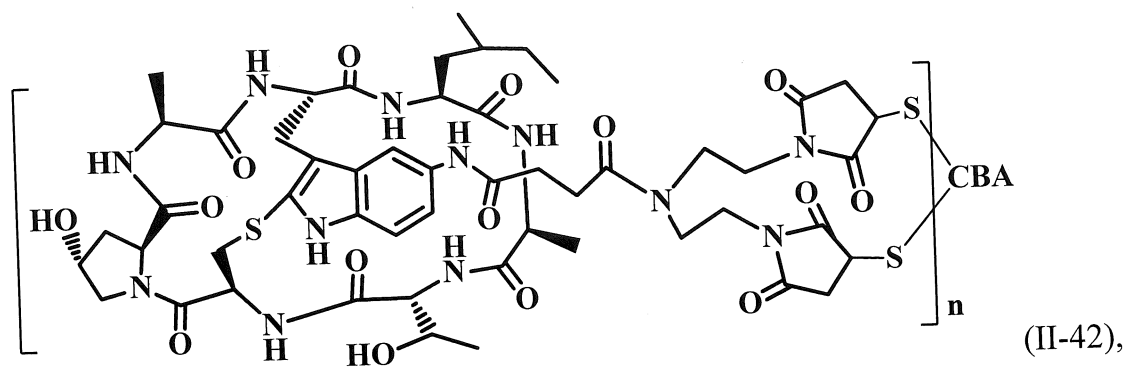
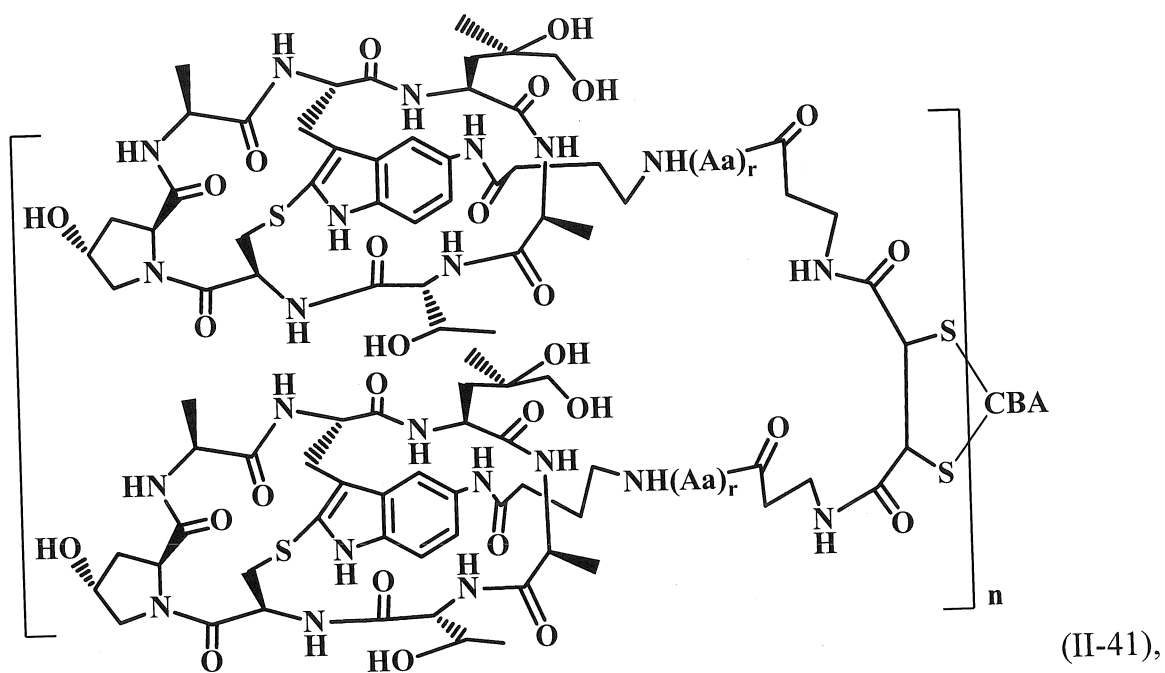
(II-31),

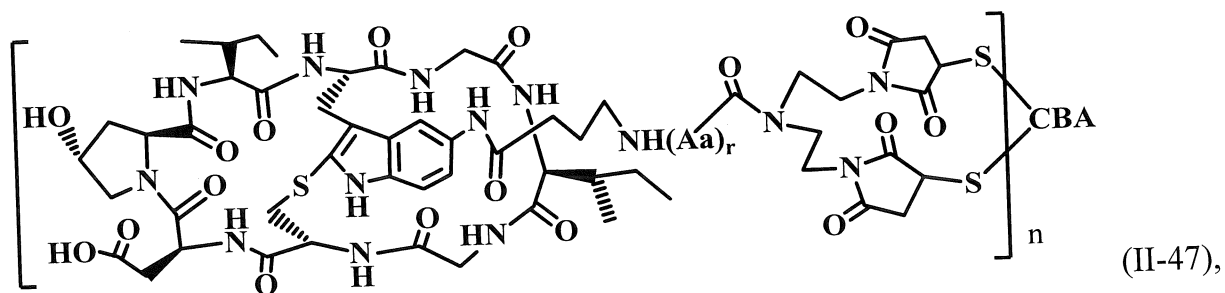
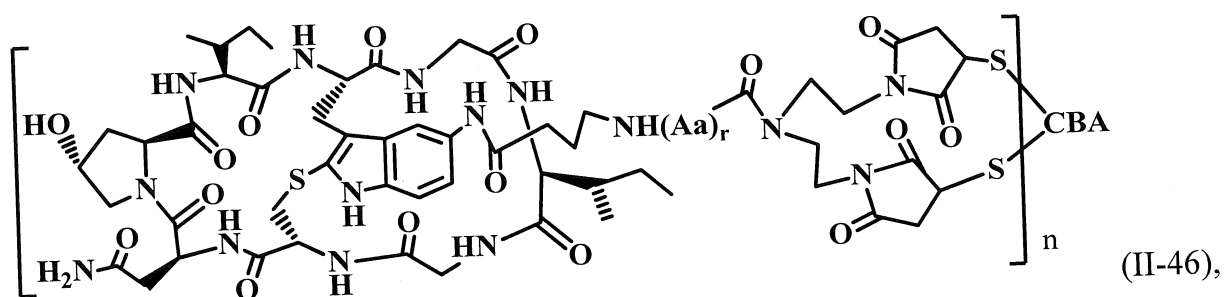
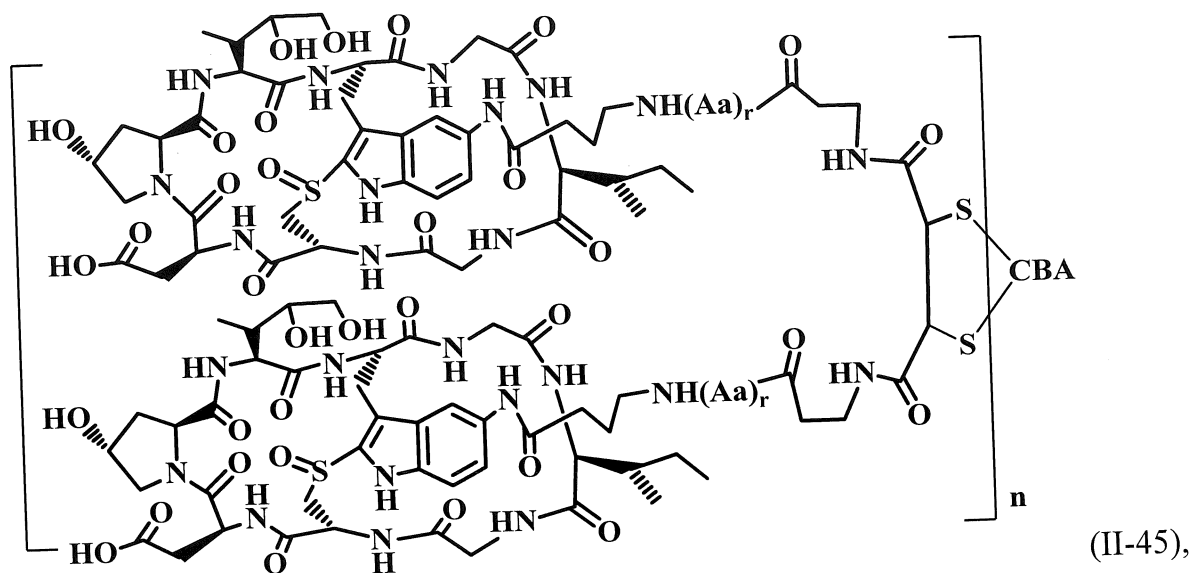
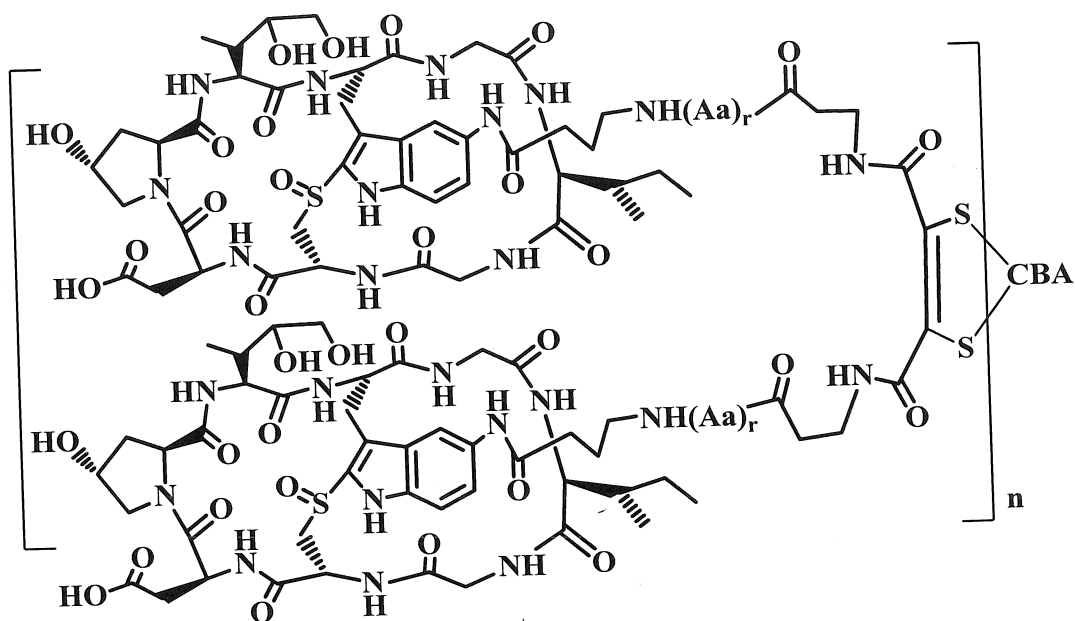


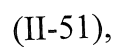
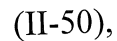
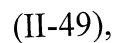
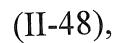
(II-32),



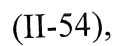
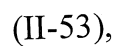
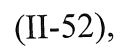


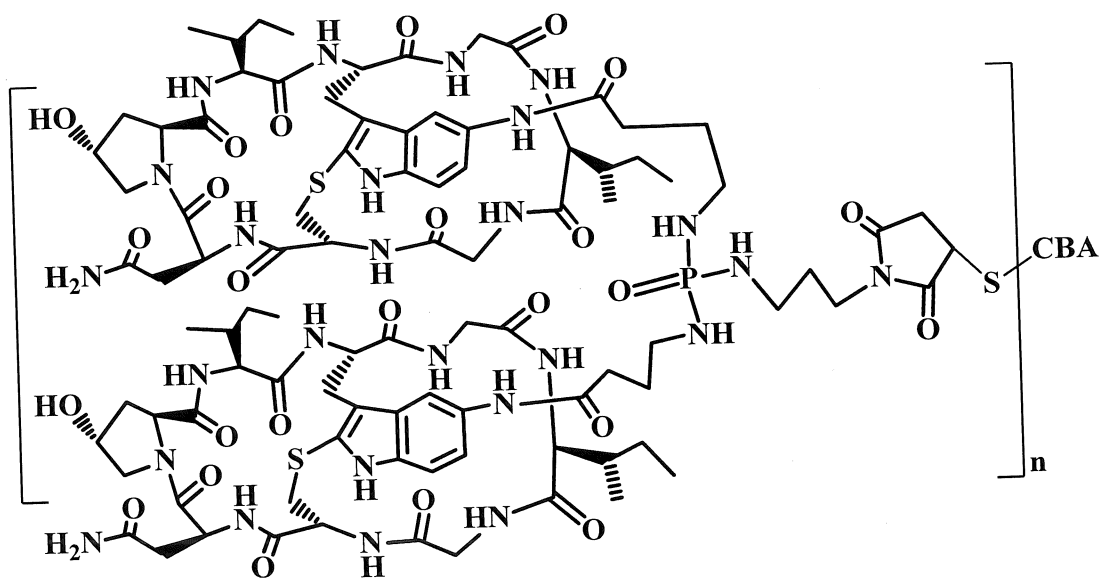
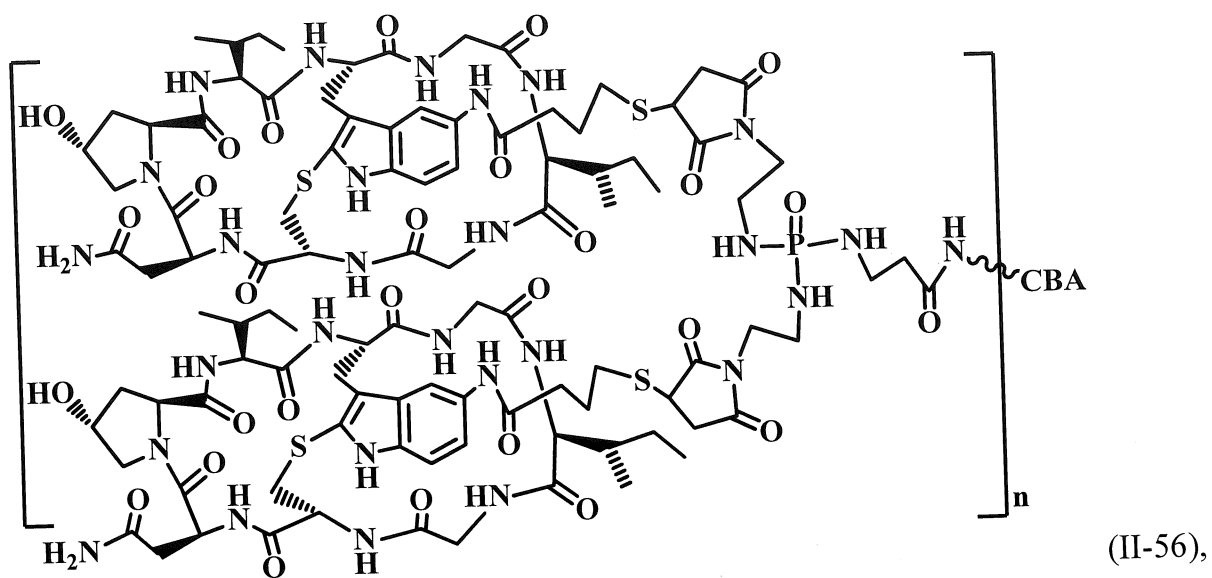
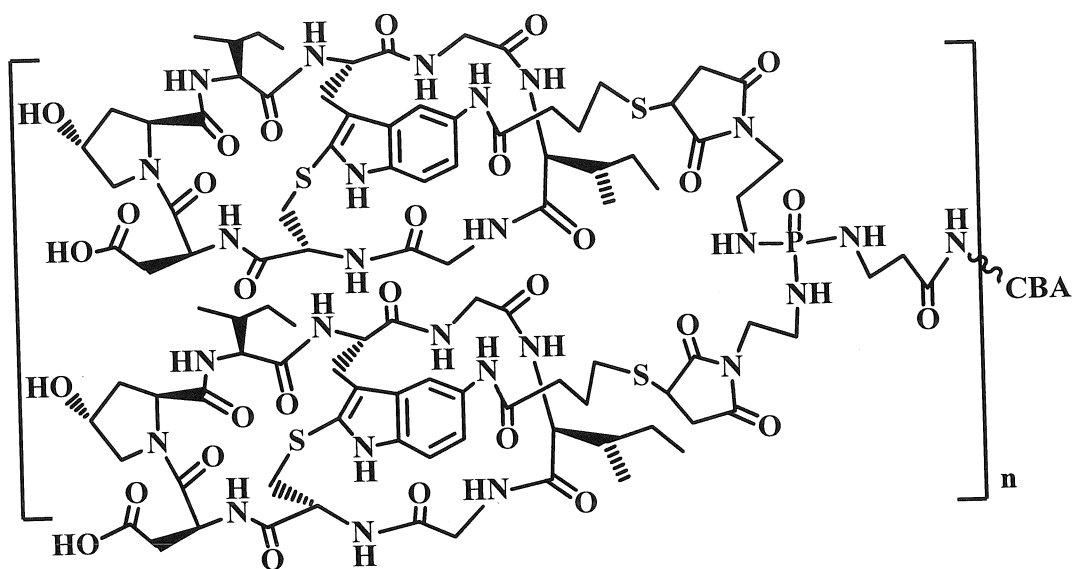


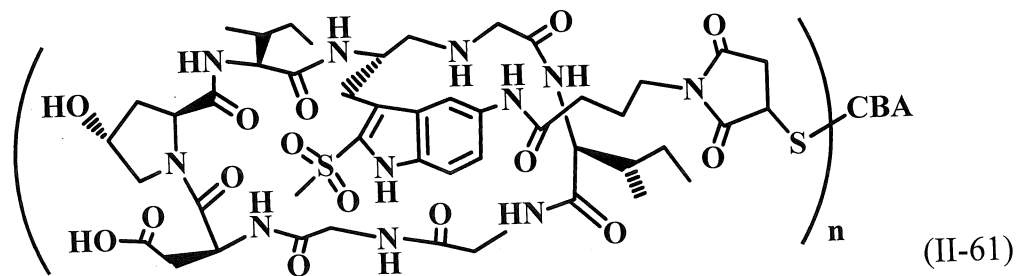
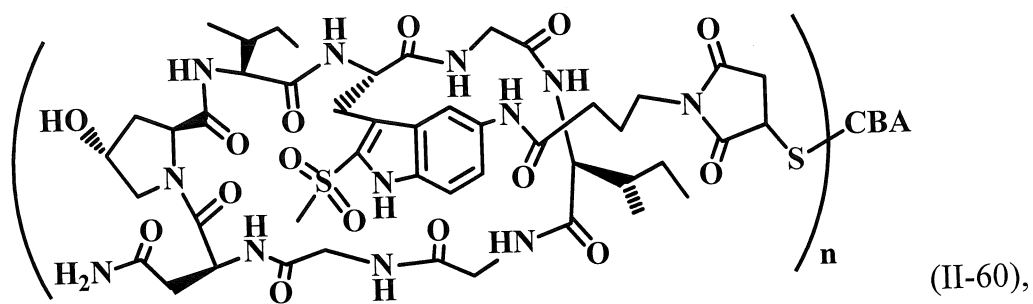
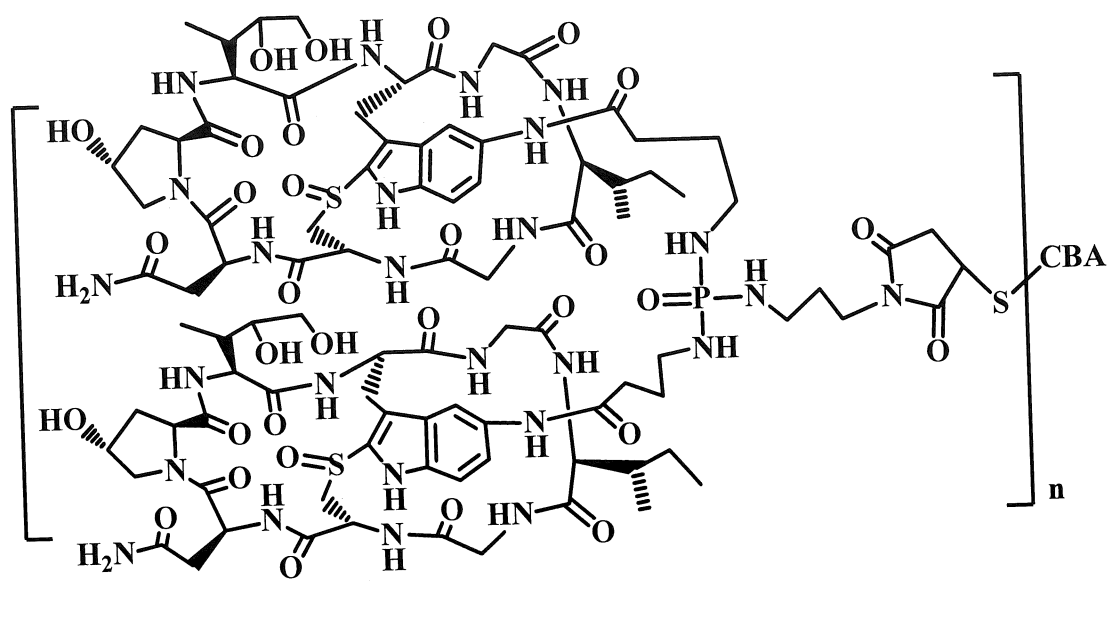
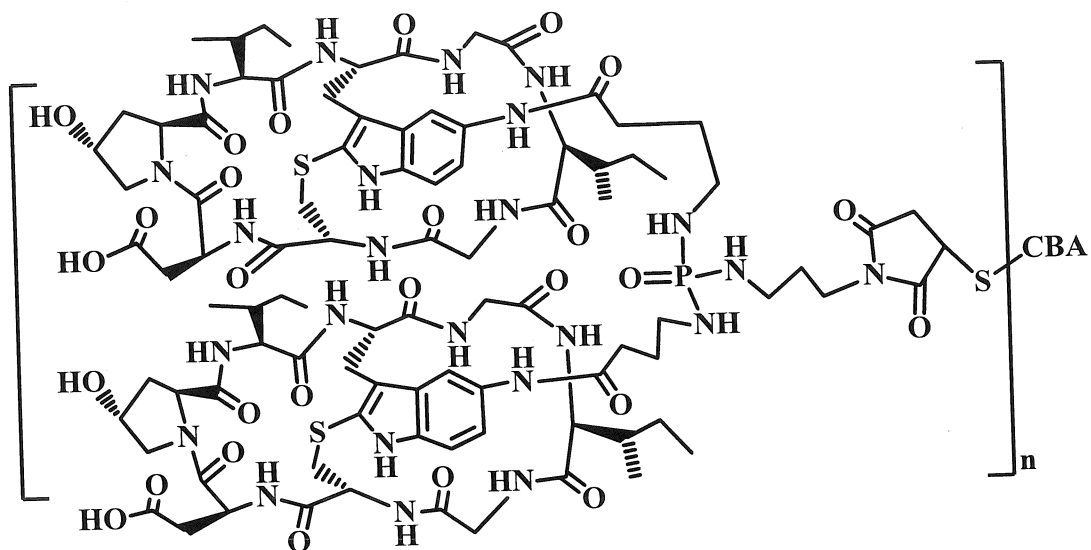


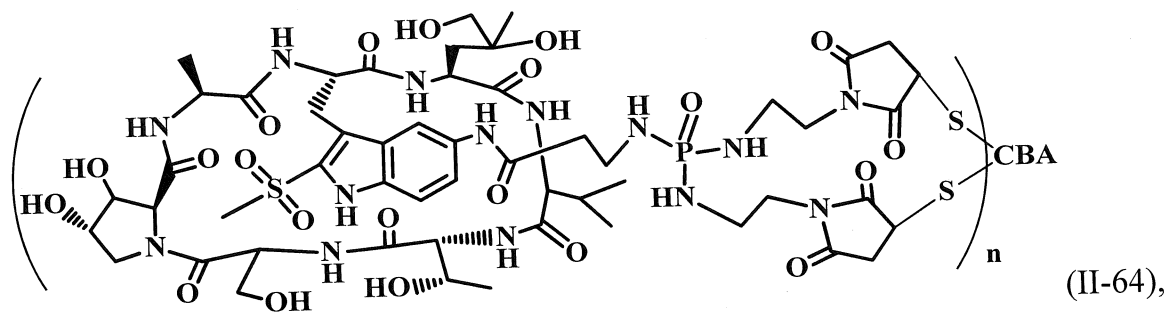
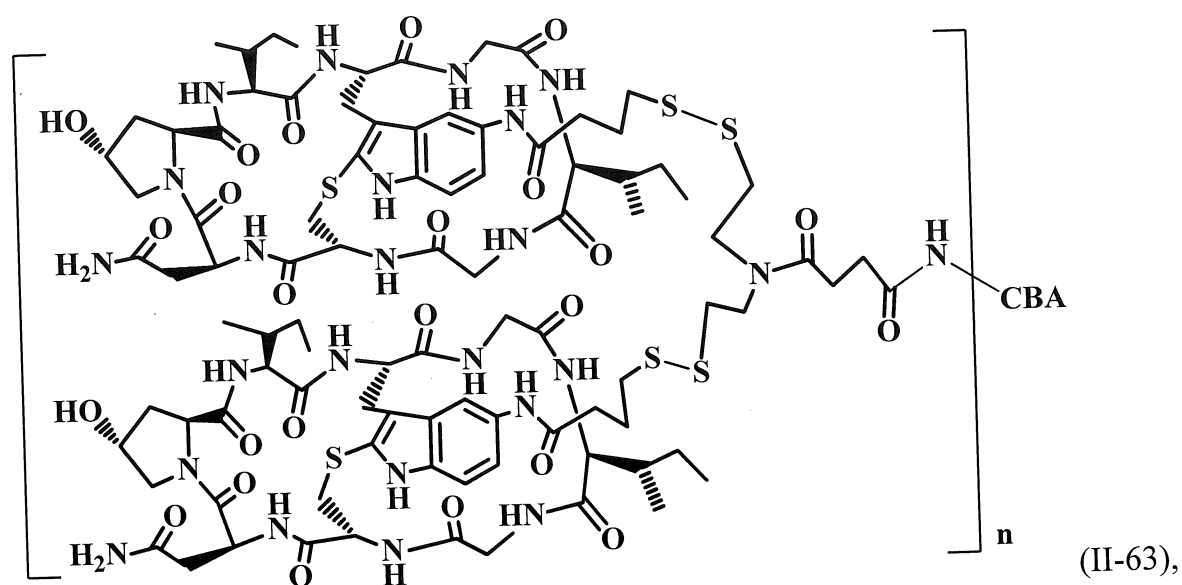
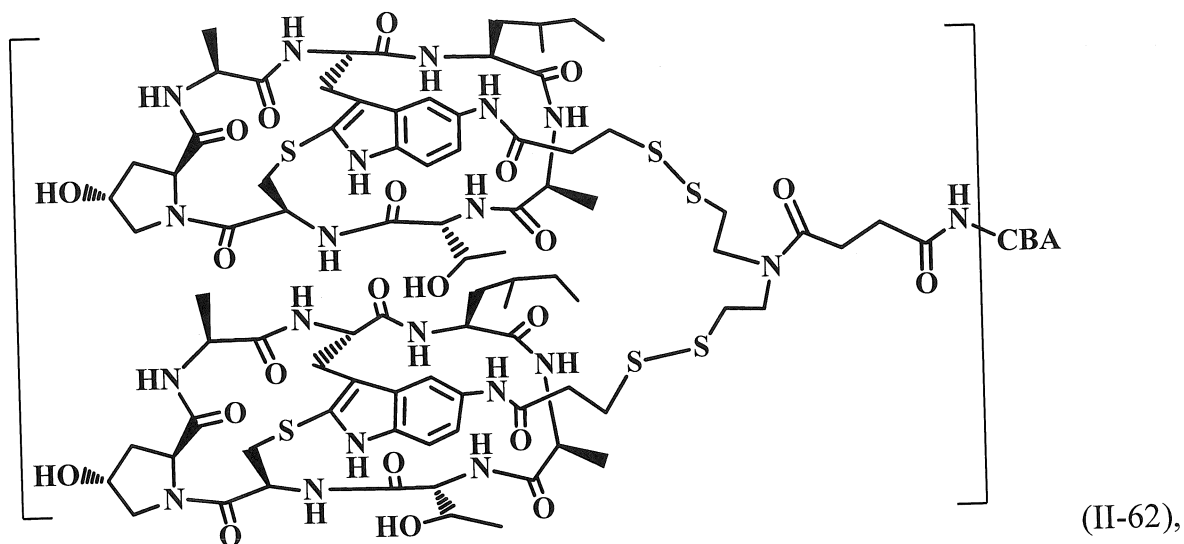


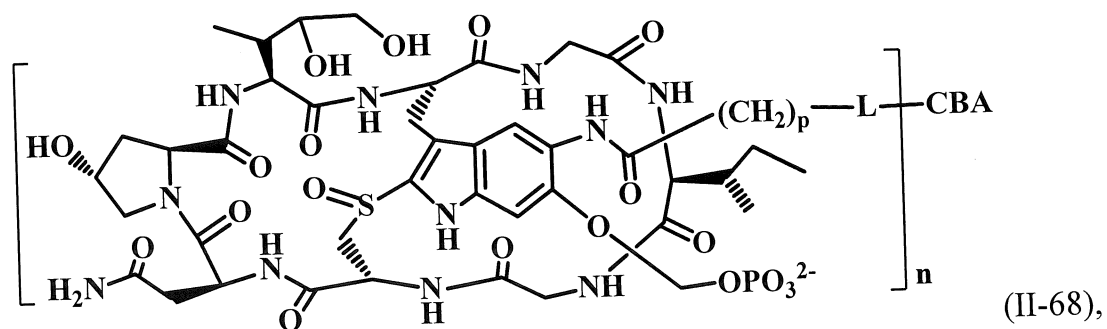
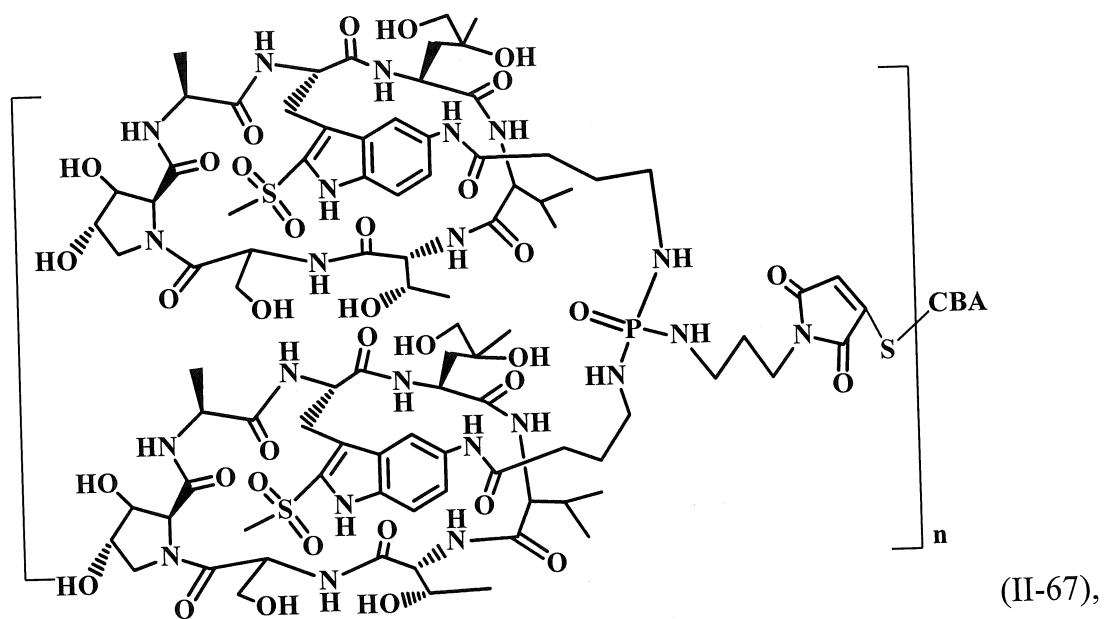
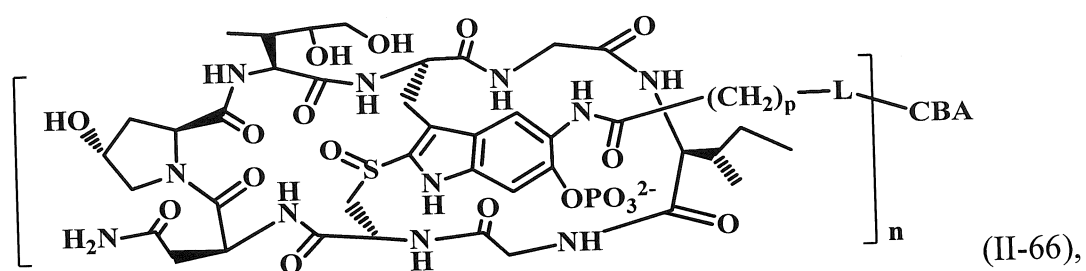
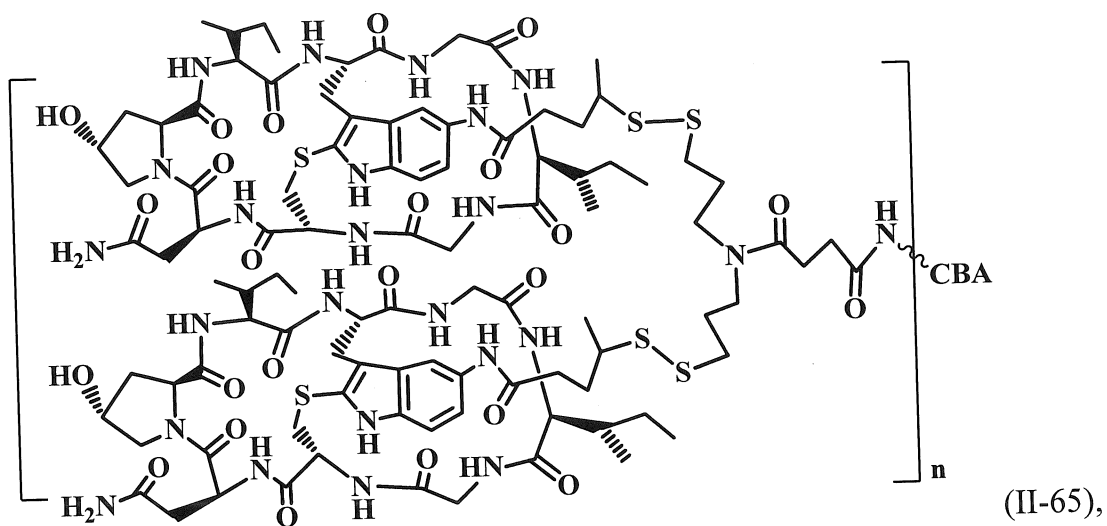


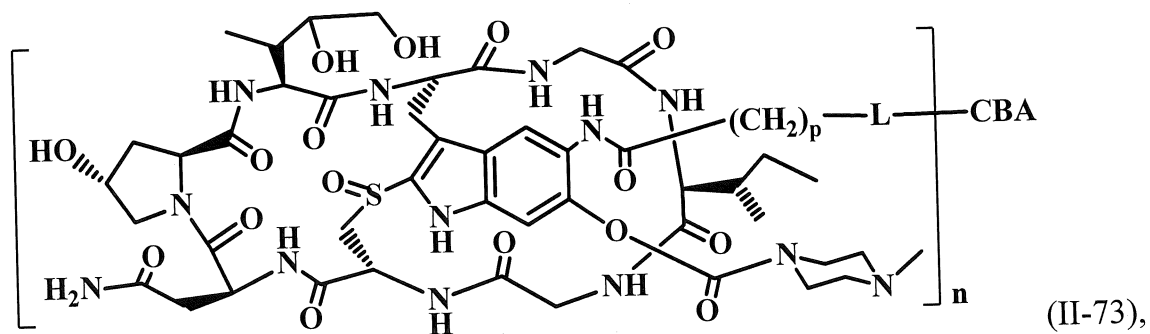
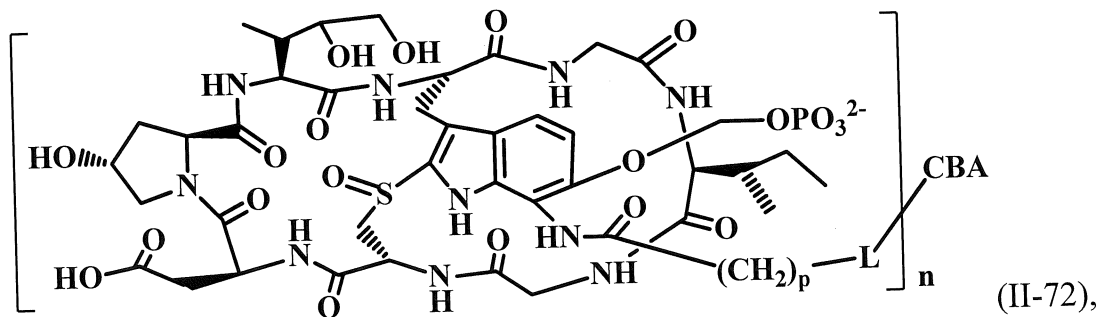
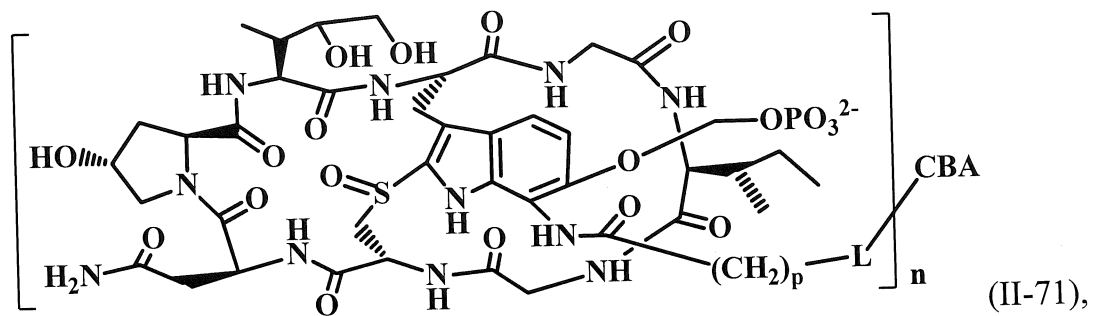
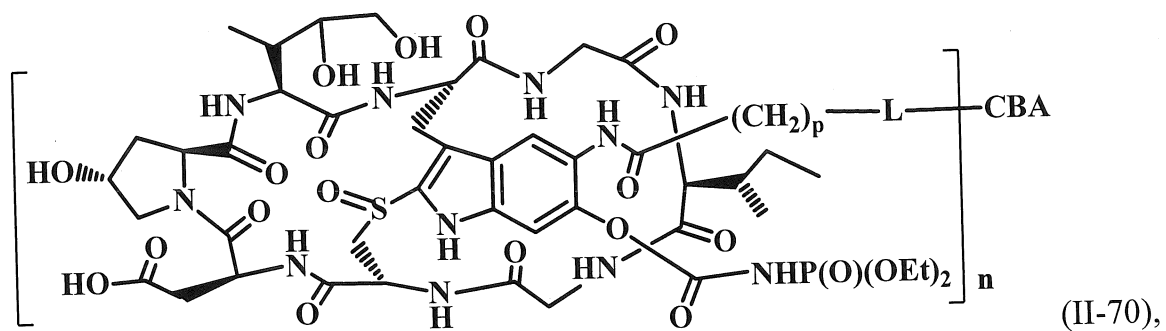
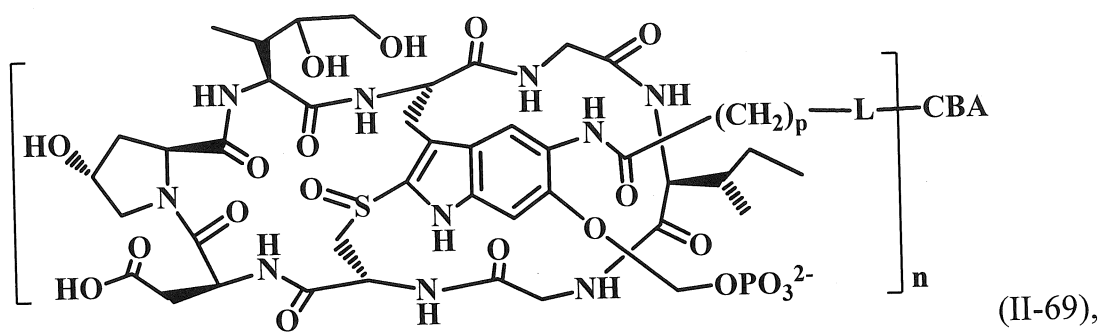


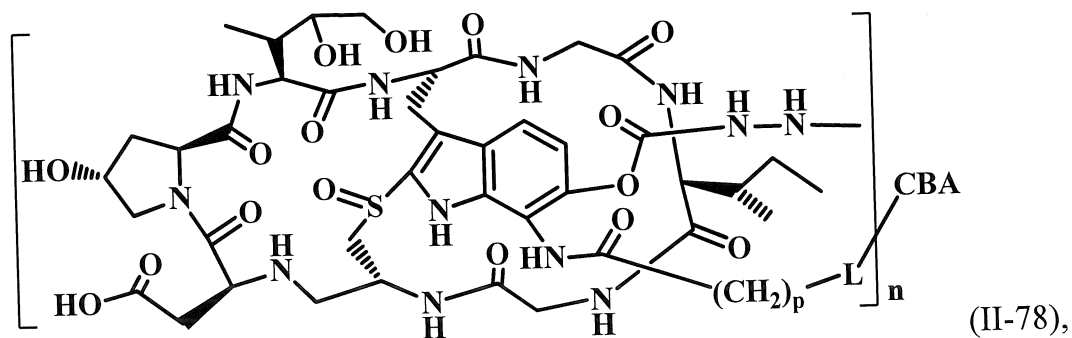
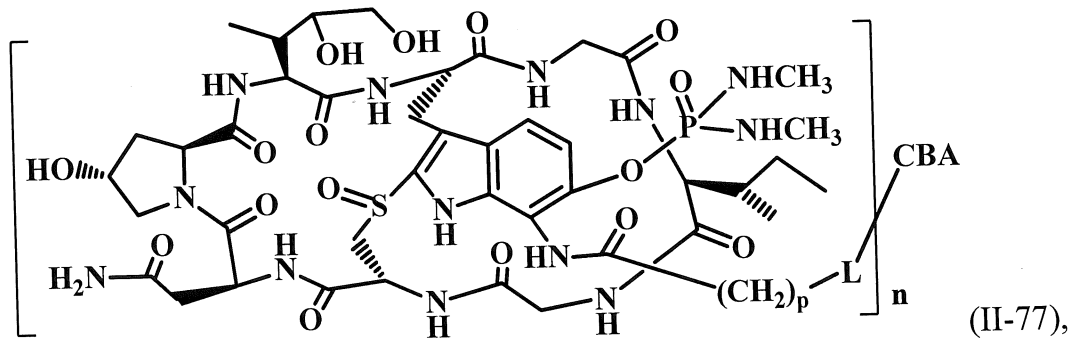
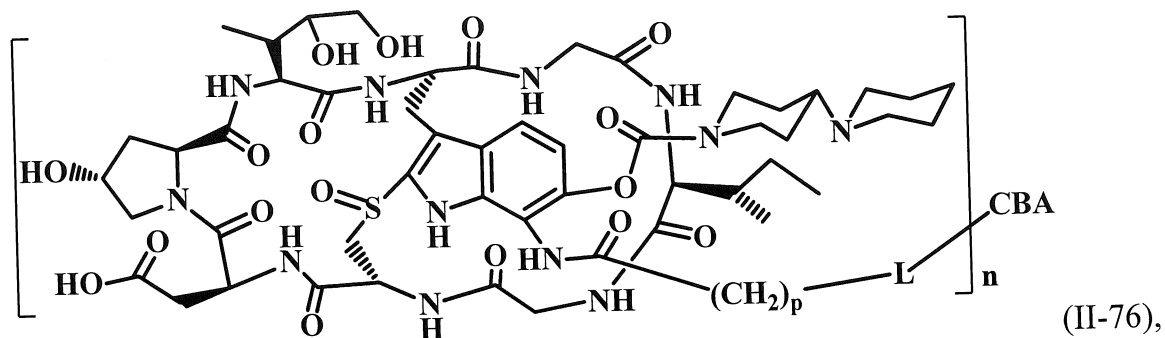
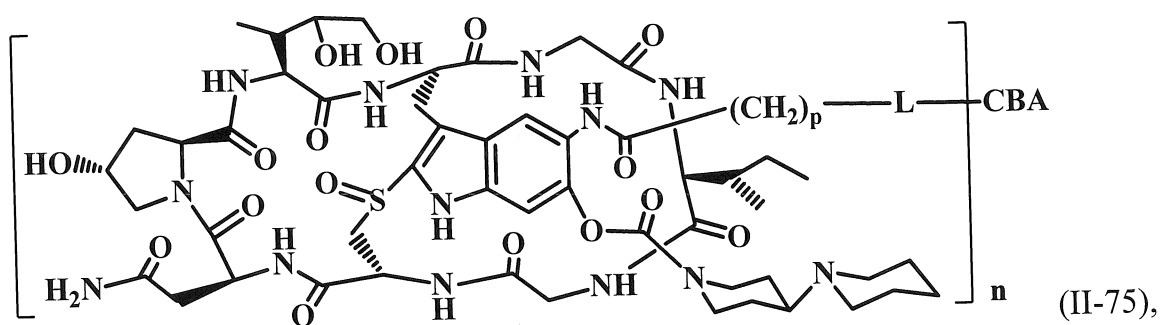
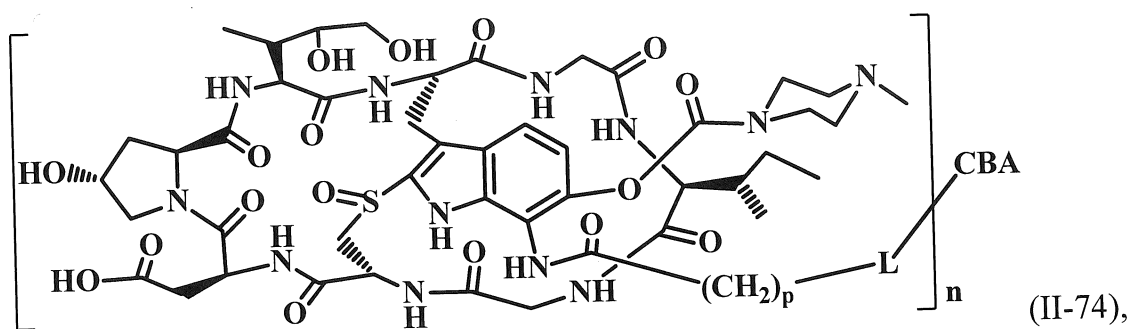


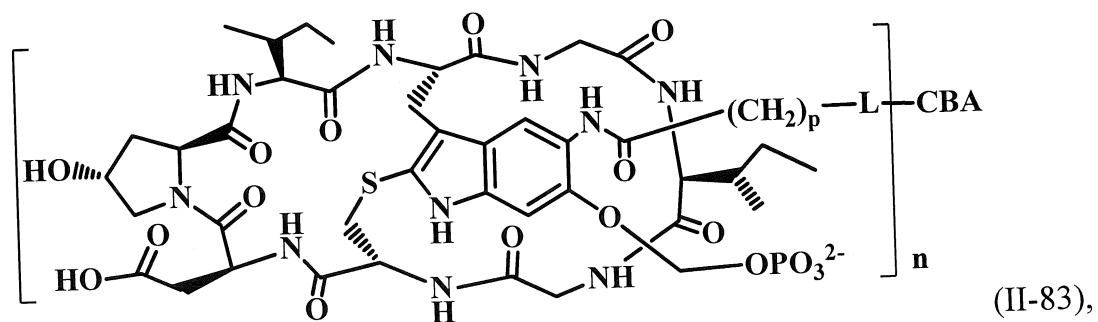
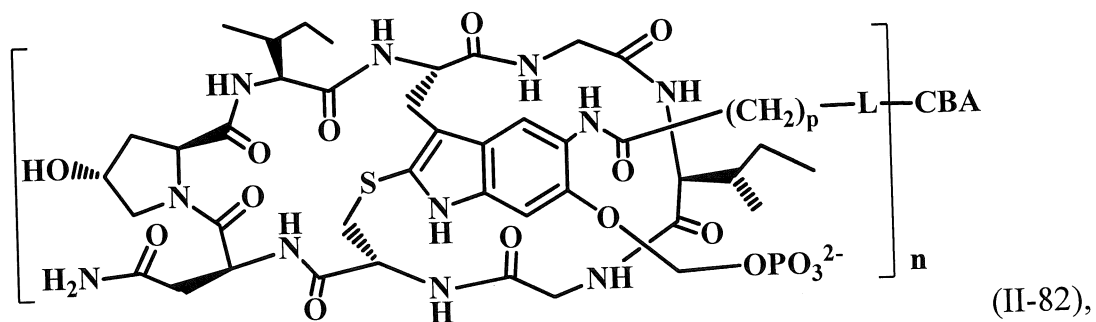
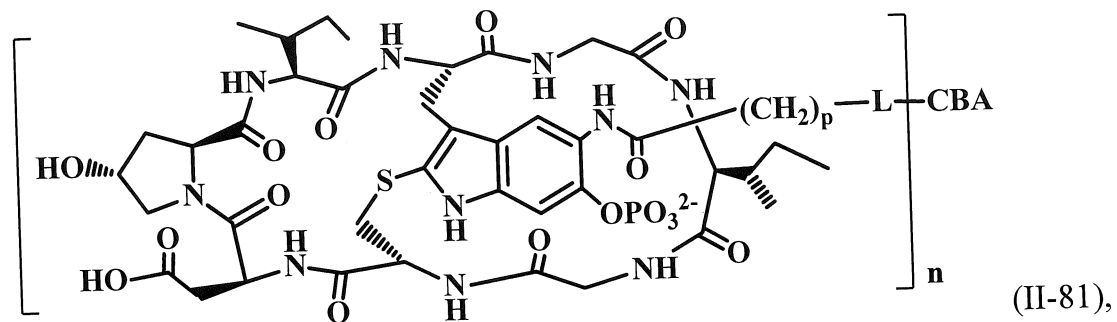
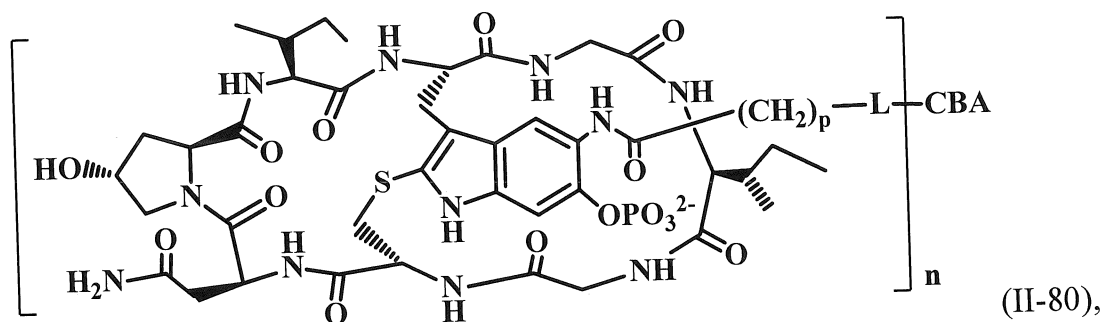
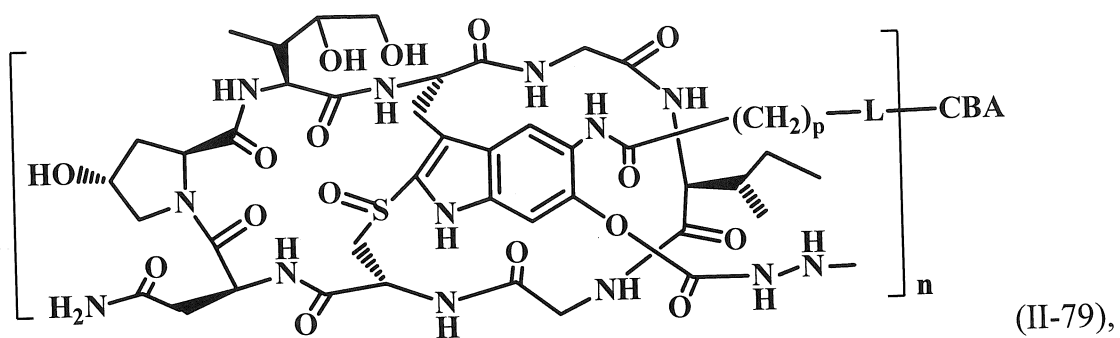




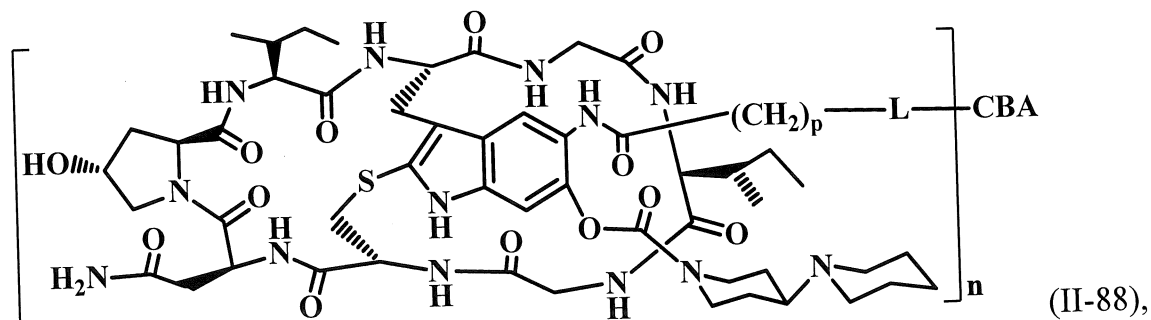
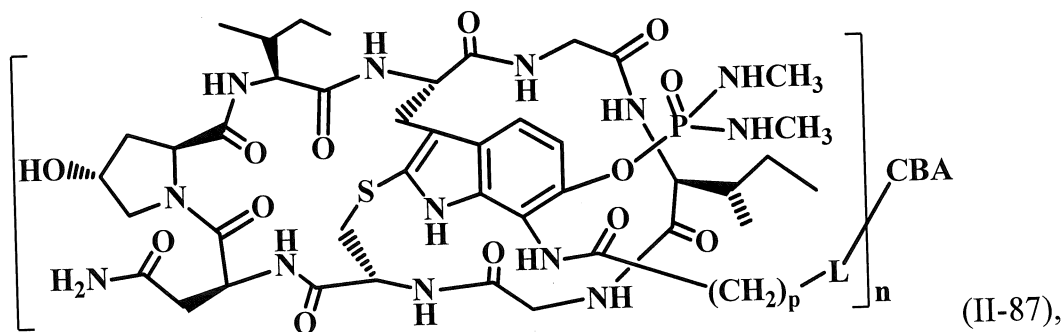
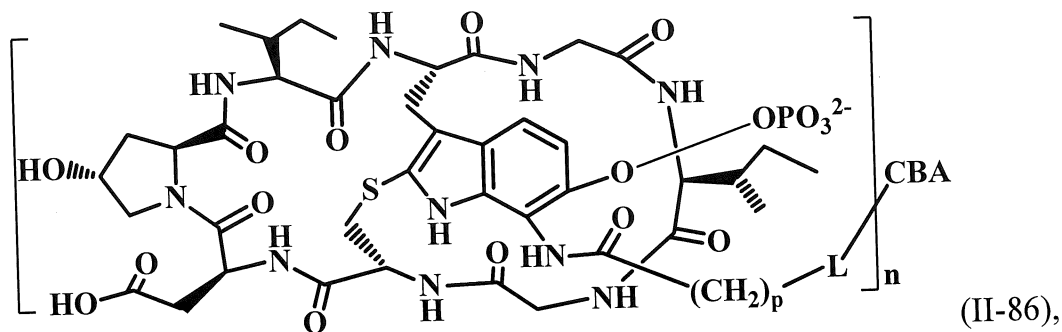
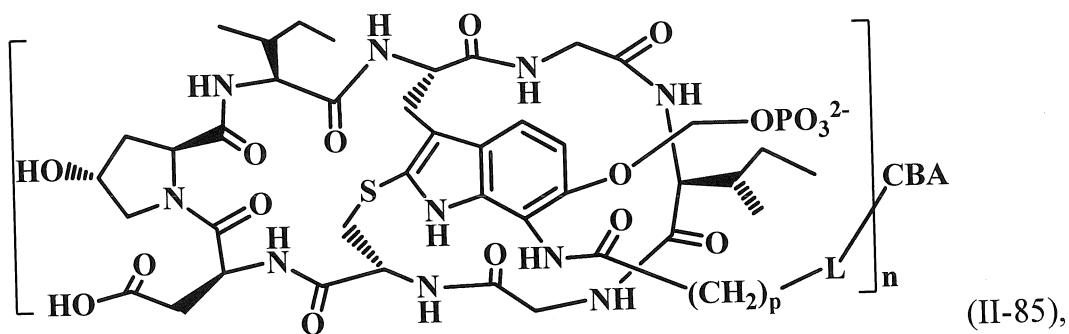
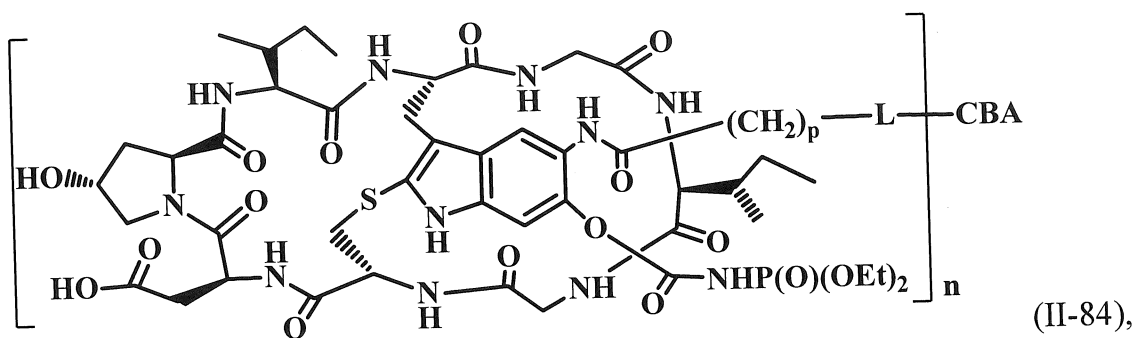


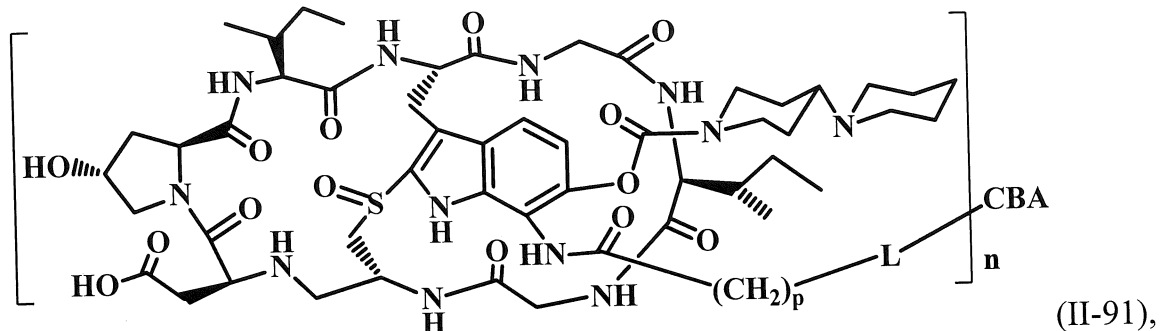
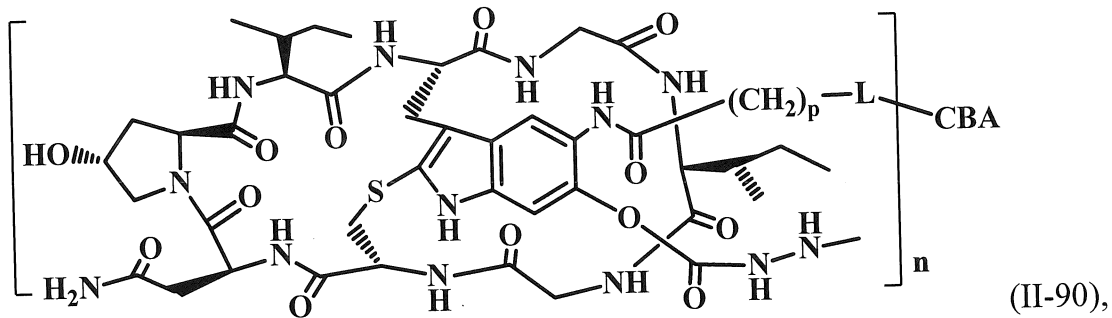
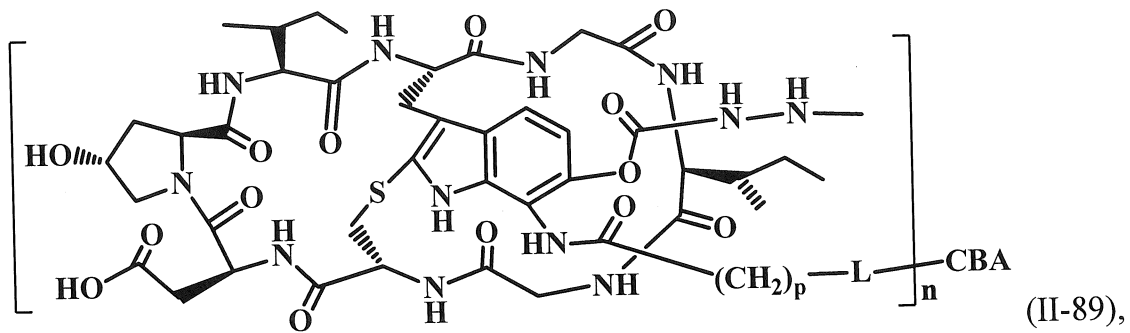










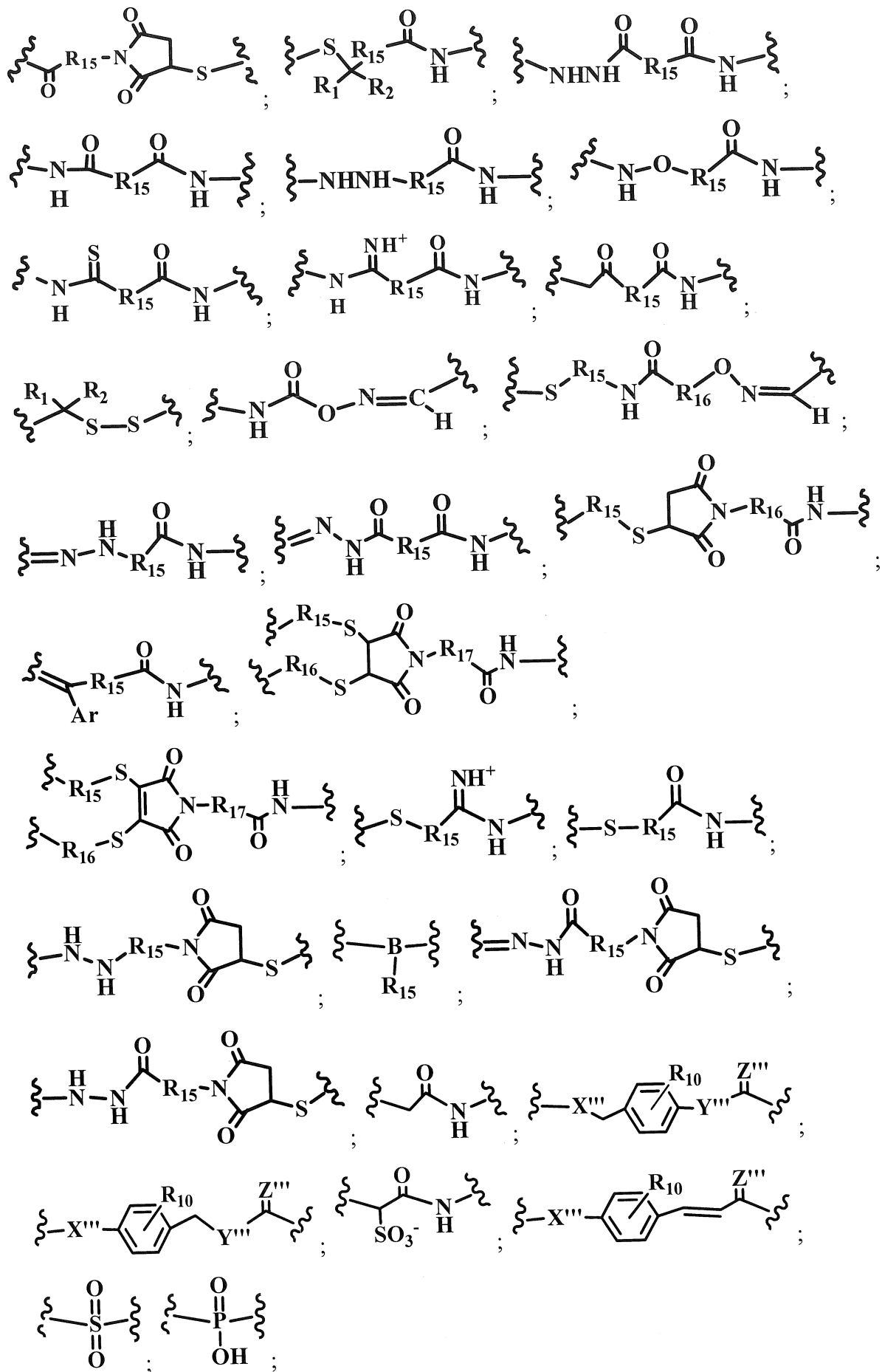


trong đó Aa, L, m, n, p, Q, r, R<sub>1</sub>, và R<sub>2</sub>, được mô tả giống như trong điểm 1, CBA là chất gắn kết tế bào.

10. Hợp chất theo điểm 1, trong đó chất gắn kết tế bào là kháng thể có chiều dài đầy đủ (kháng thể đơn dòng và kháng thể đa dòng); kháng thể chuỗi đơn; kháng thể dime, kháng thể trime, các đoạn kháng thể (Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, F<sub>v</sub>, đoạn được sản xuất bởi ngân hàng biểu hiện Fab, kháng thể kháng idiotyp (anti-idiotypic: anti-Id), vùng quyết định tính hỗ trợ (CDR), và đoạn gắn kết epitop của kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể nêu trên gắn kết đặc hiệu miễn dịch với các kháng nguyên của tế bào ung thư, kháng nguyên của virus hoặc kháng nguyên của vi khuẩn; interferon (typ I, II, III); peptit; lymphokin IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, GM-CSF, interferon-gama (IFN-γ); hormon, insulin, TRH (hormon giải phóng thyrotropin), MSH (hormon kích thích tế bào melanin), hormon steroid, androgen, estrogen, hormon kích thích tế bào melanin (MSH); yếu tố sinh trưởng và yếu tố kích thích khuẩn lạc, yếu tố sinh trưởng biểu bì

(EGF), yếu tố kích thích khuẩn lạc-bạch cầu hạt-đại thực bào (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: GM-CSF), yếu tố sinh trưởng biến đổi (transforming growth factor: TGF),  $TGF\alpha$ ,  $TGF\beta$ ; insulin và yếu tố sinh trưởng tương tự insulin (IGF-I, IGF-II), G-CSF, M-CSF và GM-CSF; yếu tố sinh trưởng vaccinia (vaccinia growth factor: VGF); yếu tố sinh trưởng nguyên bào sợi (fibroblast growth factor: FGF); protein có trọng lượng phân tử nhỏ, poly-peptit, peptit và hormon peptit, bombesin, gastrin, peptit giải phóng gastrin; yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc tiểu cầu; interleukin và cytokin, interleukin-2 (IL-2), interleukin-6 (IL-6), yếu tố ức chế bệnh bạch cầu, yếu tố kích thích khuẩn lạc- bạch cầu hạt-đại thực bào (GM-CSF); vitamin, folat; apoprotein và lycoprotein; transferin; protein gắn kết đường hoặc các lipoprotein, lectin; phân tử vận chuyển chất dinh dưỡng trong tế bào (transferin); và chất ức chế phân tử nhỏ, chất ức chế kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt (PSMA) và chất ức chế tyrosin kinaza phân tử nhỏ (tyrosine kinase inhibitor: TKI); peptit, hoặc các chất tương tự peptit, các protein bao gồm cả các protein liên hợp có khả năng gắn kết với các tế bào được hướng đích; các chất không phải peptit hoặc phân tử gắn kết tế bào khác bất kỳ hoặc chất ở dạng polyme có hoạt tính sinh học, dendrime có hoạt tính sinh học, hạt nano, liposom, hoặc capsit của virus.

11. Hợp chất theo điểm 1, trong đó L là một hoặc nhiều thành phần nhóm liên kết của hợp chất 6-maleimidocaproyl ("MC"), maleimidopropanoyl ("MP"), valin-xitruilin ("val-xit" hoặc "vx"), alanin-phenylalanin ("ala-phe" hoặc "af"), glyxin-glyxin, các peptit tự nhiên chứa tối đa là 6 axit amin tự nhiên giống nhau hoặc khác nhau (dipeptit, tripeptit, tetrapeptit, pentapeptit, hexapeptit), p-aminobenzyloxycarbonyl ("PAB"), N-succinimidyl 4-(2-pyridylthio)pentanoat ("SPP"), N-succinimidyl 4-(N-maleimidomethyl)cyclohexan-1 carboxylat ("SMCC"), N-succinimidyl (4-iodo-axetyl)aminobenzoat ("SIAB"), etylenoxy ( $--CH_2CH_2O--$ ) làm một hoặc tối đa là 100 đơn vị lặp lại ("EO" hoặc "PEO"), hoặc một hoặc nhiều thành phần được thể hiện dưới đây:

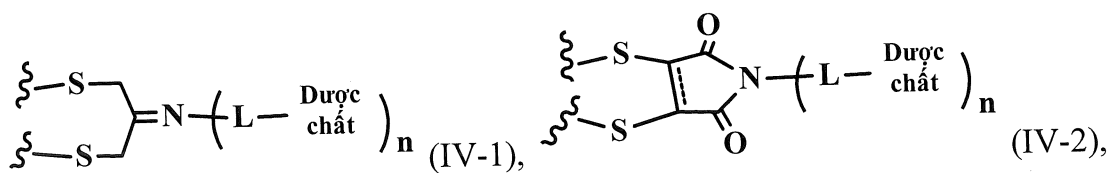


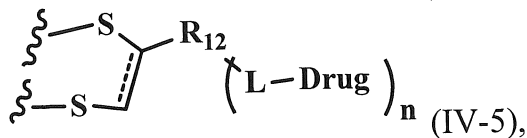
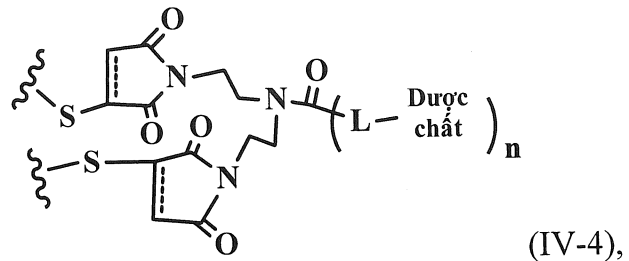
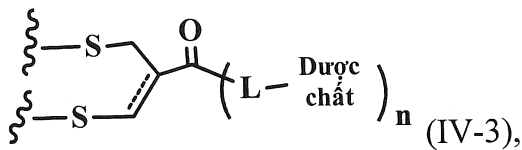
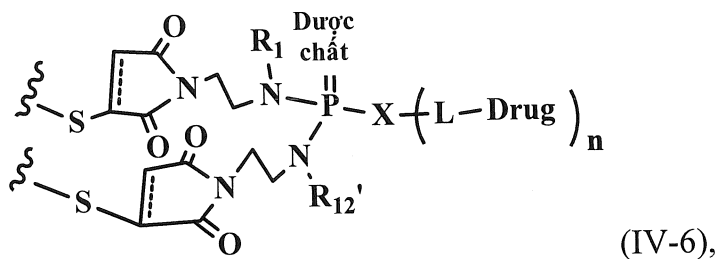
trong đó  $R_{10}$  được xác định như trong điểm 1,  $R_{15}$ ,  $R_{16}$  và  $R_{17}$  độc lập được

chọn từ nhóm bao gồm  $-C_1\sim C_8$  alkyl hoặc alkylen-,  $-C_1\sim C_7$  carboxyclo-,  $-O-(C_1\sim C_8$  alkyl)-,  $-NH-(C_1\sim C_8$  alkyl)-, -arylen-,  $-C_1\sim C_8$  alkylen-arylen-, -arylen-,  $-C_1\sim C_8$  alkylen-,  $-C_1\sim C_8$  alkylen-( $C_1\sim C_8$  carboxyclo)-,  $-(C_3\sim C_7$  carboxyclo)-  $C_1\sim C_8$  alkylen-,  $-C_3\sim C_8$  dị vòng-,  $-C_1\sim C_8$  alkylen-( $C_3\sim C_8$  dị vòng)-,  $-(C_3\sim C_8$  dị vòng)-  $C_1\sim C_9$  alkylen-,  $-(CH_2CH_2O)_k$ -,  $-(CH(CH_3)CH_2O)_k$ -, và  $-(CH_2CH_2O)_k-CH_2$ -; k là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 50; X''', Y''' và Z''' độc lập là NH, O hoặc S.

12. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có cấu trúc bất kỳ trong số các cấu trúc liên hợp cụ thể có công thức (III-1), (III-2), (III-3), (III-4), (III-5), (III-6), (III-7), (III-8), (III-9), (III-10), (III-11), hoặc (III-12) được mô tả trên các hình vẽ từ Fig.31A đến Fig.31F; “====” thể hiện liên kết đơn hoặc liên kết đôi;  $L_1$  và  $L_2$ , giống nhau hoặc khác nhau, được xác định độc lập giống như L trong điểm 1;  $X_1$  và  $X_2$ , giống nhau hoặc khác nhau, độc lập là NH,  $N(R_1)$ , O, S,  $CH_2$ , hoặc Ar, trong đó  $R_1$  là  $C_1$ - $C_6$  alkyl và Ar là vòng thơm hoặc dị thơm; trong đó dược chất<sub>1</sub> và dược chất<sub>2</sub> là giống nhau hoặc khác nhau, độc lập là gốc được liên kết với nhóm L chứ không phải nhóm Q trong Công thức (I) của điểm 1, hoặc một trong số dược chất<sub>1</sub> và dược chất<sub>2</sub> là gốc được liên kết với nhóm L chứ không phải nhóm Q trong Công thức (I) của điểm 1, dược chất còn lại trong số dược chất<sub>1</sub> và dược chất<sub>2</sub> không có mặt, là  $(OCH_2CH_2)_rOR_{10}$ ,  $(OCH_2CH(CH_3))_pOR_{10}$ ,  $NH(CH_2CH_2O)_pR_{10}$ ,  $NH(CH_2CH(CH_3)O)_pR_{10}$ ,  $N[(CH_2CH_2O)_pR_{10}][(CH_2CH_2O)_rR_5]$ ,  $(OCH_2CH_2)_pCOOR_{10}$ , hoặc  $CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_pCOOR_{10}$ , trong đó p, r,  $R_{10}$  được mô tả giống như trong điểm 1, khi cả dược chất<sub>2</sub> và  $L_2$  không có mặt,  $X_2$  là  $NH_2$  hoặc OH.

13. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này chứa kháng thể IgG được liên kết với một trong số các cấu trúc liên kết có công thức (IV-1), (IV-2), (IV-3), (IV-4), (IV-5), và (IV-6) sau đây:



Dược  
chất

trong đó “====” thể hiện liên kết đơn hoặc liên kết đôi; dược chất là gốc được liên kết với nhóm L chứ không phải nhóm Q trong công thức (I) theo điểm 1;  $\begin{array}{c} \text{S} \\ \text{---} \end{array}$  thể hiện vị trí trên kháng thể; L, X, n và R<sub>12</sub> được xác định giống như trong điểm (1).

14. Quy trình điều chế hợp chất theo điểm 12, trong đó quy trình này bao gồm bước khử liên kết dithiol trong kháng thể bằng một hoặc nhiều chất khử được chọn từ nhóm bao gồm dithiothreitol (DTT), dithioerythritol (DTE), L-glutathion (GSH), tris (2-carboxyethyl) phosphin (TCEP), 2-mercaptoethylamin (β-MEA), và/hoặc beta mercaptoetanol (β-ME, 2-ME), chất khử này tùy ý được tải hoặc liên kết cộng hoá trị với polyme dạng rắn hoặc hạt dạng rắn, trong đó polyme hoặc hạt này được chọn từ nhóm bao gồm polyeten, polyacrylat, silic oxit, silic oxit có liên kết ngang ((2-mercaptoethyl)silic oxit, (aminoethyl)silic oxit, (aminopropyl)silic oxit), polyetylen terephthalat, polyetylen glycol, polystyren, poly(isopropyl acrylat), dextran (Sephadex, dextran có liên kết ngang), copolyme isopropylacrylamit butyl metacrylat, và polyme polysacarit (agaroza, aga, agaropectin, sepharoza).

15. Hợp chất theo điểm 12, trong đó khi một trong số dược chất<sub>1</sub> hoặc dược chất<sub>2</sub> là gốc được liên kết với nhóm L chứ không phải nhóm Q trong công thức (I), dược chất còn lại trong số dược chất<sub>1</sub> hoặc dược chất<sub>2</sub> được chọn từ nhóm bao gồm protein, kháng thể (kháng thể đơn dòng hoặc kháng thể đa dòng, kháng thể dime, kháng thể

multime, kháng thể hai giá hoặc ba giá, kháng thể chuỗi đơn, đoạn kháng thể gắn kết với tế bào đích), phân tử mang màu, dẫn xuất tubulysin, maytansinoid, taxanoid (taxan), chất tương tự CC-1065, hợp chất daunorubicin hoặc doxorubicin, dime benzodiazepin (các dime của pyrolobenzodiazepin (PBD), tomaymyxin, anthramyxin, indolinobenzodiazepin, imidazobenzothiadiazepin, hoặc oxazolidinobenzodiazepin), calicheamixin, dolastatin hoặc dẫn xuất auristatin (monomethyl auristatin E, MMAE, MMAF, auristatin PYE, auristatin TP, các hợp chất Auristatin 2-AQ, 6-AQ, EB (AEB), và EFP (AEFP)), duocarmyxin, ARN can thiệp kích thước nhỏ (siRNA), hoặc enzym.

16. Dược phẩm chứa lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất theo điểm 1, và tá dược được dùng được chọn từ nhóm bao gồm một hoặc nhiều thành phần bao gồm polysorbat (polysorbat 20, polysorbat 40, polysorbat 60, hoặc polysorbat 80) hoặc natri lauryl sulfat, triton X-100 với lượng nằm trong khoảng từ 0,002% đến 1%; và/hoặc chất kết dính (các disacarit là sucroza, lactoza, trehaloza hoặc maltoza; hoặc các rượu đường: xylitol, sorbitol hoặc maltitol, hoặc polyetylen glycol) với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 10%, và các chất đệm được dùng (được chọn từ xitrat, succinat axetat, phosphat, hoặc borat) với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 10% ở độ pH nằm trong khoảng từ 4,5 đến 9,5.

17. Dược phẩm theo điểm 16, trong đó dược phẩm này còn chứa một hoặc nhiều dược chất có tác dụng hiệp đồng trong số chất hóa trị liệu, liệu pháp xạ trị, chất điều trị miễn dịch, chất điều trị rối loạn tự miễn, hoặc chất chống nhiễm khuẩn.

18. Hợp chất theo điểm 1, trong đó chất gắn kết tế bào là kháng thể, đoạn kháng thể, kháng thể dime, kháng thể trime, yếu tố sinh trưởng biểu bì (epidermal growth factor: EGF), chất ức chế kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt (PSMA), hormon kích thích tế bào melanin (melanocyte stimulating hormone: MSH), hormon kích thích tuyến giáp (thyroid stimulating hormone: TSH), kháng thể đa dòng, somatostatin, folat, chất ức chế matriptaza, estrogen, chất tương tự estrogen, các protein lặp lại ankyrin được thiết kế (DARPin), androgen, và chất tương tự androgen.

19. Hợp chất theo điểm 1, trong đó nhóm Q hướng đích các tế bào được chọn từ nhóm bao gồm các tế bào khối u; các tế bào nhiễm virus; các tế bào nhiễm vi sinh vật; các tế bào nhiễm ký sinh trùng; các tế bào tự miễn; các tế bào được hoạt hóa; các tế bào tủy; các tế bào T hoạt hóa, các tế bào B, hoặc tế bào melanin; hoặc các tế bào biểu hiện kháng nguyên của CD3, CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD9, CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CD12w, CD14, CD15, CD16, CDw17, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD25, CD26, CD27, CD28, CD29, CD30, CD31, CD32, CD33, CD34, CD35, CD36, CD37, CD38, CD39, CD40, CD41, CD42, CD43, CD44, CD45, CD46, CD47, CD48, CD49b, CD49c, CD51, CD52, CD53, CD54, CD55, CD56, CD58, CD59, CD61, CD62E, CD62L, CD62P, CD63, CD66, CD68, CD69, CD70, CD72, CD74, CD79, CD79a, CD79b, CD80, CD81, CD82, CD83, CD86, CD87, CD88, CD89, CD90, CD91, CD95, CD96, CD98, CD100, CD103, CD105, CD106, CD109, CD117, CD120, CD125, CD126, CD127, CD133, CD134, CD135, CD137, CD138, CD141, CD142, CD143, CD144, CD147, CD151, CD147, CD152, CD154, CD156, CD158, CD163, CD166, .CD168, CD174, CD180, CD184, CDw186, CD194, CD195, CD200, CD200a, CD200b, CD209, CD221, CD227, CD235a, CD240, CD262, CD271, CD274, CD276 (B7-H3), CD303, CD304, CD309, CD326, 4-1BB, 5AC, 5T4 (glycoprotein lá nuôi phôi, TPBG, 5T4, yếu tố ức chế được hoạt hóa bằng Wnt 1 hoặc WAI1), kháng nguyên caxinom tuyến, AGS-5, AGS-22M6, kinaza tương tự thụ thể activin 1, AFP, AKAP-4, ALK, integrin alpha, alpha v beta6, amino-peptidaza N, beta dạng tinh bột, thụ thể androgen, angiopoietin 2, angiopoietin 3, annex A1, kháng nguyên bảo vệ độc tố anthrax, thụ thể kháng transferin, AOC3 (VAP-1), B7-H3, vi khuẩn *Bacillus anthracis anthrax*, BAFF (B-cell activating factor: yếu tố hoạt hóa tế bào B), BCMA, u lymphô tế bào B, bcr-abl, Bombesin, BORIS, C5, kháng nguyên C242, CA125 (kháng nguyên hydrat cacbon 125, MUC16), CA-IX (hoặc CAIX, cacbon anhydraza 9), CALLA, CanAg, Canis lupus familiaris IL31, cacbon anhydraza IX, myosin ở tim, CCL11(chemokin 11 motif C-C), CCR4 (thụ thể chemokin C-C typ 4, CD194), CCR5, CD3E (epsilon), CEA (kháng nguyên ung thư phôi), CEACAM3, CEACAM5 (kháng nguyên ung thư phôi), CFD (yếu tố D), Ch4D5, cholexystokinin 2 (CCK2R), CLDN18 (Claudin-18), yếu tố tạo cụm A, cMet, CRIPTO, FCSF1R (thụ thể yếu tố kích thích khuẩn lạc 1, CD115), CSF2 (yếu tố kích thích khuẩn lạc 2, yếu tố kích thích khuẩn lạc-đại thực bào-bạch cầu hạt (GM-CSF)), CSP4, CTLA4 (protein

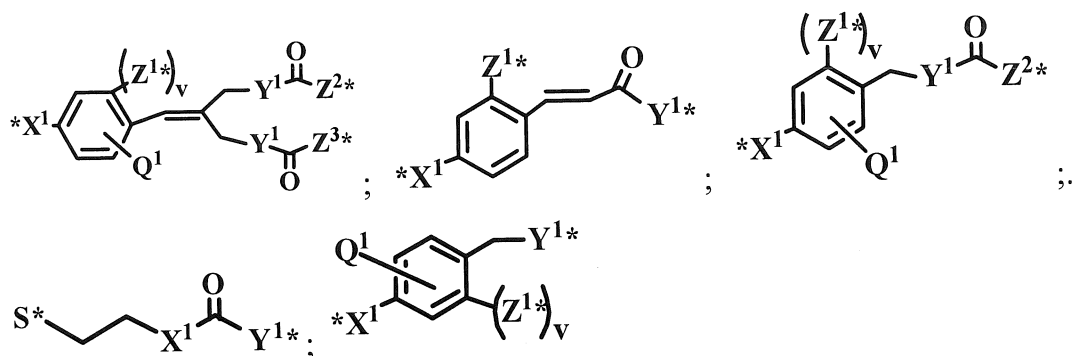


liên quan đến tế bào lymphô T gây độc tế bào 4), kháng nguyên khối u CTAA16.88, CXCR4 (CD184), thụ thể chemokin C-X-C typ 4, ribozyme hydrolaza ADP dạng vòng, xylin B1, CYP1B1, virus cự bào, glycoprotein B của virus cự bào, Dabigatran, DLL4 (phôi tử 4 tương tự delta), DPP4 (dipeptidyl-peptidaza 4), DR5 (thụ thể gây chết 5), độc tố shiga của vi khuẩn E. coli typ-1, độc tố shiga của vi khuẩn E. coli typ-2, ED-B, EGFL7 (vùng tương tự EGF chứa protein 7), EGFR, EGFRII, EGFRvIII, Endoglin (CD105), thụ thể endothelin B, nội độc tố, EpCAM (phân tử bám dính tế bào biểu mô), EphA2, EphA2, ERBB2 (thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì 2), ERBB3, ERG (gen dung hợp TMPRSS2 ETS), vi khuẩn Escherichia coli, ETV6-AML, FAP (protein alpha hoạt hóa nguyên bào sợi), FCGR1, alpha-Fetoprotein, Fibrin II, chuỗi beta, vùng ngoại bào-B của fibronectin, FOLR (thụ thể folat), thụ thể folat alpha, folat hydrolaza, protein kháng nguyên 1F liên quan đến Fos của virus hợp bào đường hô hấp, thụ thể Frizzled, Fucosyl GM1, GD2 gangliosit, G-28 (kháng nguyên bề mặt tế bào glycolipid), idiotyp GD3, GloboH, Glypican 3, axit N-glycolylneuraminic, GM3, thụ thể chuỗi  $\alpha$  GMCSF, yếu tố biệt hóa sinh trưởng 8, GP100, GPNMB (glycoprotein xuyên màng NMB), GUCY2C (guanylat xyclaza 2C, guanylyl xyclaza C(GC-C), guanylat xyclaza ở ruột, thụ thể guanylat xyclaza-C, thụ thể độc tố đường ruột ổn định nhiệt (hSTAR)), các protein sốc nhiệt, ngưng kết tố hồng cầu, kháng nguyên bề mặt bệnh viêm gan B, virus bệnh viêm gan B, HER1 (thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì của người 1), HER2, HER2/neu, HER3 (ERBB-3), IgG4, HGF/SF (yếu tố khuếch tán/yếu tố sinh trưởng tế bào gan), HHGFR, HIV-1, phức hợp histon, HLA-DR (kháng nguyên bạch cầu của người), HLA-DR10, HLA-DRB, HMWMAA, gonadotropin màng đệm của người, HNGF, thụ thể kinaza yếu tố khuếch tán ở người, HPV E6/E7, Hsp90, hTERT, ICAM-1 (phân tử bám dính gian bào 1), idiotyp, IGF1R (IGF-1, thụ thể yếu tố sinh trưởng tương tự insulin 1), IGHE, IFN- $\gamma$ , sự ngưng kết hồng cầu ở bệnh cúm, IgE, vùng Fc của IgE, IGHE, IL-1, thụ thể IL-2 (thụ thể interleukin 2), IL-4, IL-5, IL-6, IL-6R (thụ thể interleukin 6), IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IL-17A, IL-20, IL-22, IL-23, IL31RA, ILGF2 (Thụ thể yếu tố sinh trưởng tương tự insulin 2), các integrin ( $\alpha 4$ ,  $\alpha_{IIb}\beta 3$ ,  $\alpha v\beta 3$ ,  $\alpha 4\beta 7$ ,  $\alpha 5\beta 1$ ,  $\alpha 6\beta 4$ ,  $\alpha 7\beta 7$ ,  $\alpha_{IIb}\beta 3$ ,  $\alpha 5\beta 5$ ,  $\alpha v\beta 5$ ), protein cảm ứng interferon gama, ITGA2, ITGB2, KIR2D, Kappa Ig, LCK, Le, Legumain, kháng nguyên Lewis-Y, LFA-1 (kháng nguyên liên quan đến chức năng của tế bào lymphô 1, CD11a), LHRH, LINGO-1, axit lipoteichoic, LIV1A,

LMP2, LTA, MAD-CT-1, MAD-CT-2, MAGE-1, MAGE-2, MAGE-3, MAGE A1, MAGE A3, MAGE 4, MART1, MCP-1, MIF (yếu tố ức chế sự di trú của đại thực bào, hoặc yếu tố ức chế sự glycosyl hoá (GIF)), MS4A1 (thành viên 1 của họ phụ A của 4 vùng xuyên màng), MSLN (mesothelin), MUC1 (mucin 1, liên quan đến bề mặt tế bào (MUC1) hoặc mucin biểu mô đa hình (PEM)), MUC1-KLH, MUC16 (CA125), MCP1 (protein hóa ứng động của bạch cầu đơn nhân to 1), MelanA/MART1, ML-IAP, MPG, MS4A1 (họ phụ A của 4 vùng xuyên màng), MYCN, glycoprotein liên quan đến myelin, myostatin, NA17, NARP-1, NCA-90 (kháng nguyên bạch cầu hạt), Nectin-4 (ASG-22ME), NGF, proteinaza 1 điều hòa sự chết tế bào theo chương trình ở dây thần kinh, NOGO-A, thụ thể Notch, nucleolin, sản phẩm gen gây ung thư Neu, NY-BR-1, NY-ESO-1, OX-40, OxLDL (lipoprotein tỷ trọng thấp được oxy hóa), OY-TES1, P21, thể không đột biến p53, P97, Page4, PAP, paratop của thể kháng axit (N-glycolylneuraminic), PAX3, PAX5, PCSK9, PDCD1 (PD-1, protein 1 gây chết tế bào theo chương trình, CD279), PDGF-R $\alpha$  (thụ thể yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc tiểu cầu typ alpha), PDGFR- $\beta$ , PDL-1, PLAC1, phosphatasa kiềm ở tinh hoàn tương tự PLAP, thụ thể beta của yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc tiểu cầu, chất đồng vận chuyển phosphat-natri, PMEL 17, axit polysialic, proteinaza 3 (PR1), caxinom tuyến tiền liệt, PS (Phosphatidylserin), các tế bào caxinom tuyến tiền liệt, vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa*, PSMA, PSA, PSCA, glycoprotein của virus bệnh dại, RHD (polypeptit Rh 1 (RhPI), CD240), yếu tố Rhesus, RANKL, RhoC, thể đột biến Ras, RGS5, ROBO4, virus hợp bào đường hô hấp, RON, ROR1, điểm bắt đầu chuyển đoạn của bệnh sacôm, SART3, Sclerostin, SLAMF7 (thành viên 7 của họ SLAM), Selectin P, SDC1 (Syndecan 1), sLe(a), Somatomedin C, SIP (Sphingosin-1-phosphat), Somatostatin, protein 17 của tinh trùng, SSX2, STEAP1 (sáu kháng nguyên biểu mô xuyên màng của tuyến tiền liệt 1), STEAP2, STn, TAG-72 (glycoprotein liên quan đến khối u 72), Survivin, thụ thể tế bào T, protein xuyên màng tế bào T, TEM1 (gen đánh dấu nội mô khối u 1), TENB2, Tenascin C (TN-C), TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  (yếu tố sinh trưởng biến đổi beta), TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 (yếu tố sinh trưởng biến đổi beta 2), Tie (CD202b), Tie 2, TIM-1 (CDX-014), Tn, TNF, TNF- $\alpha$ , TNFRSF8, TNFRSF10B (thành viên 10B của siêu họ thụ thể yếu tố hoại tử khối u), TNFRSF-13B (thành viên 13B của siêu họ thụ thể yếu tố hoại tử khối u), TPBG (glycoprotein lá nuôi phôi), TRAIL-R1 (thụ thể 1 của phối tử gây chết tế bào theo chương trình hoại tử khối u),

TRAILR2 (thụ thể chết 5 (DR5)), chất tải nạp tín hiệu canxi liên quan đến khối u 2, sự glycosyl hoá khối u của MUC1, thụ thể TWEAK, TYRP1 (glycoprotein 75), TRP-2, Tyrosinaza, VCAM-1 (CD106), VEGF, VEGF-A, VEGF-2 (CD309), VEGFR-1, VEGFR2, vimentin, WT1, XAGE 1, các tế bào biểu hiện thụ thể yếu tố sinh trưởng insulin bất kỳ, và thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì.

**20.** Hợp chất theo điểm 1, trong đó thành phần nhóm liên kết tự phân hủy có một trong số các cấu trúc sau đây:

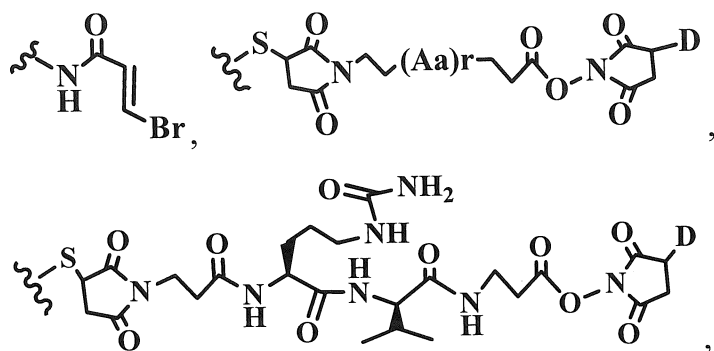


trong đó nguyên tử được đánh dấu (\*) là điểm gắn kết của nhóm đệm bổ sung hoặc đơn vị của nhóm liên kết có thể giải phóng, hoặc chất gây độc tế bào, hoặc phân tử gắn kết tế bào (CBA);  $X^1$ ,  $Y^1$ ,  $Z^2$  và  $Z^3$  độc lập là NH, O, hoặc S;  $Z^1$  độc lập là H, NH, O hoặc S;  $v$  bằng 0 hoặc 1;  $Q^1$  độc lập là H, OH,  $C_1\sim C_6$  alkyl,  $(OCH_2CH_2)_n$ , F, Cl, Br, I,  $OR_{12}$ ,  $SR_{12}$ ,  $NR_{12}R_{12}'$ ,  $N=NR_{12}$ ,  $N=R_{12}$ ,  $NR_{12}R_{12}'$ ,  $NO_2$ ,  $SOR_{12}R_{12}'$ ,  $SO_2R_{12}$ ,  $SO_3R_{12}$ ,  $OSO_3R_{12}$ ,  $PR_{12}R_{12}'$ ,  $POR_{12}R_{12}'$ ,  $PO_2R_{12}R_{12}'$ ,  $OPO(OR_{12})(OR_{12}')$ , hoặc  $OCH_2PO(OR_{12})(OR_{12}')$ , trong đó  $R_{12}$  và  $R_{12}'$  được xác định giống như trong điểm 1.

**21.** Hợp chất theo điểm 20, trong đó  $R_{12}$  và  $R_{12}'$  độc lập là H,  $C_1\sim C_8$  alkyl;  $C_2\sim C_8$  alkenyl, alkynyl, heteroalkyl;  $C_3\sim C_8$  aryl, dị vòng, vòng cacbon, xycloalkyl, heteroxycloalkyl, heteroaralkyl, alkylcacbonyl; hoặc muối cation được dụng của nó.

**22.** Hợp chất theo điểm 1, trong đó Q là nhóm có một trong số các công thức sau đây:



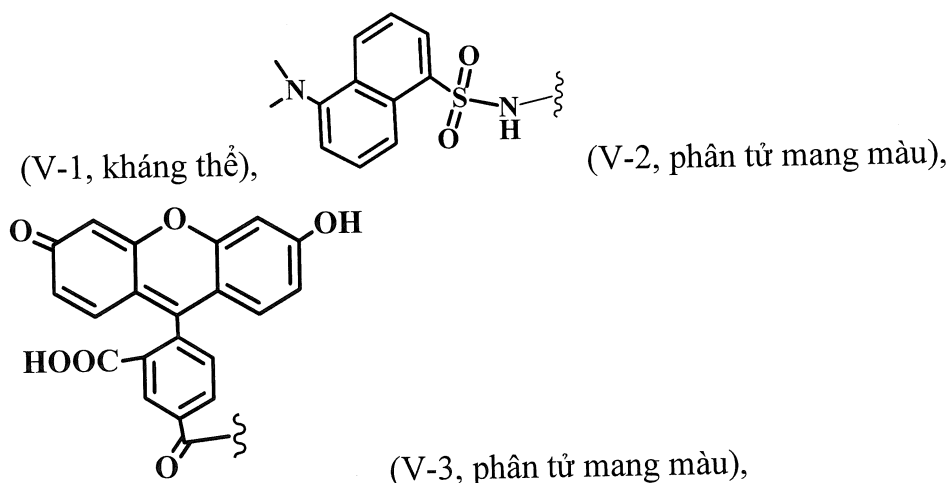


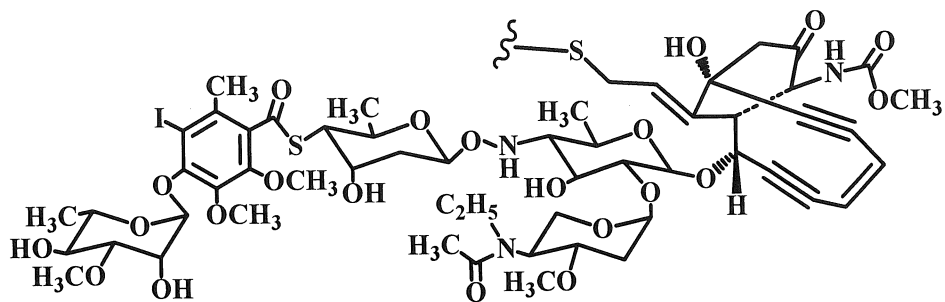
trong đó D là H,  $-\text{NO}_2$ ,  $\text{SO}_3^-$ , CN, hoặc F; Aa, r, p, q, m, và n được mô tả giống như trong điểm 1; w và w' độc lập bằng 0 hoặc 1,  $\text{R}_1'$ ,  $\text{R}_2'$ ,  $\text{R}_3'$ , và  $\text{R}_4'$  độc lập là H,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5$ ,  $\text{C}_3\text{H}_7$ ,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ .

23. Hợp chất theo điểm 6, trong đó Q là H,  $\text{C}_1\sim\text{C}_8$  alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, xyclic, xyclohetero, haloalkyl, alkoxy, haloalkoxy alkylamino; halogen;  $-\text{NO}_2$ ;  $-\text{CN}$ ;  $-\text{SH}$ ;  $-\text{SSCH}_3$ ;  $-\text{SSAc}$ ;  $-\text{SSAr}$ ;  $-\text{SS-Pyridin}$ ;  $-\text{SS-Ar}(-\text{NO}_2)$ ; chất gắn kết tế bào-S-; hoặc nhóm chức của este NHS, este pentafluorophenyl; alkyloxyamin; aldehyt; keton; axit carboxylic; hydrazin; amin; hoặc thiolacton; hoặc được liên kết với chất gắn kết tế bào qua đơn vị Stretcher (Ww) hoặc qua các đơn vị của nhóm đệm (Tt), trong đó W, w, T, và t được xác định giống như trong điểm 6.

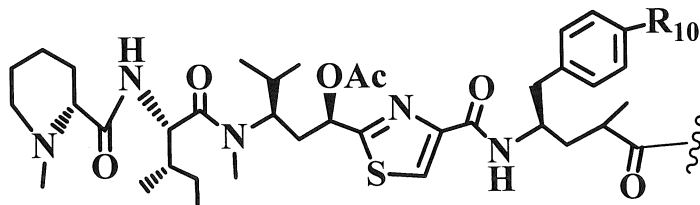
24. Hợp chất theo điểm 12, trong đó kháng thể IgG là kháng thể IgG1, IgG2, IgG3 hoặc IgG4.

25. Hợp chất theo điểm 15, được chất còn lại trong số được chất<sub>1</sub> và được chất<sub>2</sub> có một trong số các cấu trúc được thể hiện dưới đây:

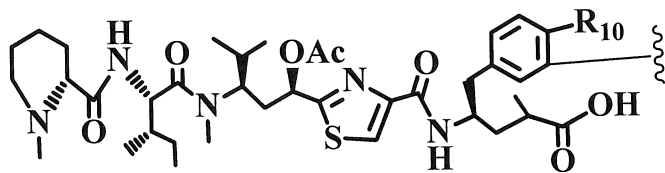




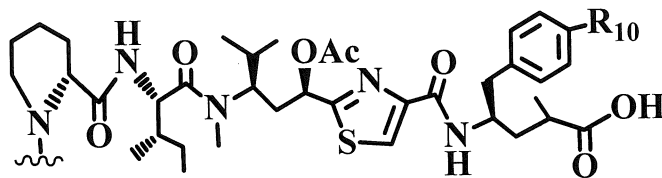
(V-4, calicheamixin),



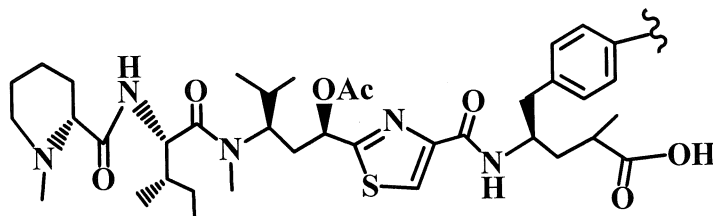
(V-5, dẫn xuất tubulysin),



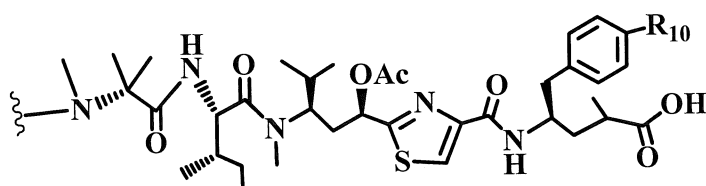
(V-6, dẫn xuất tubulysin),



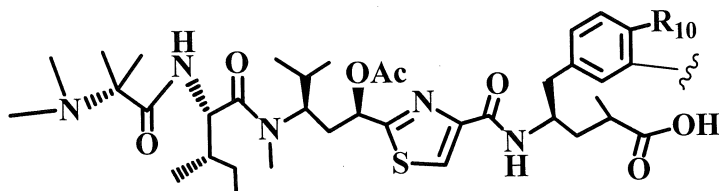
(V-7, dẫn xuất tubulysin),



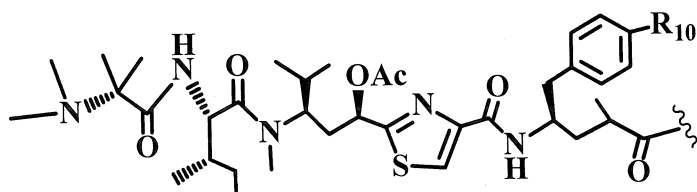
(V-8, dẫn xuất tubulysin),



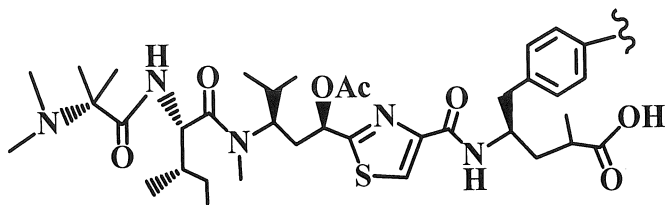
(V-9, dẫn xuất tubulysin),



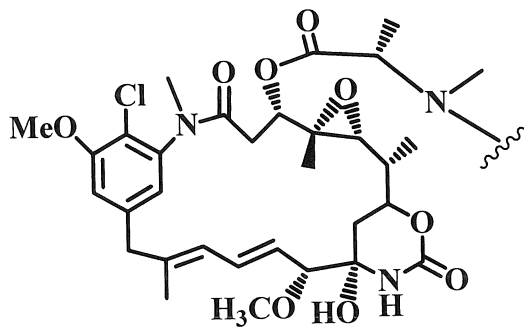
(V-10, dẫn xuất tubulysin),



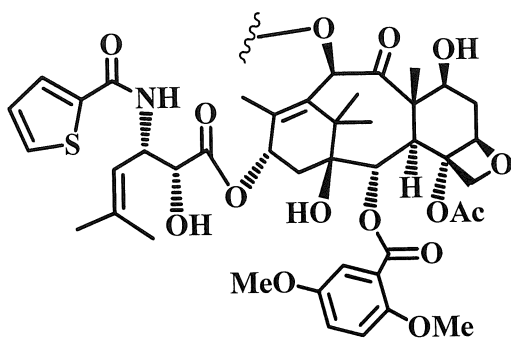
(V-11, dẫn xuất tubulysin),



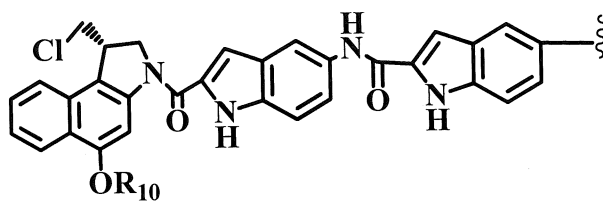
(V-12, dẫn xuất tubulysin),



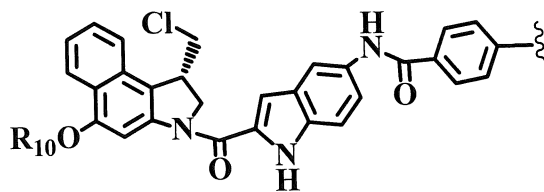
(V-13, maytansinoid),



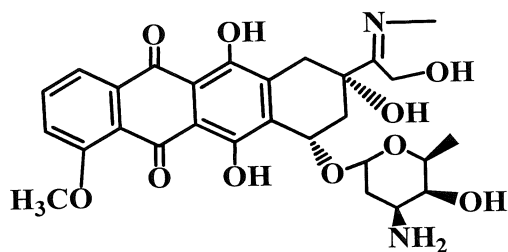
(V-14, taxanoid),



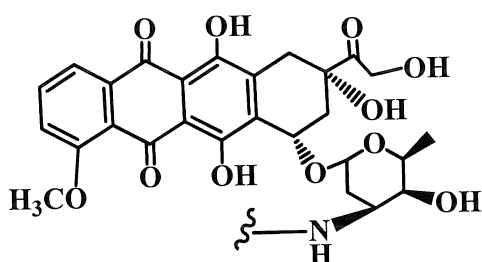
(V-15, chất tương tự CC-1065),



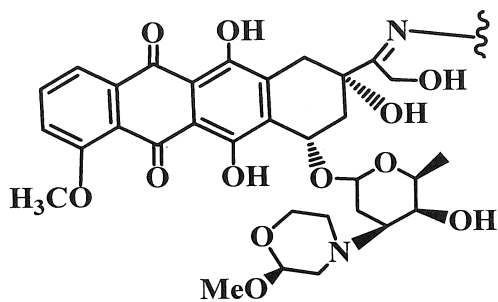
(V-16, chất tương tự duocarmyxin),



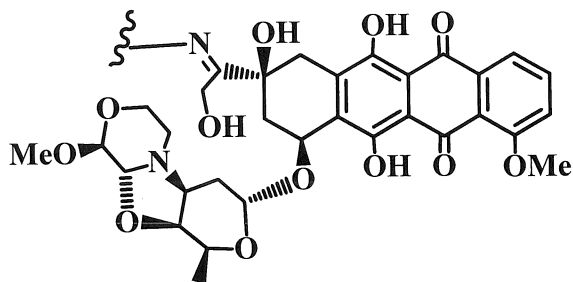
(V-17, hợp chất daunorubicin),



(V-18, hợp chất doxorubicin),

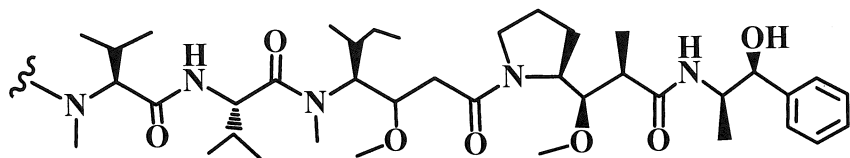


(V-19, hợp chất daunorubixin),



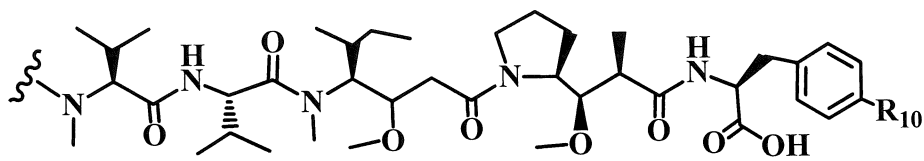
(V-20, hợp chất daunorubixin hoặc

doxorubicin),



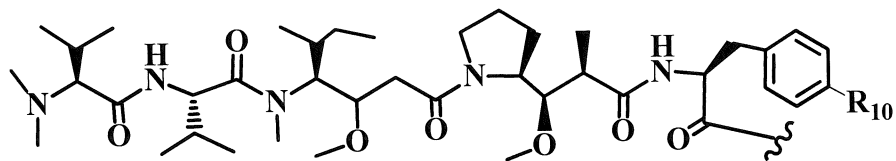
(V-21, dẫn xuất

auristatin),



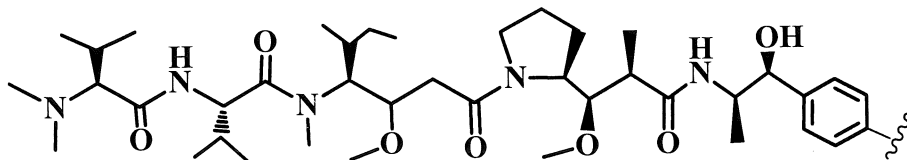
(V-22, dẫn xuất

auristatin),



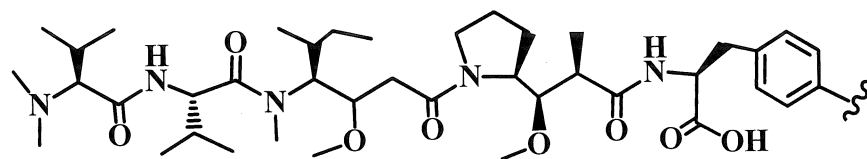
(V-23, dẫn xuất

auristatin)



(V-24, dolastatin

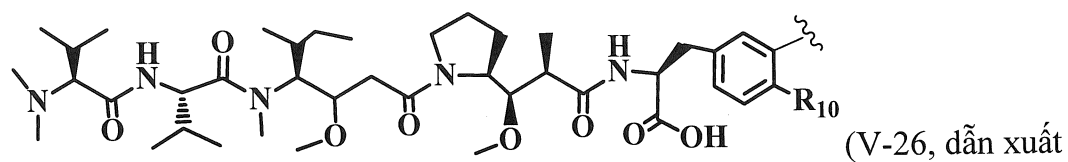
hoặc dẫn xuất auristatin (MMAE))



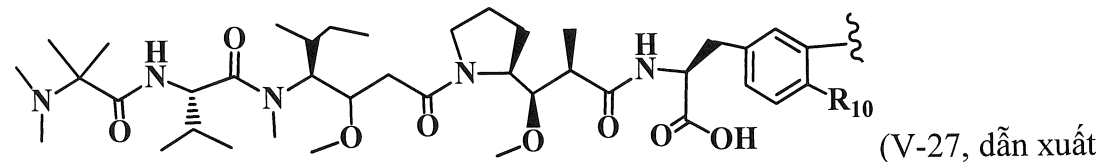
(V-25, dolastatin hoặc

dẫn xuất auristatin),

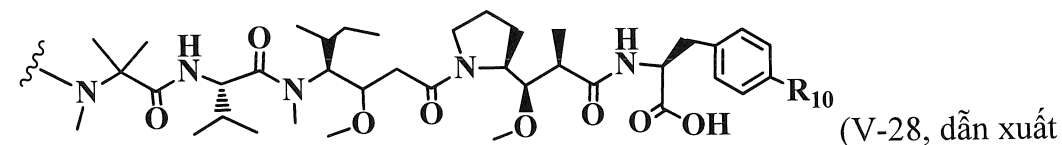




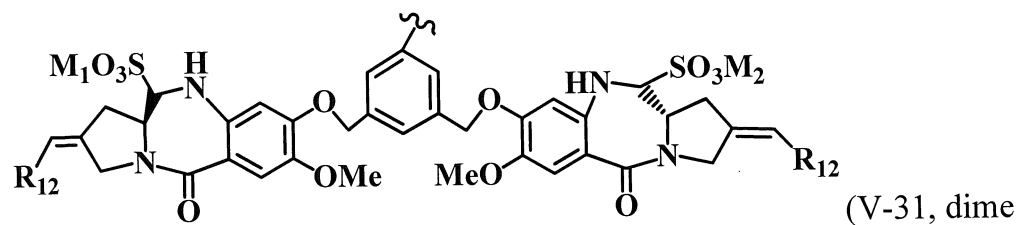
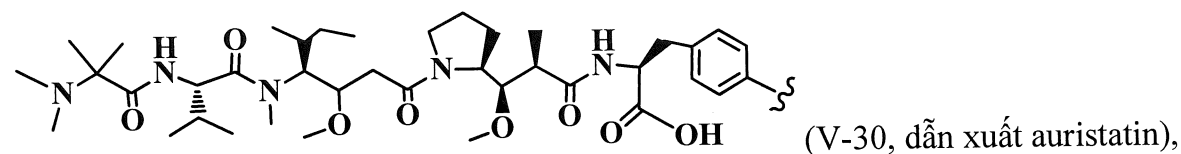
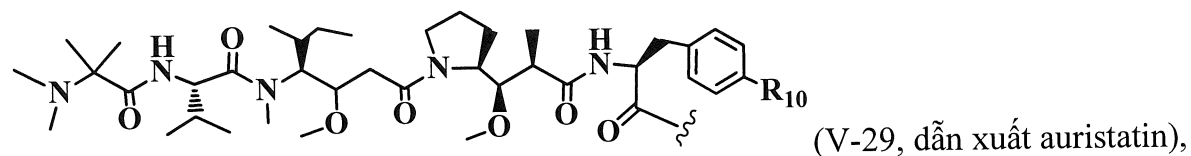
auristatin),



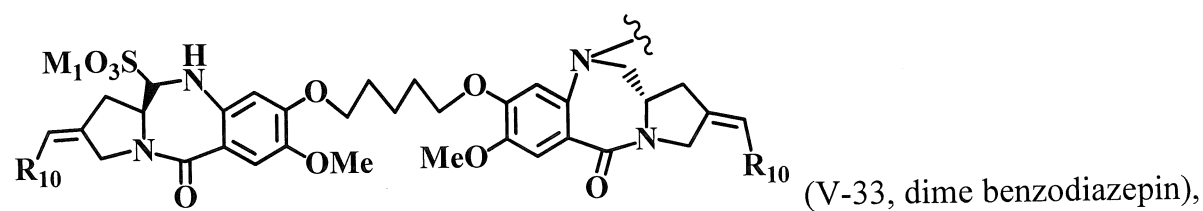
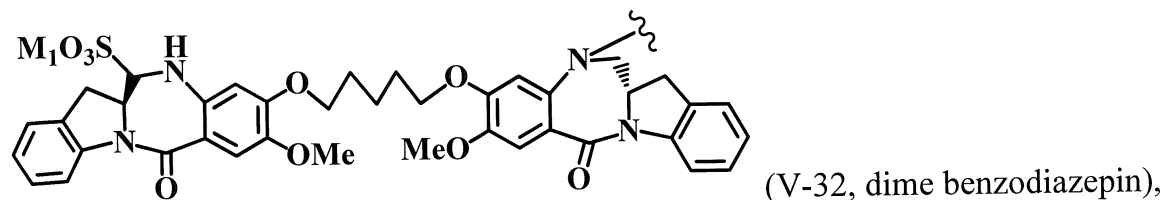
auristatin),

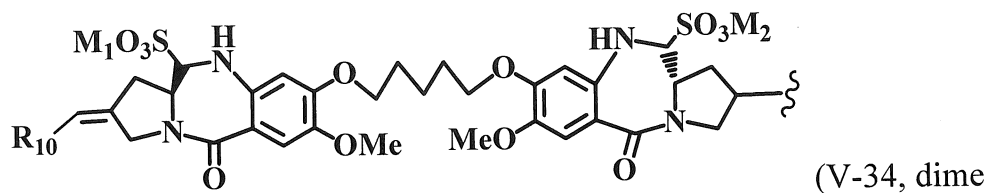


auristatin),

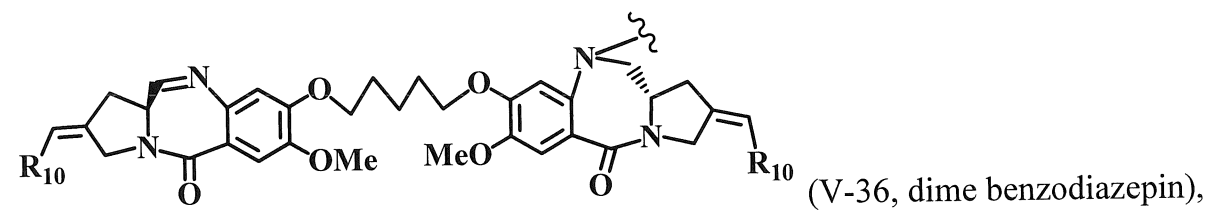
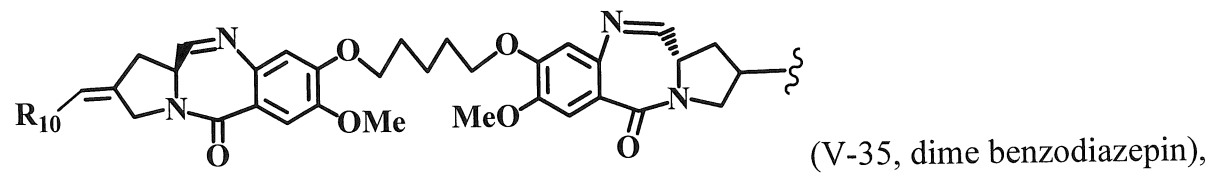


benzodiazepin),





benzodiazepin),



(V-37, siARN), (V-38, enzym hoặc protein được liên kết từ đầu tận cùng N), (V-39, enzym hoặc protein được liên kết từ đầu tận cùng C),

trong đó  $R_{10}$  được mô tả giống như trong điểm 15, và  $\text{---}\zeta$  là vị liên kết với nhóm liên kết  $L_1$  hoặc nhóm liên kết  $L_2$ .