



(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)



1-0049225

(51)^{2020.01} A61K 47/68; C07K 5/10; C07K 5/06;
C07K 5/08; A61P 35/00; C07D 491/22

(13) B

(21) 1-2021-06562

(22) 23/03/2020

(86) PCT/EP2020/057984 23/03/2020

(87) WO2020/200880 08/10/2020

(30) 62/826393 29/03/2019 US; 62/964177 22/01/2020 US

(45) 25/07/2025 448

(43) 25/11/2022 416A

(73) MEDIMMUNE LIMITED (GB)

Milstein Building, Granta Park, Cambridge Cambridgeshire CB21 6GH, United Kingdom

(72) HOWARD, Philip, Wilson (GB); DICKINSON, Niall (GB); CAILLEAU, Thais (GB); MASTERSON, Luke (GB); GOUNDRY, William (GB).

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

(54) HỢP CHẤT VÀ THỂ TIẾP HỢP CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(21) 1-2021-06562

(57) Sáng chế đề cập đến thể tiếp hợp chứa hợp chất ức chế topoisomeraza có công thức (A*) với gốc liên kết để nối với đơn vị phối tử, trong đó gốc liên kết được gắn theo phương thức có thể phân cắt được với gốc amino. Tốt hơn nếu đơn vị phối tử là kháng thể. Sáng chế cũng đề cập đến hợp chất ức chế topoisomeraza có công thức (A*) với đơn vị liên kết được gắn vào, và hợp chất trung gian để tổng hợp hợp chất này, cũng như đầu đạn được giải phóng.

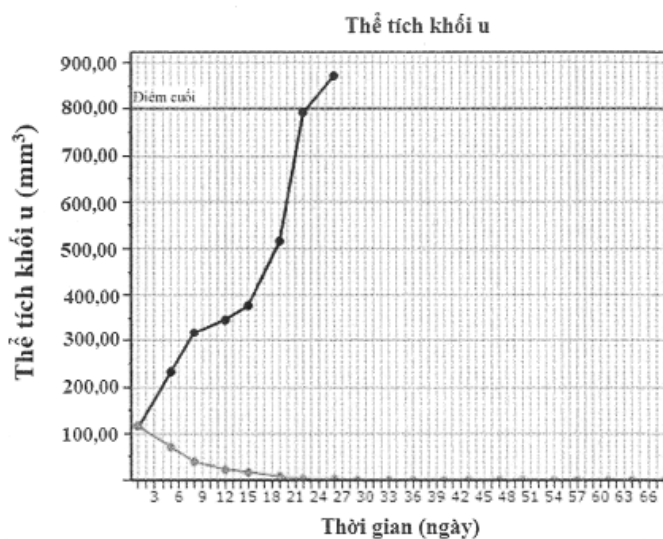
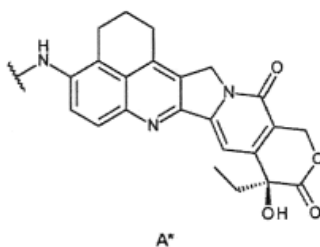


Fig.1



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

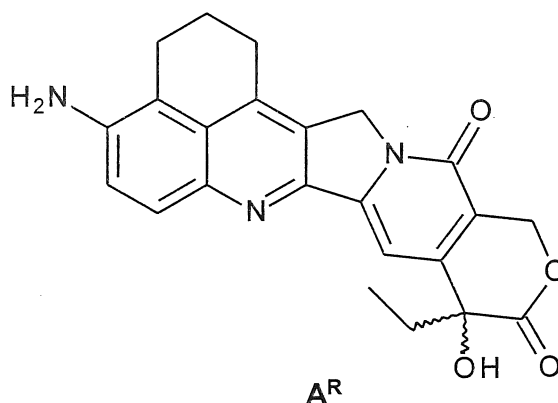
Sáng chế đề cập đến thể tiếp hợp hướng đích chứa chất ức chế topoisomeraza cụ thể và hợp chất hữu dụng trong quy trình tổng hợp chúng, cũng như là đầu đạn được giải phóng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Chất ức chế topoisomeraza

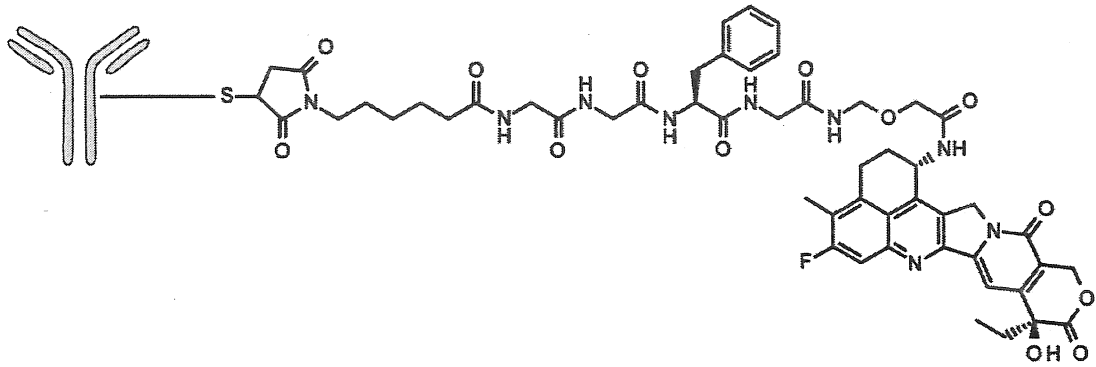
Chất ức chế topoisomeraza là hợp chất hóa học mà phong bế tác động của topoisomeraza (topoisomeraza I và II), là enzym kiểm soát sự thay đổi của cấu trúc ADN bằng cách xúc tác cho sự phá vỡ và tái kết hợp của khung phosphodiester của sợi ADN trong chu trình tế bào bình thường.

Hợp chất sau đây:

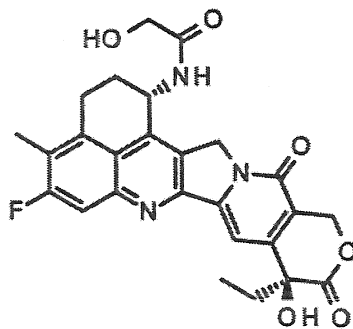


ở dạng racemic được bộc lộ trong EP 0296597 (Ví dụ 63). Nó cũng được bộc lộ (dưới dạng hợp chất 34 ở dạng racemic) trong Sugimori, M., *et al.*, *J Med Chem*, 1998, 41, 2308-2318 (DOI: 10.1021/jm970765q), trong đó hoạt tính sinh học của nó được thảo luận, cùng với đó là nhiều hợp chất liên quan.

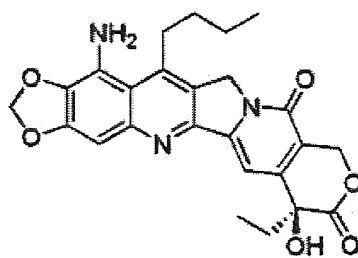
Nhiều chất ức chế topoisomeraza khác nhau, như dẫn xuất irinotecan và exatecan và doxorubicin, đã được bao gồm trong thể tiếp hợp dược chất kháng thể. Ví dụ, Daiichi Sankyo có DS-8201a trong các thử nghiệm lâm sàng:



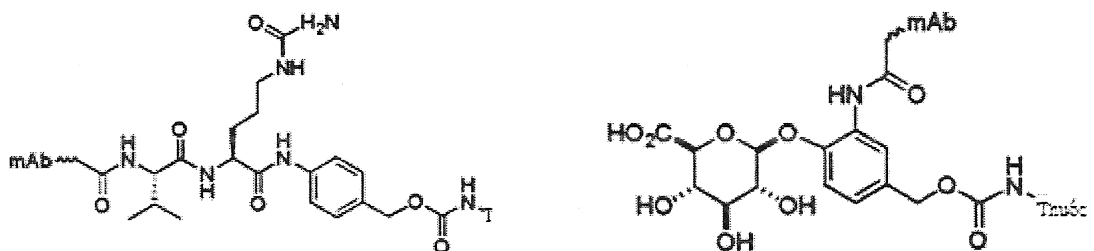
trong đó kháng thể là Her2 (Takegawa, N., *et al.*, *Int J Cancer*, 2017, *141*, 1682-1689 (DOI: 10.1002/ijc.30870). ADC này giải phóng ra dẫn xuất exatecan:



Burke, P.J., *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, 2009, *20*, 1242-1250, bộc lộ thể tiếp hợp của:

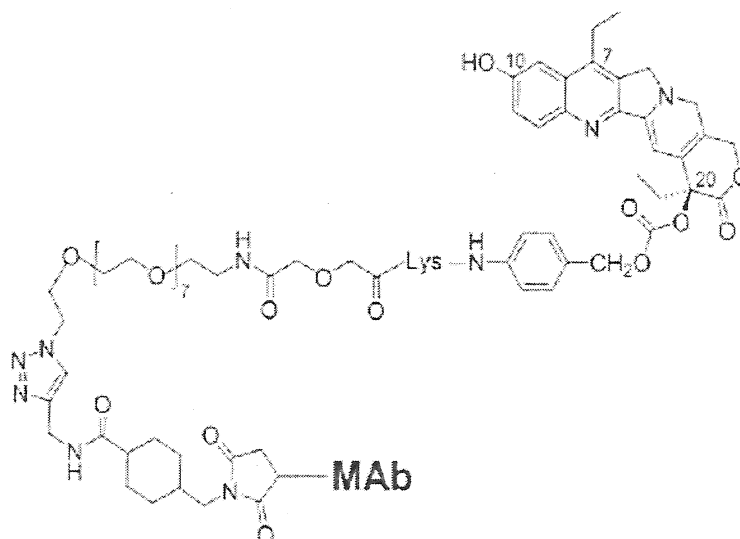


được liên kết thông qua nhóm amino với cấu trúc sau đây:



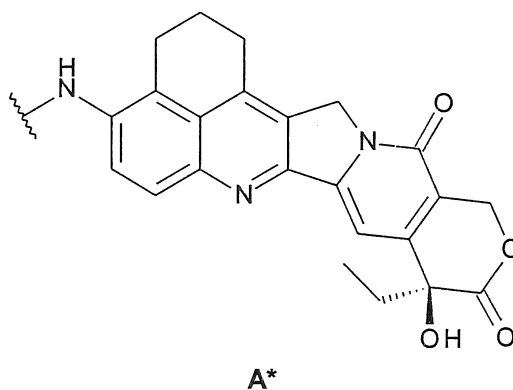
bao gồm nhóm PABC (para-aminobenzyloxycarbonyl).

Immunomedics có Sacituzumab Govitecan (IMMU-132) trong các thử nghiệm lâm sàng (Cardillo, T.M., *et al.*, *Bioconjugate Chem*, 2015, 26(5), 919-931, DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.5b00223)



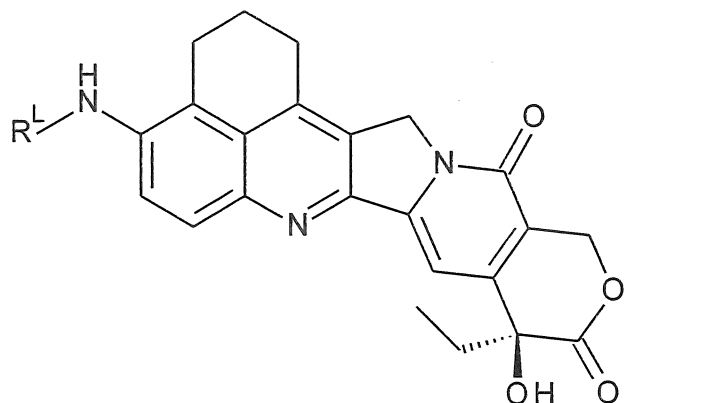
Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến thể tiếp hợp chứa hợp chất ức chế topoisomeraza sau đây (A*, đơn vị dược chất):



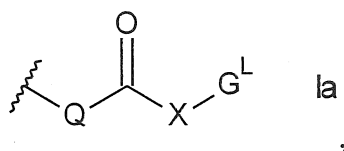
với gốc liên kết để nối với đơn vị phối tử, trong đó gốc liên kết được gắn theo phương thức có thể phân cắt được với gốc amino. Tốt hơn nếu, đơn vị phối tử kháng thể. Sáng chế cũng đề cập đến A* với đơn vị liên kết được gắn vào, và các hợp chất trung gian để tổng hợp chúng, cũng như là đầu đạn được giải phóng.

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I:



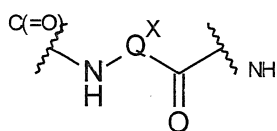
và muối và solvat của nó, trong đó R^L là gốc liên kết để nối với đơn vị phối tử, được chọn từ

(ia):



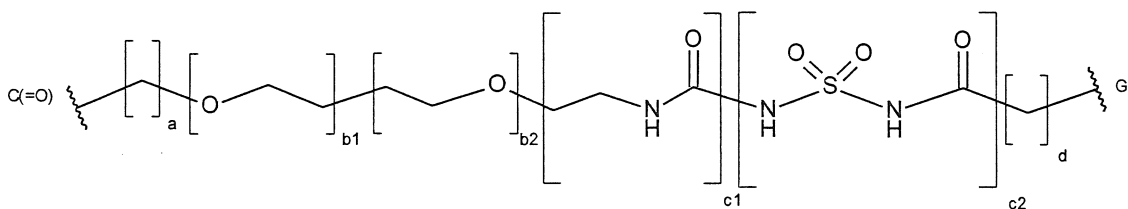
trong đó:

Q là:



, trong đó Q^X là nhóm sao cho Q là gốc axit amin, gốc dipeptit, gốc tripeptit hoặc gốc tetrapeptit;

X là:

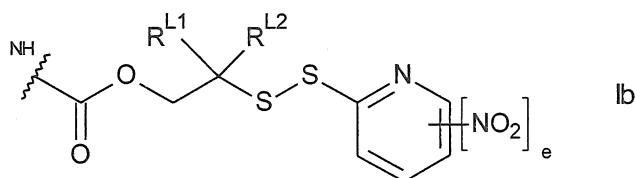


trong đó $a =$ từ 0 đến 5, $b1 =$ từ 0 đến 16, $b2 =$ từ 0 đến 16, $c1 = 0$ hoặc 1, $c2 = 0$ hoặc 1, $d =$ từ 0 đến 5, trong đó ít nhất nếu $b1$ hoặc $b2 = 0$ (tức là chỉ một trong số $b1$ và

b2 có thể không bằng 0) và ít nhất nếu c1 hoặc c2 = 0 (tức là chỉ một trong số c1 và c2 có thể không bằng 0);

G^L là gốc liên kết để nối với đơn vị phối tử;

(ib):

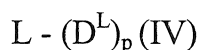


trong đó R^{L1} và R^{L2} độc lập được chọn từ H và methyl, hoặc cùng với nguyên tử carbon mà chúng liên kết với tạo thành nhóm xyclopropylen hoặc xyclobutylen ; và

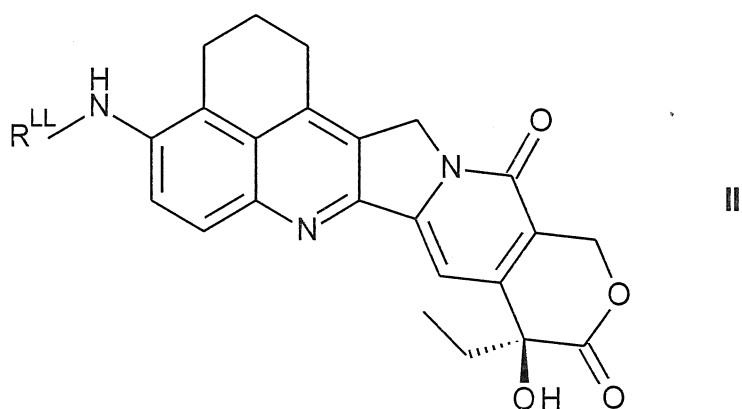
e bằng 0 hoặc 1.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề cập đến phương pháp điều chế hợp chất theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế, bao gồm ít nhất nếu một trong số các bước phương pháp nêu dưới đây.

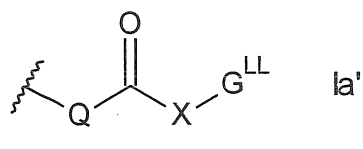
Theo khía cạnh thứ ba, sáng chế đề cập đến thể tiếp hợp có công thức IV:



hoặc muối hoặc solvat được dụng của nó, trong đó L là đơn vị phối tử (tức là, chất hướng đích), D^L là đơn vị gốc liên kết được nối với đơn vị phối tử được chọn từ

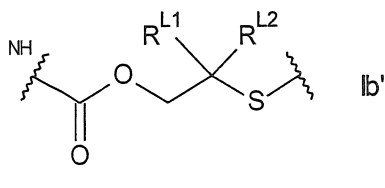


R^{LL} là gốc liên kết được nối với đơn vị phối tử được chọn từ (ia'):



trong đó Q và X như được xác định trong khía cạnh thứ nhất và G^{LL} là gốc liên kết được nối với đơn vị phối tử; và

(ib'):



trong đó R^{L1} và R^{L2} như được xác định trong khía cạnh thứ nhất; và

p là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 20.

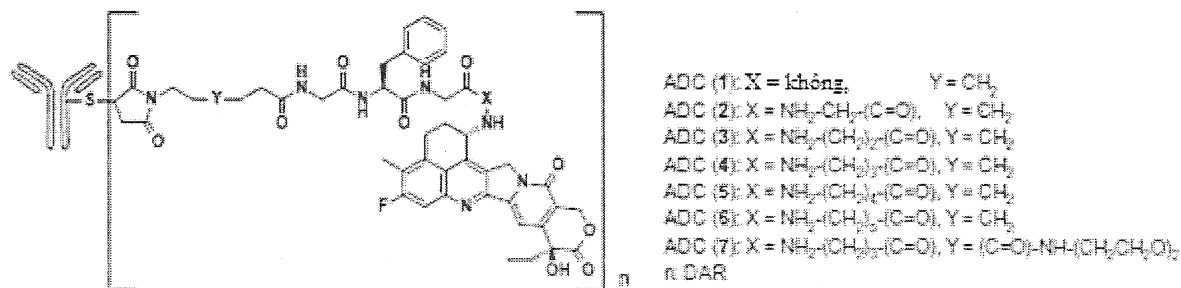
Theo đó, thể tiếp hợp chứa đơn vị phối tử liên kết cộng hóa trị với ít nhất nếu một đơn vị dược chất (A^*) bằng đơn vị gốc liên kết (tức là đơn vị phối tử với một hoặc nhiều đơn vị dược chất-gốc liên kết được gắn vào). Đơn vị phối tử, được mô tả đầy đủ hơn dưới đây, là chất hướng đích mà liên kết với gốc đích. Đơn vị phối tử có thể, ví dụ, liên kết đặc hiệu với thành phần tế bào (chất liên kết tế bào) hoặc với phân tử đích khác được quan tâm. Theo đó, sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị, ví dụ, các bệnh ung thư khác nhau và bệnh tự miễn. Các phương pháp này bao gồm bước sử dụng thể tiếp hợp trong đó đơn vị phối tử là chất hướng đích liên kết đặc hiệu với phân tử đích. Đơn vị phối tử có thể là, ví dụ, protein, polypeptit hoặc peptit, như kháng thể, mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể, hoặc chất liên kết khác, như protein dung hợp Fc.

Tải lượng dược chất được thể hiện bằng p, số lượng của đơn vị dược chất trong mỗi đơn vị phối tử (ví dụ, kháng thể). Tải lượng dược chất có thể nằm trong khoảng từ 1 đến 20 đơn vị dược chất (D) trong mỗi đơn vị phối tử (ví dụ, Ab hoặc mAb). Đối với chế phẩm, p thể hiện tải lượng dược chất trung bình của thể tiếp hợp trong chế phẩm, và p nằm trong khoảng từ 1 đến 20.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng thể tiếp hợp của khía cạnh thứ ba của sáng chế để sản xuất thuốc để điều trị bệnh tăng sinh. Sáng chế cũng đề cập đến thể tiếp hợp của khía cạnh thứ ba của sáng chế để sử dụng trong điều trị bệnh tăng sinh.

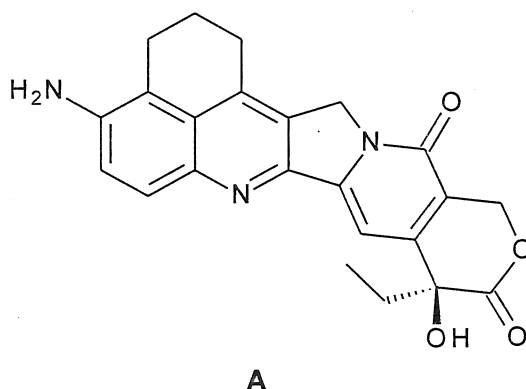
Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể dễ dàng xác định hợp chất ứng viên có điều trị tình trạng bệnh tăng sinh đối với loại tế bào cụ thể bất kỳ hay không. Ví dụ, thử nghiệm có thể được sử dụng thuận tiện để đánh giá hoạt tính được mang lại bởi hợp chất cụ thể được mô tả trong các ví dụ dưới đây.

Nakada, *et al.*, *Bioorg Med Chem Lett*, 26 (2016), 1542-1545 (DOI: 10.1016/j.bmcl.2016.02.020) đề cập đến một số thể tiếp hợp dược chất kháng thể:



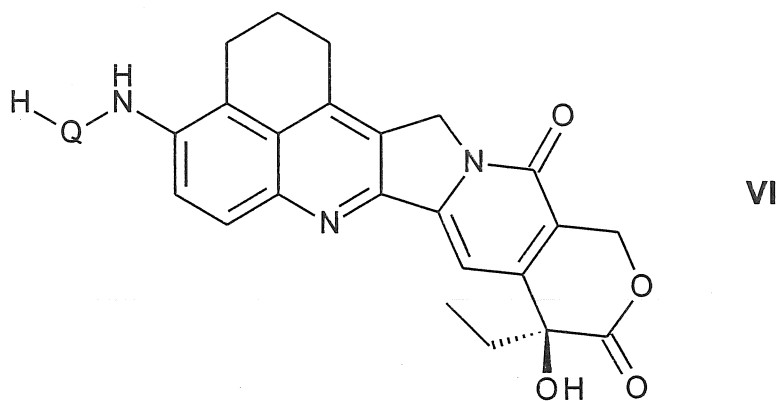
và kết luận rằng sự gây độc tế bào giảm đi của thể tiếp hợp dược chất kháng thể (1) và (2) có thể là do sự cản trở không gian của gốc thuốc được giải phóng tại vị trí được tác động bởi enzym làm thoái biến ở tế bào khối u. Tài liệu này hướng dẫn tầm quan trọng của sự giãn cách nhóm peptit từ gốc thuốc được giải phóng công kênh. Ngược lại, trong sáng chế, nhóm peptit được liên kết trực tiếp với gốc thuốc được giải phóng công kênh.

Theo khía cạnh thứ năm, sáng chế đề cập đến hợp chất A:



dưới dạng chất đồng phân đối ảnh đơn lẻ hoặc ở dạng được làm giàu chất đồng phân đối ảnh.

Theo khía cạnh thứ sáu, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức VI:



trong đó Q như được xác định trong khía cạnh thứ nhất.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện đồ thị của sự phát triển khối u trung bình trong đó:

Tả được lông	●
ConjA*	◆

Mô tả chi tiết sáng chế

Định nghĩa

Thuật ngữ “C₅₋₆ arylen” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ gốc hóa trị hai thu được bằng cách loại bỏ hai nguyên tử hydro từ nguyên tử vòng thơm của hợp chất thơm.

Trong ngữ cảnh này, các tiền tố (ví dụ C₅₋₆) chỉ số lượng của nguyên tử vòng, hoặc khoảng giá trị của số lượng của nguyên tử vòng, dù là nguyên tử carbon hay nguyên tử khác loại.

Nguyên tử vòng có thể đều là nguyên tử carbon, như trong “nhóm carboarylen”, trong trường hợp đó nhóm này là phenylen (C₆).

Theo cách khác, nguyên tử vòng có thể bao gồm một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, như trong “nhóm heteroarylen”. Ví dụ về nhóm heteroarylen bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các nhóm có nguồn gốc từ:

N₁: pyrol (azol) (C₅), pyridin (azin) (C₆);

O₁: furan (oxol) (C₅);

S₁: thiophen (thiol) (C₅);

N₁O₁: oxazol (C₅), isoxazol (C₅), isoxazin (C₆);

N_2O_1 : oxadiazol (furazan) (C_5);

N_3O_1 : oxatriazol (C_5);

N_1S_1 : thiazol (C_5), isothiazol (C_5);

N_2 : imidazol (1,3-diazol) (C_5), pyrazol (1,2-diazol) (C_5), pyridazin (1,2-diazin) (C_6), pyrimidin (1,3-diazin) (C_6) (ví dụ, xytosin, tymin, uraxin), pyrazin (1,4-diazin) (C_6); và

N_3 : triazol (C_5), triazin (C_6).

Thuật ngữ “ C_{1-4} alkyl” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ gốc hóa trị một thu được bằng cách loại bỏ nguyên tử hydro từ nguyên tử carbon của hợp chất hydrocarbon có từ 1 đến 4 nguyên tử carbon, có thể là béo hoặc vòng béo, và có thể là no hoặc chưa no (ví dụ chưa no một phần, chưa no hoàn toàn). Thuật ngữ “ C_{1-n} alkyl” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ gốc hóa trị một thu được bằng cách loại bỏ nguyên tử hydro từ nguyên tử carbon của hợp chất hydrocarbon có từ 1 đến n nguyên tử carbon, có thể là béo hoặc vòng béo, và có thể là no hoặc chưa no (ví dụ chưa no một phần, chưa no hoàn toàn). Do đó, thuật ngữ “alkyl” bao gồm các lớp phụ alkenyl, alkynyl, xycloalkyl, v.v., được thảo luận dưới đây.

Ví dụ về nhóm alkyl no bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, metyl (C_1), etyl (C_2), propyl (C_3) và butyl (C_4).

Ví dụ về nhóm alkyl mạch thẳng no bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, metyl (C_1), etyl (C_2), n-propyl (C_3) và n-butyl (C_4).

Ví dụ về nhóm alkyl mạch nhánh no bao gồm iso-propyl (C_3), iso-butyl (C_4), sec-butyl (C_4) và tert-butyl (C_4).

Thuật ngữ “ C_{2-4} alkenyl” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ nhóm alkyl có một hoặc nhiều liên kết đôi carbon-carbon.

Ví dụ về nhóm alkenyl chưa no bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, etenyl (vinyl, $-CH=CH_2$), 1-propenyl ($-CH=CH-CH_3$), 2-propenyl (alyl, $-CH-CH=CH_2$), isopropenyl (1-metylvinyl, $-C(CH_3)=CH_2$) và butenyl (C_4).

Thuật ngữ “ C_{2-4} alkynyl” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ nhóm alkyl có một hoặc nhiều liên kết ba carbon-carbon.

Ví dụ về nhóm alkynyl chưa no bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, etynyl ($\text{C}\equiv\text{CH}$) và 2-propynyl (propargyl, $-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{CH}$).

Thuật ngữ “ C_{3-4} xycloalkyl” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ nhóm alkyl cũng là nhóm xyclyl; tức là, gốc hóa trị một thu được bằng cách loại bỏ nguyên tử hydro từ nguyên tử vòng của vòng béo của hợp chất hydrocarbon mạch vòng (carboxyclic), mà gốc có từ 3 đến 7 nguyên tử carbon, bao gồm từ 3 đến 7 nguyên tử vòng.

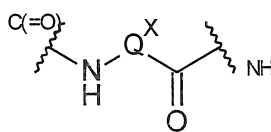
Ví dụ về nhóm xycloalkyl bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các nhóm có nguồn gốc từ:

hợp chất hydrocarbon đơn vòng no:

xyclopropan (C_3) và xyclobutan (C_4); và

hợp chất hydrocarbon đơn vòng chưa no:

xyclopropen (C_3) và xyclobuten (C_4).



Nhãn kết nối: Trong công thức , nhãn bên trên $\text{C}(=\text{O})$ và NH thể hiện nhóm mà các nguyên tử được liên kết vào. Ví dụ, nhóm NH được thể hiện là được liên kết vào carbonyl (mà không phải là một phần của gốc được minh họa), và carbonyl được thể hiện là được liên kết vào nhóm NH (mà không phải là một phần của gốc được minh họa).

Muối

Có thể thuận tiện hoặc mong muốn là điều chế, tinh chế, và/hoặc xử lý muối tương ứng của hợp chất hoạt tính, ví dụ, muối được dụng. Ví dụ về muối được dụng được thảo luận trong Berge, *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, 66, 1-19 (1977).

Ví dụ, nếu hợp chất là hợp chất anion, hoặc có nhóm chức có thể là anion (ví dụ $-\text{COOH}$ có thể là $-\text{COO}^-$), thì muối có thể được tạo thành với cation thích hợp. Ví dụ về cation vô cơ thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ion kim loại kiềm như Na^+ và K^+ , cation kiềm thổ như Ca^{2+} và Mg^{2+} , và các cation khác như Al^{+3} . Ví dụ về cation hữu cơ thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ion amoni (tức là NH_4^+) và ion amoni được thế (ví dụ NH_3R^+ , NH_2R_2^+ , NHR_3^+ , NR_4^+). Ví dụ về một số ion amoni được thế thích hợp là các nhóm có nguồn gốc từ: etylamin, diethylamin, dixyclohexylamin,

trietylamin, butylamin, etylendiamin, etanolamin, dietanolamin, piperazin, benzylamin, phenylbenzylamin, cholin, meglumin, và tromethamin, cũng như là axit amin, như lysin và arginin. Ví dụ về ion amoni bậc bốn thông thường là $N(CH_3)_4^+$.

Nếu hợp chất là hợp chất cation, hoặc có nhóm chức có thể là cation (ví dụ $-NH_2$ có thể là $-NH_3^+$), thì muối có thể được tạo thành với anion thích hợp. Ví dụ về anion vô cơ thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, anion vô cơ có nguồn gốc từ các axit vô cơ sau đây: axit clohydric, axit hydrobromic, axit hydroiodic, axit sulfuric, axit sulfuro, axit nitric, axit nitơ, axit phosphoric, và axit phosphorơ.

Ví dụ về anion hữu cơ thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, anion hữu cơ có nguồn gốc từ các axit hữu cơ sau đây: axit 2-axetyoxybenzoic, axit axetic, axit ascorbic, axit aspartic, axit benzoic, axit camphorsulfonic, axit cinnamic, axit xitric, axit edetic, axit etandisulfonic, axit etansulfonic, axit fumaric, axit glucheptonic, axit gluconic, axit glutamic, axit glycolic, axit hydroxymaleic, axit hydroxynaphtalen carboxylic, axit isethionic, axit lactic, axit lactobionic, axit lauric, axit maleic, axit malic, axit metansulfonic, axit mucic, axit oleic, axit oxalic, axit palmitic, axit pamoic, axit pantothenic, axit phenylaxetic, axit phenylsulfonic, axit propionic, axit pyruvic, axit salixylic, axit stearic, axit succinic, axit sulfanilic, axit tartaric, axit toluensulfonic, axit trifloaxetic và axit valeric. Ví dụ về anion hữu cơ dạng polyme thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, anion hữu cơ dạng polyme có nguồn gốc từ các axit dạng polyme sau đây: axit tannic, carboxymetyl xenluloza.

Solvat

Có thể thuận tiện hoặc mong muốn là điều chế, tinh chế, và/hoặc xử lý solvat tương ứng của hợp chất hoạt tính. Thuật ngữ “solvat” được sử dụng trong bản mô tả này theo nghĩa thông thường để đề cập đến phức hợp của chất tan (ví dụ hợp chất hoạt tính, muối của hợp chất hoạt tính) và dung môi. Nếu dung môi là nước, solvat có thể được đề cập đến một cách thuận tiện dưới dạng hydrat, ví dụ, mono-hydrat, di-hydrat, tri-hydrat, v.v..

Chất đồng phân

Các hợp chất nhất định theo sáng chế có thể tồn tại ở một hoặc nhiều dạng hình học, quang học, đồng phân đối ảnh, đồng phân không đối quang, epime, atropic, đồng phân lập thể, hỗn hợp, cấu dạng, hoặc anome cụ thể, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở,

dạng cis và trans; dạng E và Z; dạng c, t, và r; dạng endo và exo; dạng R, S, và meso; dạng D và L; dạng d và l; dạng (+) và (-); dạng keto, enol, và enolat; dạng syn và anti; dạng lồi và lõm; dạng α và β ; dạng trực và xích đạo; dạng thuyền, ghế, xoắn, bao, và nửa ghế; và tổ hợp của chúng, sau đây được đề cập chung là “chất đồng phân” (hoặc “dạng đồng phân”).

Thuật ngữ “bất đối xứng” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ các phân tử có tính chất không chồng khít lên nhau của đối tác ảnh qua gương, mặc dù thuật ngữ “đối xứng” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ các phân tử có thể chồng khít lên nhau trên ảnh qua gương của chúng.

Thuật ngữ “chất đồng phân lập thể” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ hợp chất có cấu tạo hóa học tương đồng, nhưng khác ở sự sắp xếp của các nguyên tử hoặc các nhóm trong không gian.

Thuật ngữ “chất đồng phân không đối quang” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ đồng phân lập thể có hai hoặc hơn hai tâm bất đối xứng và phân tử của chúng không phải là ảnh qua gương của nhau. Các đồng phân không đối quang có tính chất vật lý khác nhau, ví dụ điểm nóng chảy, điểm sôi, tính chất phổ, và khả năng phản ứng. Hỗn hợp của các đồng phân không đối quang có thể tách ra trong quy trình phân tích độ phân giải cao như điện di và sắc ký.

Thuật ngữ “chất đồng phân đối ảnh” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ hai chất đồng phân lập thể của hợp chất mà là ảnh qua gương không chồng khít lên nhau của nhau.

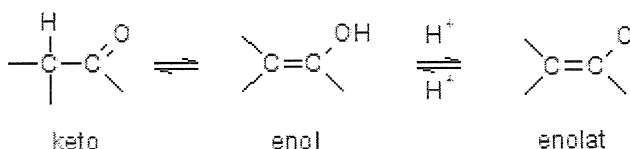
Các định nghĩa và quy ước hóa học lập thể sử dụng trong bản mô tả này thường là theo S. P. Parker, Ed., *McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms* (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; và Eliel, E. and Wilen, S., “Stereochemistry of Organic Compounds”, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994. Hợp chất theo sáng chế có thể chứa tâm bất đối xứng hoặc chiral, và do đó, tồn tại ở các dạng đồng phân lập thể khác nhau. Dự định rằng tất cả các dạng đồng phân lập thể của hợp chất theo sáng chế, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, đồng phân không đối quang, đồng phân đối ảnh và đồng phân atropisomer, cũng như là hỗn hợp của chúng như hỗn hợp racemic, tạo thành một phần của sáng chế. Nhiều hợp chất hữu cơ tồn tại ở dạng có hoạt tính quang học, tức là, chúng có khả năng làm quay mặt phẳng của ánh sáng phân cực phẳng. Trong việc mô tả hợp chất có hoạt tính quang học, các tiền tố D và L, hoặc R và S, được sử dụng để chỉ

cấu hình tuyệt đối của phân tử quanh (các) tâm bất đối xứng của nó. Các tiền tố d và l hoặc (+) và (-) được sử dụng để chỉ dấu của sự quay của ánh sáng phân cực phẳng bằng hợp chất, với (-) hoặc l có nghĩa là hợp chất quay trái. Hợp chất có tiền tố (+) hoặc d quay phải. Đối với cấu trúc hóa học nhất định, các chất đồng phân lập thể này giống nhau ngoại trừ việc chúng là ảnh qua gương của nhau. Đồng phân lập thể cụ thể cũng có thể được đề cập đến dưới dạng chất đồng phân đối ảnh, và hỗn hợp của các chất đồng phân này thường được gọi là chất đồng phân đối ảnh hỗn hợp. Hỗn hợp 50:50 của các chất đồng phân đối ảnh được đề cập đến dưới dạng hỗn hợp raxemic hoặc raxemat, có thể xảy ra trong đó không có sự chọn lọc lập thể hoặc tính đặc hiệu lập thể trong phản ứng hoặc quy trình hóa học. Thuật ngữ “hỗn hợp raxemic” và “raxemat” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ hỗn hợp đẳng mol của hai loại chất đồng phân đối ảnh, không có hoạt tính quang học.

Thuật ngữ “dạng được làm giàu đồng phân đối ảnh” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ mẫu của chất bất đối xứng mà tỷ lệ chất đồng phân đối ảnh của nó lớn hơn 50:50 nhưng nhỏ hơn 100:0.

Lưu ý rằng, trừ khi được thảo luận dưới đây đối với các dạng hỗn biến, được loại trừ cụ thể khỏi thuật ngữ “chất đồng phân”, như sử dụng trong bản mô tả này, là chất đồng phân cấu trúc (hoặc cấu tạo) (tức là chất đồng phân mà khác biệt ở sự kết nối giữa các nguyên tử không chỉ ở vị trí của các nguyên tử trong không gian). Ví dụ, việc đề cập đến nhóm metoxy, $-OCH_3$, không được hiểu là việc đề cập đến đồng phân cấu trúc của nó, nhóm hydroxymetyl, $-CH_2OH$. Tương tự, việc đề cập đến ortho-clophenyl không được hiểu là việc đề cập đến đồng phân cấu trúc của nó, meta-clophenyl. Tuy nhiên, việc đề cập đến lớp cấu trúc có thể bao gồm dạng đồng phân cấu trúc nằm trong lớp đó (ví dụ C_{1-7} alkyl bao gồm n-propyl và iso-propyl; butyl bao gồm n-, iso-, sec-, và tert-butyl; metoxyphenyl bao gồm ortho-, meta-, và para-metoxypheyl).

Sự loại trừ trên đây không liên quan đến các dạng hỗn biến, ví dụ, các dạng keto, enol, và enolat, như trong, ví dụ, các cặp hỗn biến sau đây: keto/enol (được minh họa dưới đây), imin/enamin, rượu amit/imino, amidin/enediamin, nitroso/oxime, thioketon/enethiol, N-nitroso/hydroxyazo, và nitro/aci-nitro.



Thuật ngữ “chất hỗ biến” hoặc “dạng hỗ biến” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ các chất đồng phân cấu trúc có năng lượng khác nhau có thể chuyển đổi qua lại thông qua hàng rào năng lượng thấp. Ví dụ, chất hỗ biến proton (còn được biết đến dưới dạng chất hỗ biến prototropic) bao gồm sự chuyển đổi qua lại thông qua sự di chuyển của proton, như sự đồng phân hóa keto-enol và imin-enamin. Chất hỗ biến hóa trị bao gồm sự chuyển đổi qua lại bằng sự tái tổ chức của một số electron liên kết.

Lưu ý rằng được bao gồm cụ thể trong thuật ngữ “đồng phân” là hợp chất có một hoặc nhiều sự thể đồng vị. Ví dụ, H có thể ở dạng đồng vị bất kỳ, bao gồm ^1H , ^2H (D), và ^3H (T); C có thể ở dạng đồng vị bất kỳ, bao gồm ^{12}C , ^{13}C , và ^{14}C ; O có thể ở dạng đồng vị bất kỳ, bao gồm ^{16}O và ^{18}O ; và dạng tương tự.

Ví dụ về các đồng vị có thể được kết hợp vào hợp chất theo sáng chế bao gồm các đồng vị của hydro, carbon, nitơ, oxy, photpho, flo, clo và iot, như, nhưng không chỉ giới hạn ở ^2H (đơteri, D), ^3H (triti), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , và ^{125}I . Các hợp chất được gắn nhãn đồng vị khác nhau của sáng chế, ví dụ các hợp chất mà các đồng vị có hoạt tính phóng xạ như ^3H , ^{13}C , và ^{14}C được kết hợp vào. Các hợp chất được gắn nhãn đồng vị này có thể hữu dụng trong các nghiên cứu trao đổi chất, nghiên cứu động học phản ứng, kỹ thuật phát hiện hoặc chụp ảnh, như chụp xạ hình cắt lớp positron (positron emission tomography - PET) hoặc chụp cắt lớp vi tính đơn photon (SPECT) bao gồm thử nghiệm phân bố mô của dược chất hoặc cơ chất, hoặc trong điều trị phóng xạ của đối tượng bị bệnh. Hợp chất trị liệu được gắn nhãn hoặc được thể đơteri theo sáng chế có thể có tính chất DMPK (sự chuyển hóa và dược động học thuốc) được cải thiện, liên quan đến sự phân bố, sự chuyển hóa, và sự bài tiết (ADME). Sự thể bằng chất đồng vị nặng hơn như đơteri có thể mang lại lợi ích trị liệu nhất định bắt nguồn từ độ ổn định chuyển hóa lớn hơn, ví dụ thời gian bán thải *in vivo* tăng lên hoặc yêu cầu lưu trữ giảm. Hợp chất được gắn nhãn ^{18}F có thể hữu dụng đối với các nghiên cứu PET hoặc SPECT. Hợp chất được gắn nhãn đồng vị theo sáng chế này và tiền dược chất của chúng có thể thường được điều chế bằng cách thực hiện các quy trình được bộc lộ trong các sơ đồ hoặc trong các ví dụ và phương pháp điều chế được mô tả dưới đây bằng cách thay thế các

chất phản ứng được gắn nhãn đồng vị có sẵn dễ dàng bằng chất phản ứng không được đánh dấu đồng vị. Hơn nữa, sự thể bằng các chất đồng vị nặng hơn, cụ thể là đơteri (tức là, $2H$ hoặc D) có thể mang lại lợi ích trị liệu nhất định bắt nguồn từ độ ổn định chuyển hóa lớn hơn, ví dụ thời gian bán thải in vivo tăng lên hoặc yêu cầu liều lượng giảm hoặc cải thiện chỉ số trị liệu. Cần hiểu rằng đơteri trong ngữ cảnh này được coi như phần tử thể. Nồng độ của chất đồng vị nặng hơn này, cụ thể là đơteri, có thể được xác định bởi yếu tố làm giàu đồng vị. Trong hợp chất theo sáng chế này nguyên tử bất kỳ không được chỉ ra cụ thể là đồng vị cụ thể có nghĩa là thể hiện đồng vị ổn định bất kỳ của nguyên tử đó.

Trừ khi có quy định khác, việc đề cập đến hợp chất cụ thể bao gồm tất cả các dạng đồng phân này, bao gồm hỗn hợp raxemic (toàn bộ hoặc một phần) và hỗn hợp khác của chúng. Phương pháp điều chế (ví dụ tổng hợp không đối xứng) và tách (ví dụ kết tinh phân đoạn và phương thức sắc ký) của các dạng đồng phân này đã được biết đến trong lĩnh vực hoặc dễ dàng thu được bằng cách điều chỉnh phương pháp được hướng dẫn trong bản mô tả này, hoặc phương pháp đã biết, theo phương thức đã biết.

Đơn vị phối tử

Đơn vị phối tử có thể thuộc loại bất kỳ, và bao gồm protein, polypeptit, peptit và dược chất không phải là peptit liên kết đặc hiệu với phân tử đích. Theo một số phương án, đơn vị phối tử có thể là protein, polypeptit hoặc peptit. Theo một số phương án, đơn vị phối tử có thể là polypeptit mạch vòng. Các đơn vị phối tử này có thể bao gồm kháng thể hoặc mảnh của kháng thể mà chứa ít nhất nếu một vị trí liên kết phân tử đích, lymphokin, hormon, yếu tố sinh trưởng, hoặc phân tử hoặc chất liên kết tế bào khác bất kỳ có thể liên kết đặc hiệu với đích.

Thuật ngữ “liên kết đặc hiệu” và “gắn kết đặc hiệu” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ sự liên kết của kháng thể hoặc protein, polypeptit hoặc peptit khác với phân tử đích trước (ví dụ, kháng nguyên). Thông thường, kháng thể hoặc phân tử khác liên kết với ái lực bằng ít nhất nếu khoảng $1 \times 10^7 M^{-1}$, và liên kết với phân tử đích trước với ái lực mà lớn hơn ít nhất nếu hai lần so với ái lực của nó để liên kết với phân tử không đặc hiệu (ví dụ, BSA, casein) không phải là phân tử đích trước hoặc phân tử có quan hệ gần gũi.

Ví dụ về đơn vị phối tử bao gồm các dược chất được mô tả để sử dụng trong WO 2007/085930, được kết hợp trong bản mô tả này.

Theo một số phương án, đơn vị phối tử là chất liên kết tế bào mà liên kết với đích ngoại bào trên tế bào. Chất liên kết tế bào này có thể là protein, polypeptit, peptit hoặc được chất không phải là peptit. Theo một số phương án, Chất liên kết tế bào có thể là protein, polypeptit hoặc peptit. Theo một số phương án, Chất liên kết tế bào có thể là polypeptit mạch vòng. Chất liên kết tế bào cũng có thể là kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể. Do đó, theo một phương án, sáng chế đề cập đến thể tiếp hợp được chất kháng thể (antibody-drug conjugate - ADC).

Chất liên kết tế bào

Chất liên kết tế bào có thể thuộc loại bất kỳ, và bao gồm peptit và không phải là peptit. Chúng có thể bao gồm kháng thể hoặc mảnh của kháng thể mà chứa ít nhất nếu một vị trí liên kết, lymphokin, hormon, chất bất chước hormon, vitamin, yếu tố sinh trưởng, phân tử vận chuyển chất dinh dưỡng, hoặc phân tử hoặc chất liên kết tế bào khác bất kỳ.

Peptit

Theo một phương án, chất liên kết tế bào là peptit mạch thẳng hoặc mạch vòng chứa 4-30, tốt hơn là 6-20, gốc axit amin liên kề.

Theo một phương án chất liên kết tế bào chứa peptit mà liên kết integrin $\alpha_v\beta_6$. Peptit có thể chọn lọc đối với $\alpha_v\beta_6$ hơn là XY5.

Theo một phương án, chất liên kết tế bào chứa polypeptit A20FMDV-Cys. A20FMDV-Cys có trình tự: NAVPNLRGDLQVLAQKVARTC. Theo cách khác, biến thể của trình tự A20FMDV-Cys có thể được sử dụng trong đó một, hai, ba, bốn, năm, sáu, bảy, tám, chín hoặc mười gốc axit amin được thế bằng gốc axit amin khác. Hơn nữa, polypeptit có thể có trình tự NAVXXXXXXXXXXXXXXXXXRTC.

Kháng thể

Thuật ngữ “kháng thể” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ kháng thể đơn dòng, kháng thể đa dòng, dime, multime, kháng thể đa đặc hiệu (ví dụ, kháng thể đặc hiệu kép), kháng thể đa hóa trị và mảnh kháng thể, miễn là chúng thể hiện hoạt tính sinh học mong muốn (Miller *et al* (2003) *Jour. of Immunology* 170:4854-4861). Kháng thể có thể là kháng thể chuột nhắt, người, nhân tạo, khảm, hoặc có nguồn gốc từ loài khác. Kháng thể là protein được tạo ra bởi hệ miễn dịch có khả năng nhận diện và liên kết với kháng

nguyên đặc hiệu. (Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immunology, 5th Ed.*, Garland Publishing, New York). Kháng nguyên đích thường có nhiều vị trí liên kết, còn gọi là epitop, được nhận diện bởi CDR trên nhiều kháng thể. Mỗi kháng thể liên kết đặc hiệu với epitop khác có cấu trúc khác. Do đó, một kháng nguyên có thể có nhiều hơn một kháng thể tương ứng. Kháng thể bao gồm phân tử globulin miễn dịch chiều dài đầy đủ hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của phân tử globulin miễn dịch chiều dài đầy đủ, *tức là*, phân tử mà chứa kháng nguyên vị trí liên kết liên kết đặc hiệu miễn dịch kháng nguyên của đích được quan tâm hoặc một phần của chúng, các đích này bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, tế bào hoặc các tế bào ung thư mà sản xuất ra kháng thể tự miễn liên quan đến bệnh tự miễn. Globulin miễn dịch có thể thuộc typ (ví dụ IgG, IgE, IgM, IgD, và IgA), lớp (ví dụ IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 và IgA2) hoặc phân lớp bất kỳ của phân tử globulin miễn dịch. Globulin miễn dịch có thể có nguồn gốc từ loài bất kỳ, bao gồm nguồn gốc từ người, chuột nhắt, hoặc thỏ.

“Mảnh kháng thể” chứa một phần của kháng thể chiều dài đầy đủ, thường là vùng liên kết kháng nguyên hoặc biến đổi của chúng. Ví dụ về mảnh kháng thể bao gồm các mảnh Fab, Fab', F(ab')₂, và scFv; diabody; kháng thể mạch thẳng; các mảnh được sản xuất bằng thư viện biểu hiện Fab, kháng thể kháng idiotyp (kháng Id), CDR (vùng xác định tính bổ sung), và các mảnh gắn kết epitop của dạng bất kỳ trong số các dạng nêu trên liên kết đặc hiệu miễn dịch với kháng nguyên tế bào ung thư, kháng nguyên virus hoặc kháng nguyên vi sinh vật, phân tử kháng thể đơn chuỗi; và kháng thể đa đặc hiệu được tạo thành từ mảnh kháng thể.

Thuật ngữ “kháng thể đơn dòng” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ kháng thể thu được từ quần thể kháng thể về cơ bản đồng nhất, tức là các kháng thể riêng lẻ chứa trong quần thể giống nhau ngoại trừ các đột biến có thể có thể có mặt với lượng nhỏ. Kháng thể đơn dòng có tính đặc hiệu cao, được định hướng chống lại vị trí có tính kháng nguyên đơn lẻ. Hơn nữa, trái ngược với chế phẩm kháng thể đa dòng bao gồm các kháng thể khác nhau được định hướng chống lại các thể quyết định (epitop) khác nhau, mỗi kháng thể đơn dòng được định hướng chống lại thể quyết định đơn lẻ trên kháng nguyên. Ngoài tính đặc hiệu của chúng, kháng thể đơn dòng có lợi ở chỗ chúng có thể được tổng hợp không bị tạp nhiễm bởi kháng thể khác. Từ bỏ nghĩa “đơn dòng” chỉ ra đặc điểm của kháng thể là thu được từ quần thể về cơ bản đồng nhất của kháng thể, và không được hiểu là đòi hỏi sự sản xuất kháng thể bằng phương pháp cụ thể bất kỳ. Ví dụ, kháng thể

đơn dòng để sử dụng trong theo sáng chế có thể được tạo ra bằng phương pháp lai tế bào được mô tả lần đầu bởi Kohler *et al* (1975) *Nature* 256:495, hoặc có thể được tạo ra bằng phương pháp ADN tái tổ hợp (xem, US 4816567). Kháng thể đơn dòng cũng có thể được phân lập từ thư viện kháng thể phage bằng cách sử dụng các kỹ thuật được mô tả trong Clackson *et al* (1991) *Nature*, 352:624-628; Marks *et al* (1991) *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 hoặc từ chuột nhắt chuyển gen mang hệ thống globulin miễn dịch ở người đầy đủ (Lonberg (2008) *Curr. Opinion* 20(4):450-459).

Kháng thể đơn dòng trong bản mô tả này bao gồm cụ thể là kháng thể khảm, kháng thể nhân tạo và kháng thể người.

Ví dụ về chất liên kết tế bào bao gồm các được chất được mô tả để sử dụng trong WO 2007/085930, được kết hợp trong bản mô tả này.

Kháng nguyên kết hợp khối u và kháng thể cùng nguồn để sử dụng trong phương án của sáng chế được liệt kê dưới đây, và được mô tả chi tiết hơn ở các trang từ 14 đến 86 của WO 2017/186894, được kết hợp trong bản mô tả này.

- (1) BMPR1B (thụ thể protein tạo hình xương-typ IB)
- (2) E16 (LAT1, SLC7A5)
- (3) STEAP1 (sáu kháng nguyên biểu mô xuyên màng của tuyến tiền liệt)
- (4) 0772P (CA125, MUC16)
- (5) MPF (MPF, MSLN, SMR, yếu tố tăng tiềm lực mẫu tiểu cầu, mesothelin)
- (6) Napi3b (NAPI-3B, NPTIIB, SLC34A2, họ chất mang chất tan 34 (natri photphat),
thành viên 2, chất vận chuyển photphat phụ thuộc natri typ II 3b)
- (7) Sema 5b (FLJ10372, KIAA1445, Mm.42015, SEMA5B, SEMAG, Semaphorin 5b Hlog,
miền sema, bẫy đoạn lặp thrombospondin (typ 1 và tương tự typ 1), miền xuyên màng
(TM) và miền tương bào ngắn, (semaphorin) 5B)
- (8) PSCA hlg (2700050C12Rik, C530008O16Rik, cADN RIKEN 2700050C12,

cADN RIKEN

gen 2700050C12)

(9) ETBR (thụ thể Endothelin typ B)

(10) MSG783 (RNF124, protein giả định FLJ20315)

(11) STEAP2 (HGNC_8639, IPCA-1, PCANAP1, STAMP1, STEAP2, STMP, gen kết hợp ung thư tuyến tiền liệt

1, protein kết hợp ung thư tuyến tiền liệt 1, sáu kháng nguyên biểu mô xuyên màng

của tuyến tiền liệt 2, sáu protein tuyến tiền liệt xuyên màng)

(12) TrpM4 (BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, kênh cation tiềm năng thụ thể tạm thời

5, họ phụ M, thành viên 4)

(13) CRIPTO (CR, CR1, CRGF, CRIPTO, TDGF1, yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc từ u quái ác tính)

(14) CD21 (CR2 (Thụ thể bổ thể 2) hoặc C3DR (C3d/Thụ thể virus Epstein Barr) hoặc

Hs.73792)

(15) CD79b (CD79B, CD79 β , Ig β (beta kết hợp globulin miễn dịch), B29)

(16) FcRH2 (IFGP4, IRTA4, SPAP1A (miền SH2 chứa protein neo phosphatase 1a), SPAP1B, SPAP1C)

(17) HER2 (ErbB2)

(18) NCA (CEACAM6)

(19) MDP (DPEP1)

(20) IL20R-alpha (IL20Ra, ZCYTOR7)

(21) Brevican (BCAN, BEHAB)

(22) EphB2R (DRT, ERK, Hek5, EPHT3, Tyro5)

(23) ASLG659 (B7h)

(24) PSCA (Tiền chất kháng nguyên tế bào gốc tuyến tiền liệt)

(25) GEDA

(26) BAFF-R (thụ thể yếu tố hoạt hóa tế bào B, thụ thể BLyS 3, BR3)

(27) CD22 (đồng phân CD22-B thụ thể tế bào B, BL-CAM, Lyb-8, Lyb8, SIGLEC-2, FLJ22814)

(27a) CD22 (phân tử CD22)

(28) CD79a (CD79A, CD79alpha), alpha kết hợp globulin miễn dịch, protein đặc hiệu tế bào B mà tương tác cộng hóa trị với Ig beta (CD79B) và tạo thành phức hợp trên bề mặt với phân tử Ig M, truyền tín hiệu tham gia vào sự biệt hóa tế bào B), pI: 4,84, MW: 25028 TM: 2 [P] Gen Nhiễm Sắc Thể: 19q13.2).

(29) CXCR5 (thụ thể u lympho Burkitt 1, thụ thể ghép cặp protein G được hoạt hóa

bằng chemokin CXCL13, hoạt động chức năng trong sự di chuyển tế bào lympho và sự bảo vệ thể dịch, đóng vai trò trong sự lây nhiễm HIV-2 và có thể là sự phát triển của AIDS, u lympho, u tủy, và bệnh bạch cầu); 372 aa, pI: 8,54 MW: 41959 TM: 7 [P] Nhiễm Sắc Thể Gen: 11q23.3,

(30) HLA-DOB (Tiểu đơn vị beta của phân tử MHC lớp II (kháng nguyên Ia) mà liên kết peptit và

trình diện chúng với tế bào lympho T CD4+); 273 aa, pI: 6,56, MW: 30820.TM: 1 [P] Gen

Nhiễm Sắc Thể: 6p21.3)

(31) P2X5 (Kênh ion qua cổng phối tử thụ thể purinergic P2X 5, kênh ion được cho qua cổng bởi ATP ngoại bào, có thể tham gia vào sự dẫn truyền synap và sự phát sinh thần kinh, sự thiếu hụt

có thể góp phần vào sinh lý bệnh học của sự mất ổn định tổng xuất tự phát); 422 aa), pI: 7,63,

MW: 47206 TM: 1 [P] Nhiễm Sắc Thể Gen: 17p13.3).

(32) CD72 (sự biệt hóa tế bào B kháng nguyên CD72, Lyb-2); 359 aa, pI: 8,66,

MW: 40225, TM: 1

5 [P] Gen Nhiễm Sắc Thể: 9p13.3).

(33) LY64 (Kháng nguyên tế bào lympho 64 (RP105), protein màng typ I của họ đoạn lặp giàu loxin

(LRR), điều hòa sự hoạt hóa tế bào B và sự chết theo chương trình, sự mất chức năng có liên quan

đến hoạt tính bệnh tăng lên ở đối tượng bị bệnh mắc luput ban đỏ hệ thống); 661 aa, pI:

6,20, MW: 74147 TM: 1 [P] Gen Nhiễm Sắc Thể: 5q12).

(34) FcRH1 (protein giống thụ thể Fc 1, thụ thể giả định đối với miền Fc globulin miễn dịch

mà chứa các miền giống Ig và ITAM typ C2, có thể có vai trò trong sự biệt hóa tế bào lympho B);

429 aa, pI: 5,28, MW: 46925 TM: 1 [P] Gen Nhiễm Sắc Thể: 1q21-1q22)

(35) IRTA2 (sự chuyển vị thụ thể siêu họ globulin miễn dịch kết hợp 2, thụ thể miễn dịch giả định với vai trò có thể có tổng sự phát triển tế bào B và sự tạo u lympho;

sự mất điều hòa của gen bởi sự chuyển vị xảy ra ở một số bệnh ác tính tế bào B); 977 aa, pI:

6,88, MW: 106468, TM: 1 [P] Gen Nhiễm Sắc Thể: 1q21)

(36) TENB2 (TMEFF2, tomoregulin, TPEF, HPP1, TR, proteoglycan xuyên màng giả định, liên quan đến họ EGF/heregulin của yếu tố sinh trưởng và follistatin); 374 aa)

(37) PSMA - FOLH1 (Folat hydrolaza (kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt) 1)

(38) SST (Thụ thể somatostatin; lưu ý rằng chúng có 5 kiểu phụ)

(38.1) SSTR2 (Thụ thể somatostatin 2)

- (38.2) SSTR5 (Thụ thể somatostatin 5)
- (38.3) SSTR1
- (38.4) SSTR3
- (38.5) SSTR4
- AvB6 - Cả hai tiểu đơn vị (39+40)
- (39) ITGAV (Integrin, alpha V)
- (40) ITGB6 (Integrin, beta 6)
- (41) CEACAM5 (phân tử dính tế bào liên quan đến kháng nguyên ung thư phôi 5)
- (42) MET (tiền gen gây ung thư met; thụ thể yếu tố sinh trưởng tế bào gan)
- (43) MUC1 (Mucin 1, kết hợp bề mặt tế bào)
- (44) CA9 (Carbonic anhydrase IX)
- (45) EGFRvIII (Thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì (EGFR), biến thể phiên mã 3,
- (46) CD33 (Phân tử CD33)
- (47) CD19 (Phân tử CD19)
- (48) IL2RA (Thụ thể interleukin 2, alpha); Trình tự tham chiếu NCBI: NM_000417.2);
- (49) AXL (Tyrosin kinaza thụ thể AXL)
- (50) CD30 - TNFRSF8 (Siêu họ thụ thể yếu tố hoại tử khối u, thành viên 8)
- (51) BCMA (Kháng nguyên đột biến tế bào B) - TNFRSF17 (Siêu họ thụ thể yếu tố hoại tử khối u, thành viên 17)
- (52) CT Ags - CTA (Kháng Nguyên Tinh Hoàn Ung Thư)
- (53) CD174 (Lewis Y) - FUT3 (fucosyltransferase 3 (galactosyl 3(4)-L-fucosyltransferase, nhóm máu Lewis)
- (54) CLEC14A (họ miền lectin typ C 14, thành viên A; Mã số truy cập Genbank NM175060)
- (55) GRP78 - HSPA5 (protein 70kDa sốc nhiệt 5 (protein điều hòa glucoza, 78kDa)

(56) CD70 (Phân tử CD70) L08096

(57) Kháng nguyên đặc hiệu tế bào gốc. Ví dụ:

- 5T4 (xem mục (63) dưới đây)

- CD25 (xem mục (48) ở trên)

- CD32

- LGR5/GPR49

- Prominin/CD133

(58) ASG-5

(59) ENPP3 (Ectonucleotit pyrophosphataza/phosphodiesteraza 3)

(60) PRR4 (Giàu prolin 4 (lacrimal))

(61) GCC - GUCY2C (guanylat xyclaza 2C (thụ thể độc tố ruột ổn định nhiệt)

(62) Liv-1 - SLC39A6 (họ chất mang chất tan 39 (chất vận chuyển kẽm), thành viên 6)

(63) 5T4, Glycoprotein lá nuôi phôi, TPBG - TPBG (glycoprotein lá nuôi phôi)

(64) CD56 - NCMA1 (Phân tử dính tế bào thần kinh 1)

(65) CanAg (Kháng nguyên kết hợp khối u CA242)

(66) FOLR1 (Thụ thể folat 1)

(67) GPNMB (Glycoprotein (xuyên màng) nmb)

(68) TIM-1 - HAVCR1 (Thụ thể tế bào virus viêm gan A 1)

(69) RG-1/Mindin đích khối u tuyến tiền liệt - Mindin/RG-1

(70) B7-H4 - VTCN1 (miền V-set chứa chất ức chế hoạt hóa tế bào T 1

(71) PTK7 (Protein PTK7 tyrosin kinaza 7)

(72) CD37 (Phân tử CD37)

(73) CD138 - SDC1 (syndecan 1)

(74) CD74 (Phân tử CD74, phức hợp tương thích mô chủ yếu, chuỗi không biến đổi lớp II)

(75) Claudin - CL (Claudin)

(76) EGFR (Thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì)

(77) Her3 (ErbB3) - ERBB3 (chất đồng đẳng gen gây ung thư virus gây bệnh bạch cầu nguyên hồng cầu v-erb-b2 3 (ở chim))

(78) RON - MST1R (thụ thể kích thích đại thực bào 1 (tyrosin kinaza liên quan đến c-met))

(79) EPHA2 (thụ thể EPH A2)

(80) CD20 - MS4A1 (4 miền mở rộng qua màng, họ phụ A, thành viên 1)

(81) Tenascin C - TNC (Tenascin C)

(82) FAP (Protein hoạt hóa nguyên bào sợi, alpha)

(83) DKK-1 (Chất đồng đẳng Dickkopf 1 (Xenopus laevis))

(84) CD52 (Phân tử CD52)

(85) CS1 - SLAMF7 (họ SLAM thành viên 7)

(86) Endoglin - ENG (Endoglin)

(87) Annexin A1 - ANXA1 (Annexin A1)

(88) V-CAM (CD106) - VCAM1 (Phân tử dính tế bào mạch máu 1)

Kháng nguyên kết hợp khối u khác và kháng thể cùng nguồn được quan tâm là:

(89) ASCT2 (chất vận chuyển ASC 2, còn được biết đến dưới dạng SLC1A5).

Kháng thể ASCT2 được mô tả trong WO 2018/089393, được kết hợp trong bản mô tả này để tham khảo

Chất liên kết tế bào có thể được gắn nhãn, ví dụ để hỗ trợ sự phát hiện hoặc sự tinh chế của dược chất trước khi kết hợp dưới dạng thể tiếp hợp, hoặc dưới dạng một phần của thể tiếp hợp. Nhãn có thể là nhãn biotin. Theo phương án khác, chất liên kết tế bào có thể được gắn nhãn bằng đồng vị phóng xạ.

Phương pháp điều trị

Thể tiếp hợp theo sáng chế có thể được sử dụng trong phương pháp trị liệu. Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp điều trị, bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử

dụng lượng hữu hiệu để điều trị của thể tiếp hợp có công thức IV. Thuật ngữ “lượng hữu hiệu để điều trị” là lượng đủ để mang lại lợi ích cho đối tượng bị bệnh. Sự có lợi này có thể ít nhất nếu sự cải thiện của ít nhất nếu một triệu chứng. Lượng thực sự được sử dụng, và tỷ lệ và thời gian sử dụng, sẽ phụ thuộc vào bản chất và mức độ nghiêm trọng của bệnh cần được điều trị. Việc kê đơn điều trị, ví dụ quyết định về liều lượng, thuộc về trách nhiệm của bác sĩ đa khoa và các bác sĩ điều trị khác.

Thể tiếp hợp có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp với các biện pháp điều trị khác, đồng thời hoặc tuần tự tùy thuộc vào tình trạng bệnh cần điều trị. Ví dụ về việc điều trị và trị liệu bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, hóa trị liệu (việc sử dụng các dược chất hoạt tính, bao gồm, ví dụ thuốc); phẫu thuật; và xạ trị.

Dược phẩm theo sáng chế, và để sử dụng theo sáng chế, có thể chứa, ngoài thành phần hoạt tính, tức là thể tiếp hợp có công thức IV, tá dược, chất mang, chất đệm, chất làm ổn định hoặc nguyên liệu khác được dụng đã được biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Các nguyên liệu này phải không độc và không gây trở ngại cho hiệu quả của thành phần hoạt tính. Bản chất chính xác của chất mang hoặc nguyên liệu khác phụ thuộc vào đường sử dụng, có thể là qua đường miệng, hoặc bằng cách tiêm, ví dụ qua da, dưới da, hoặc trong tĩnh mạch.

Dược phẩm để sử dụng qua đường miệng có thể ở dạng viên nén, viên nang, bột hoặc dịch lỏng. Viên nén có thể chứa chất mang rắn hoặc chất bổ trợ. Dược phẩm dạng lỏng thường chứa chất mang lỏng như nước, dầu mỡ, dầu động vật hoặc thực vật, dầu khoáng hoặc dầu tổng hợp. Dung dịch nước muối sinh lý, dung dịch dextroza hoặc sacarit khác hoặc glycol như etylen glycol, propylen glycol hoặc polyetylen glycol có thể được bao gồm. Viên nang có thể chứa chất mang rắn như gelatin.

Để tiêm trong tĩnh mạch, qua da hoặc dưới da, hoặc tiêm tại vị trí đau, thành phần hoạt tính ở dạng dung dịch trong nước chấp nhận được để sử dụng ngoài đường tiêu hóa mà không chứa chất gây sốt và có độ pH, độ đẳng trương và độ ổn định thích hợp. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực có thể điều chế các dung dịch thích hợp bằng cách, ví dụ, chất dẫn thuốc đẳng trương như Dung Dịch Tiêm Natri Clorua, Dung Dịch Tiêm Ringer, Dung Dịch Tiêm Ringer Lactat. Chất bảo quản, chất ổn định, chất đệm, chất chống oxy hóa và/hoặc các chất phụ gia khác có thể được bao gồm, khi cần thiết.

Thể tiếp hợp có thể được sử dụng để điều trị bệnh tăng sinh và bệnh tự miễn.

Thuật ngữ “bệnh tăng sinh” đề cập đến sự tăng sinh tế bào không mong muốn hoặc mất kiểm soát của tế bào dư hoặc bất thường mà không được mong muốn, như, sự phát triển khối u hoặc tăng sản, dù là *in vitro* hay *in vivo*.

Ví dụ về tình trạng bệnh tăng sinh bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, sự tăng sinh tế bào lành tính, tiền ác tính, và ác tính, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, u và khối u (ví dụ, u mô bào, u thần kinh đệm, u bào hình sao, u xương), bệnh ung thư (ví dụ ung thư phổi, ung thư phổi tế bào nhỏ, ung thư dạ dày-ruột, ung thư ruột, ung thư đại tràng, ung thư biểu mô vú, ung thư biểu mô buồng trứng, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tinh hoàn, ung thư gan, ung thư thận, ung thư bàng quang, ung thư tụy, ung thư não, sarcôm, sarcôm xương, sarcôm Kaposi, u melanin), bệnh bạch cầu, bệnh vẩy nến, bệnh xương, rối loạn tăng sinh xơ (ví dụ của mô liên kết), và xơ vữa động mạch. Các bệnh ung thư khác được quan tâm bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh máu ác tính như bệnh bạch cầu và u lympho, như u lympho không Hodgkin, và kiểu phụ như DLBCL, vùng rìa, vùng vỏ, và nang, u lympho Hodgkin, AML, và các bệnh ung thư khác có nguồn gốc tế bào B hoặc tế bào T. Loại tế bào bất kỳ có thể được điều trị, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, phổi, dạ dày-ruột (bao gồm, ví dụ ruột, đại tràng), vú (tuyến vú), buồng trứng, tuyến tiền liệt, gan (thuộc gan), thận (thuộc thận), bàng quang, tụy, não, và da.

Ví dụ về bệnh tự miễn bao gồm các bệnh sau đây: viêm khớp dạng thấp, bệnh mất myelin tự miễn (ví dụ, đa xơ cứng, bệnh viêm não và dây cột sống dị ứng), viêm khớp vẩy nến, bệnh mắt do nội tiết, viêm màng giữa và đáy mắt, luput ban đỏ hệ thống, chứng nhược cơ năng, bệnh Graves, viêm cầu thận, rối loạn gan tự miễn, bệnh viêm ruột (ví dụ, bệnh Crohn), chứng phản vệ, phản ứng dị ứng, hội chứng Sjögren, bệnh tiểu đường typ I, xơ gan mật nguyên phát, u hạt Wegener, chứng đau xơ cơ, viêm đa cơ, viêm bì cơ, suy đa tuyến nội tiết, hội chứng Schmidt, viêm màng mạch nho tự miễn, bệnh Addison, viêm tuyến thượng thận, viêm tuyến giáp, viêm tuyến giáp Hashimoto, bệnh tuyến giáp tự miễn, thiếu máu ác tính, teo dạ dày, viêm gan mãn tính, viêm gan dạng luput, xơ vữa động mạch, luput ban đỏ da bán cấp, sự giảm năng tuyến cận giáp, hội chứng Dressler, chứng giảm tiểu cầu tự miễn, bệnh xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát, thiếu máu tán huyết, bệnh pemphigut thông thường, bệnh pemphigut, viêm da dạng herpes, chứng rụng tóc từng vùng, dạng pemphigut, xơ cứng bì, xơ cứng bì hệ thống tiến triển, hội chứng CREST (nốt canxi hóa, hiện tượng Raynaud, rối loạn vận động thực quản, chai cứng đầu

ngón, và chứng giãn mao mạch), vô sinh tự miễn ở nam giới và nữ giới, viêm cột sống dính khớp, viêm loét đại tràng, bệnh mô liên kết hỗn hợp, viêm nút quanh động mạch, viêm mạch hoại tử hệ thống, viêm da cơ địa, viêm mũi dị ứng, hội chứng Goodpasture, bệnh Chagas, bệnh sarcoit, sốt thấp khớp, bệnh hen, sảy thai liên tiếp, hội chứng kháng phospholipit, bệnh phổi nhà nông, hồng ban đa dạng, hội chứng hậu phẫu tim, hội chứng Cushing, viêm gan hoạt tính mãn tính tự miễn, bệnh phổi ở người nuôi chim, hoại tử thượng bì nhiễm độc, hội chứng Alport, chứng viêm túi phổi, chứng viêm túi phổi dị ứng, chứng viêm túi phổi xơ hóa, bệnh phổi kẽ, hồng ban nút, viêm da mủ hoại thư, phản ứng truyền, viêm động mạch Takayasu, đau cơ dạng thấp, viêm động mạch thái dương, bệnh sán máng, viêm động mạch tế bào khổng lồ, bệnh giun đũa, sự nhiễm nấm aspergillus, hội chứng Sampter, bệnh eczema, u hạt dạng lympho, bệnh Behcet, hội chứng Caplan, bệnh Kawasaki, sốt xuất huyết, viêm não tủy, viêm màng trong tim, xơ hóa màng trong tim, viêm nội nhãn, hồng ban nổi cao dai dẳng, bệnh vẩy nến, thiếu máu tán huyết ở trẻ sơ sinh, viêm cân mạc bạch cầu ái toan, hội chứng Shulman, hội chứng Felty, bệnh giun chỉ, viêm thể mi, viêm thể mi mãn tính, viêm thể mi khác thời trị, viêm thể mi Fuch, bệnh thận IgA, bệnh xuất huyết Henoch-Schonlein, bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ, bệnh thải bỏ mảnh ghép, bệnh cơ tim, hội chứng Eaton-Lambert, viêm đa sụn tái diễn, bệnh cryoglobulin huyết, bệnh tăng globulin đại phân tử Waldenstrom, hội chứng Evan, và suy tuyến sinh dục tự miễn.

Theo một số phương án, bệnh tự miễn là rối loạn của tế bào lympho B (ví dụ, luput ban đỏ hệ thống, hội chứng Goodpasture, viêm khớp dạng thấp, và bệnh tiểu đường typ I), tế bào lympho Th1 (ví dụ, viêm khớp dạng thấp, đa xơ cứng, bệnh vẩy nến, hội chứng Sjögren, viêm tuyến giáp Hashimoto, bệnh Graves, xơ gan mật nguyên phát, u hạt Wegener, bệnh lao, hoặc bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ), hoặc tế bào lympho Th2 (ví dụ, viêm da cơ địa, luput ban đỏ hệ thống, bệnh hen cơ địa, viêm giác mạc dị ứng, viêm mũi dị ứng, hội chứng Omenn, xơ cứng hệ thống, hoặc bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ mãn tính). Thông thường, rối loạn gồm tế bào phân nhánh gồm rối loạn của tế bào lympho Th1 hoặc tế bào lympho Th2. Theo một số phương án, rối loạn tự miễn là rối loạn miễn dịch qua trung gian tế bào T.

“Dược chất hóa trị liệu” là hợp chất hóa học hữu dụng trong điều trị ung thư, bất kể cơ chế tác động như thế nào. Các lớp của dược chất hóa trị liệu bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: dược chất alkyl hóa, chất chống chuyển hóa, alkaloit thực vật gây độc

thoi, kháng sinh gây độc tế bào/kháng khối u, chất ức chế topoisomeraza, kháng thể, chất nhạy cảm ánh sáng, và chất ức chế kinaza. Dược chất hóa trị liệu bao gồm hợp chất được sử dụng trong “điều trị hướng đích” và hóa trị liệu thông thường.

Ví dụ về dược chất hóa trị liệu bao gồm: erlotinib (TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.), docetaxel (TAXOTERE®, Sanofi-Aventis), 5-FU (flouraxin, 5-flouraxin, CAS No. 51-21-8), gemxitabin (GEMZAR®, Lilly), PD-0325901 (CAS No. 391210-10-9, Pfizer), cisplatin (cis-diamin, dicloplatin(II), CAS No. 15663-27-1), carboplatin (CAS No. 41575-94-4), paclitaxel (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), trastuzumab (HERCEPTIN®, Genentech), temozolomit (4-metyl-5-oxo- 2,3,4,6,8-pentazabixyclo [4.3.0] nona-2,7,9-triene- 9-carboxamit, CAS No. 85622-93-1, TEMODAR®, TEMODAL®, Schering Plough), tamoxifen ((Z)-2-[4-(1,2-diphenylbut-1-enyl)phenoxy]-N,N-dimetyletanamin, NOLVADEX®, ISTUBAL®, VALODEX®), và doxorubicin (ADRIAMYCIN®), Akti-1/2, HPPD, và rapamycin.

Ví dụ khác về dược chất hóa trị liệu bao gồm: oxaliplatin (ELOXATIN®, Sanofi), bortezomib (VELCADE®, Millennium Pharm.), sutent (SUNITINIB®, SU11248, Pfizer), letrozol (FEMARA®, Novartis), imatinib mesylat (GLEEVEEC®, Novartis), XL-518 (chất ức chế Mek, Exelixis, WO 2007/044515), ARRY-886 (chất ức chế Mek, AZD6244, Array BioPharma, Astra Zeneca), SF-1126 (chất ức chế PI3K, Semafore Pharmaceuticals), BEZ-235 (chất ức chế PI3K, Novartis), XL-147 (chất ức chế PI3K, Exelixis), PTK787/ZK 222584 (Novartis), fulvestrant (FASLODEX®, AstraZeneca), leucovorin (axit folinic), rapamycin (sirolimus, RAPAMUNE®, Wyeth), lapatinib (TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline), lonafarnib (SARASAR™, SCH 66336, Schering Plough), sorafenib (NEXAVAR®, BAY43-9006, Bayer Labs), gefitinib (IRESSA®, AstraZeneca), irinotecan (CAMPTOSAR®, CPT-11, Pfizer), tipifarnib (ZARNESTRA™, Johnson & Johnson), ABRAXANE™ (không chứa Cremophor), chế phẩm hạt nano được thiết kế albumin của paclitaxel (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Il), vandetanib (rINN, ZD6474, ZACTIMA®, AstraZeneca), chloranmbucil, AG1478, AG1571 (SU 5271; Sugen), temsirolimus (TORISEL®, Wyeth), pazopanib (GlaxoSmithKline), canfosfamit (TELCYTA®, Telik), thiotepa và xyclophosphamit (CYTOXAN®, NEOSAR®); alkyl sulfonat như busulfan, improsulfan và piposulfan; aziridin như benzodopa, carboquon, meturedopa, và uredopa; etylenimin và metylamelamin bao gồm altretamin, trietylenmelamin, trietylenphosphoramit,

triethylthiophosphoramit và trimetylomelamin; axetogenin (đặc biệt là bullatacin và bullatacinon); camptothecin (bao gồm chất tương tự topotecan tổng hợp); bryostatin; callystatin; CC-1065 (bao gồm các chất tương tự tổng hợp adozelesin, carzelesin và bizelesin của nó); cryptophycin (cụ thể là cryptophycin 1 và cryptophycin 8); dolastatin; duocarmycin (bao gồm các chất tương tự tổng hợp, KW-2189 và CB1-TM1); eleutherobin; pancratiastatin; sarcodictyin; spongistatin; mù tạt nitơ như chlorambucil, chlornaphazin, clophosphamit, estramustin, ifosfamid, mechlorethamin, mechlorethamin oxit hydroclorua, melphalan, novembichin, phenesterin, prednimustin, trofosfamid, mù tạt uraxin; nitrosoure như carmustin, clozotocin, fotemustin, lomustin, nimustin, và ranimnustin; kháng sinh như kháng sinh enediyn (ví dụ calicheamicin, calicheamicin gammaII, calicheamicin omegaII (*Angew Chem. Intl. Ed. Engl.* (1994) 33:183-186); dynemicin, dynemicin A; bisphosphonat, như clodronat; esperamicin; cũng như là nhóm mang màu neocarzinostatin và nhóm mang màu kháng sinh chromoprotein enediyn liên quan), aclacinomycin, actinomycin, anthramycin, azaserin, bleomycin, cactinomycin, carabycin, carminomycin, carzinophilin, chromomycinis, dactinomycin, daunorubicin, detorubicin, 6-diazo-5-oxo-L-norloxin, morpholino-doxorubicin, xyanomorpholino-doxorubicin, 2-pyrolino-doxorubicin và deoxydoxorubicin), epirubicin, esorubicin, idarubicin, nemorubicin, marcellomycin, mitomycin như mitomycin C, axit mycophenolic, nogalamycin, olivomycin, peplomycin, porfiromycin, puromycin, quelamycin, rodorubicin, streptonigrin, streptozocin, tubercidin, ubenimex, zinostatin, zorubicin; chất chống chuyển hóa như methotrexat và 5-flouraxin (5-FU); chất tương tự axit folic như denopterin, methotrexat, pteropterin, trimetrexat; chất tương tự purin như fludarabin, 6-mercaptapurin, thiamiprin, thioguanin; chất tương tự pyrimidin như ancitabin, azacitidin, 6-azauridin, carmofur, cytarabin, dideoxyuridin, doxifluridin, enocitabin, floxuridin; androgen như calusteron, dromostanolon propionat, epitiostanol, mepitiostan, testolacton; kháng-thương thận như aminoglutethimit, mitotan, trilostan; chất đệm axit folic như axit frolinic; aceglaton; aldophosphamid glycosit; axit aminolevulinic; eniluraxin; amsacrin; bestabucil; bisantren; edatraxat; defofamin; demecolcin; diaziqun; elfornithin; elliptinium axetat; epothilon; etoglucid; gali nitrat; hydroxyure; lentinan; lonidainin; maytansinoit như maytansin và ansamitocin; mitoguazon; mitoxantron; mopidanmol; nitraerin; pentostatin; phenamet; pirarubicin; losoxantron; axit podophyllinic; 2-etylhydrazit; procarbazin; phức hợp polysacarit PSK®

(JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxan; rhizoxin; sizofiran; spirogermanium; axit tenuazonic; triaziquon; 2,2',2''-trichlotrietylamin; trichothecen (đặc biệt là độc tố T-2, verracurin A, roridin A và anguidin); urethan; vindesin; dacarbazin; mannomustin; mitobronitol; mitolactol; pipobroman; gaxytosin; arabinosit ("Ara-C"); xyclophosphamit; thiotepa; 6-thioguanin; mercaptopurin; methotrexat; chất tương tự platin như cisplatin và carboplatin; vinblastin; etoposit (VP-16); ifosfamit; mitoxantron; vincristin; vinorelbin (NAVELBINE®); novantron; teniposit; edatrexat; daunomycin; aminopterin; capecitabin (XELODA®, Roche); ibandronat; CPT-11; chất ức chế topoisomeraza RFS 2000; diflometylornithin (DMFO); retinoit như axit retinoic; và muối, axit và dẫn xuất được dùng của chất bất kỳ trong số các chất nêu trên.

"Dược chất hóa trị liệu" cũng bao gồm: (i) dược chất kháng hormon mà hoạt động để điều hòa hoặc ức chế tác động hormon trên khối u như kháng-estrogen và chất điều biến thụ thể estrogen chọn lọc (SERM), bao gồm, ví dụ, tamoxifen (bao gồm NOLVADEX®; tamoxifen xitrat), raloxifen, droloxifen, 4-hydroxytamoxifen, trioxifen, keoxifen, LY117018, onapriston, và FARESTON® (toremifin xitrat); (ii) chất ức chế aromataza mà ức chế enzym aromataza, mà điều hòa sự sản xuất estrogen ở tuyến thượng thận, như, ví dụ, 4(5)-imidazol, aminoglutethimit, MEGASE® (megestrol axetat), AROMASIN® (exemestan; Pfizer), formestanie, fadrozol, RIVISOR® (vorozol), FEMARA® (letrozol; Novartis), và ARIMIDEX® (anastrozol; AstraZeneca); (iii) kháng-androgen như flutamit, nilutamit, bicalutamit, leuprolit, và goserelin; cũng như là troxaxitabin (chất tương tự 1,3-dioxolan nucleosit xytosin); (iv) chất ức chế protein kinaza như chất ức chế MEK (WO 2007/044515); (v) chất ức chế lipid kinaza; (vi) oligonucleotit đối nghĩa, cụ thể là các chất mà ức chế sự biểu hiện của gen trong các con đường truyền tín hiệu ẩn dưới sự tăng sinh tế bào bất thường, ví dụ, PKC-alpha, Raf và H-Ras, như oblimersen (GENASENSE®, Genta Inc.); (vii) ribozym như chất ức chế biểu hiện VEGF (ví dụ, ANGIOZYME®) và chất ức chế biểu hiện HER2; (viii) vắc xin như vắc xin liệu pháp gen, ví dụ, ALLOVECTIN®, LEUVECTIN®, và VAXID®; PROLEUKIN® rIL-2; chất ức chế topoisomeraza 1 như LURTOTECAN®; ABARELIX® rmRH; (ix) chất chống tạo mạch như bevacizumab (AVASTIN®, Genentech); và muối, axit và dẫn xuất được dùng của chất bất kỳ trong số các chất nêu trên.

Cũng được bao gồm trong định nghĩa về "dược chất hóa trị liệu" kháng thể trị liệu

nhu alemtuzumab (Campath), bevacizumab (AVASTIN®, Genentech); cetuximab (ERBITUX®, Imclone); panitumumab (VECTIBIX®, Amgen), rituximab (RITUXAN®, Genentech/Biogen Idec), pertuzumab (OMNITARG™, 2C4, Genentech), trastuzumab (HERCEPTIN®, Genentech), tositumomab (Bexxar, Corixa), và thể tiếp hợp được chất kháng thể, gemtuzumab ozogamicin (MYLOTARG®, Wyeth).

Kháng thể đơn dòng nhân tạo với tiềm năng trị liệu làm được chất hóa trị liệu kết hợp với thể tiếp hợp theo sáng chế bao gồm: alemtuzumab, apolizumab, aselizumab, atlizumab, bapineuzumab, bevacizumab, bivatuzumab mertansin, cantuzumab mertansin, cedelizumab, certolizumab pegol, cidfusituzumab, cidtuzumab, daclizumab, eculizumab, efalizumab, epratuzumab, erlizumab, felvizumab, fontolizumab, gemtuzumab ozogamicin, inotuzumab ozogamicin, ipilimumab, labetuzumab, lintuzumab, matuzumab, mepolizumab, motavizumab, motovizumab, natalizumab, nimotuzumab, nolovizumab, numavizumab, ocrelizumab, omalizumab, palivizumab, pascolizumab, pecfusituzumab, pectuzumab, pertuzumab, pexelizumab, ralivizumab, ranibizumab, reslivizumab, reslizumab, resyvizumab, rovelizumab, ruplizumab, sibrotuzumab, siplizumab, sontuzumab, tacatuzumab tetraxetan, tadocizumab, talizumab, tefibazumab, tocilizumab, toralizumab, trastuzumab, tucotuzumab celmoleukin, tucosituzumab, umavizumab, urtoxazumab, và visilizumab.

Chế phẩm

Mặc dù có thể sử dụng (ví dụ, sử dụng) thể tiếp hợp một mình, thường tốt hơn là thể hiện nó dưới dạng chế phẩm hoặc chế phẩm.

Theo một phương án, chế phẩm là dược phẩm (ví dụ, chế phẩm, chất điều chế, thuốc) chứa thể tiếp hợp, như được mô tả trong bản mô tả này, và chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược được dụng.

Theo một phương án, chế phẩm là dược phẩm chứa ít nhất nếu một thể tiếp hợp, như được mô tả trong bản mô tả này, cùng với một hoặc nhiều thành phần được dụng khác đã được biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất mang, chất pha loãng, tá dược, chất bổ trợ, chất đệm, chất bảo quản, chất chống oxy hóa, chất làm trơn, chất làm ổn định, chất làm tan, chất hoạt động bề mặt (ví dụ, chất làm ẩm), chất che giấu, chất tạo màu, chất tạo hương vị, và chất tạo ngọt được dụng.

Theo một phương án, chế phẩm còn chứa các dược chất hoạt tính khác, ví dụ, các dược chất trị liệu hoặc phòng ngừa khác.

Chất mang, chất pha loãng, tá dược thích hợp, v.v. có thể được tìm thấy trong tài liệu dược tiêu chuẩn. Xem, ví dụ, Handbook of Pharmaceutical Additives, 2nd Edition (eds. M. Ash and I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA), Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th edition, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; và Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd edition, 1994.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp bào chế dược phẩm bao gồm bước phối trộn ít nhất nếu một thể tiếp hợp được gắn nhãn phóng xạ [^{11}C] hoặc hợp chất giống thể tiếp hợp, như định nghĩa trong bản mô tả này, cùng với một hoặc nhiều thành phần dược dụng khác đã được biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, ví dụ, chất mang, chất pha loãng, tá dược, v.v. nếu được tạo chế phẩm dưới dạng các đơn vị rời rạc (ví dụ, viên nén, v.v.), mỗi đơn vị chứa lượng định trước (liều lượng) của hợp chất hoạt tính.

Thuật ngữ “dược dụng” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ hợp chất, thành phần, nguyên liệu, chế phẩm, dạng liều lượng, v.v., mà, trong phạm vi đánh giá y tế hợp lý, thích hợp để sử dụng để tiếp xúc với mô của đối tượng được quan tâm (ví dụ, người) mà không gây độc, kích ứng, đáp ứng dị ứng, hoặc các vấn đề hoặc biến chứng khác quá mức, tương xứng với tỷ lệ lợi ích/nguy cơ hợp lý. Mỗi chất mang, chất pha loãng, tá dược, v.v. cũng phải “chấp nhận được” theo nghĩa là tương thích với các thành phần khác của chế phẩm.

Chế phẩm có thể được điều chế bằng phương pháp bất kỳ đã được biết rõ trong lĩnh vực dược. Phương pháp này bao gồm bước kết hợp hợp chất hoạt tính với chất mang mà cấu thành một hoặc nhiều thành phần phụ trợ. Nhìn chung, chế phẩm được điều chế bằng cách kết hợp đồng đều và kỹ hợp chất hoạt tính với chất mang (ví dụ, chất mang lỏng, chất mang rắn đã phân chia nhỏ, v.v.), và sau đó tạo hình sản phẩm, nếu cần.

Chế phẩm có thể được điều chế để tạo ra sự giải phóng nhanh hoặc chậm; sự giải phóng ngay lập tức, trì hoãn, được định thời gian, hoặc duy trì; hoặc tổ hợp của chúng.

Chế phẩm thích hợp để sử dụng ngoài đường tiêu hóa (ví dụ, bằng cách tiêm), bao gồm dịch lỏng (ví dụ, dung dịch, huyền phù) trong nước hoặc không trong nước, đẳng

trương, không gây sốt, tiết trùng, trong đó thành phần hoạt tính được hòa tan, được tạo huyền phù, hoặc được cung cấp theo cách khác (ví dụ, trong liposom hoặc các vi hạt khác). Dịch lỏng này có thể còn chứa thành phần dược dụng khác, như chất chống oxy hóa, chất đệm, chất bảo quản, chất làm ổn định, chất kìm hãm vi khuẩn, chất tạo huyền phù, chất làm đặc, và chất tan mà làm cho chế phẩm đẳng trương với máu (hoặc dịch cơ thể thích hợp khác) của đối tượng nhận dự kiến. Ví dụ về tá dược bao gồm, ví dụ, nước, rượu, rượu đa chức, glyxerol, dầu thực vật, và tá dược tương tự. Ví dụ về chất mang đẳng trương thích hợp để sử dụng trong chế phẩm này bao gồm dịch tiêm natri clorua, Dung Dịch Ringer, hoặc Dịch Tiêm Lactat Ringer. Thông thường, nồng độ của thành phần hoạt tính trong dịch lỏng nằm trong khoảng từ khoảng 1 ng/ml đến khoảng 10 µg/ml, ví dụ từ khoảng 10 ng/ml đến khoảng 1 µg/ml. Chế phẩm có thể được thể hiện trong vật chứa kín đơn liều hoặc đa liều, ví dụ, ampun và lọ, và có thể được lưu trữ trong điều kiện đông khô (khô lạnh) chỉ đòi hỏi bổ sung chất mang lỏng tiết trùng, ví dụ nước để tiêm, ngay trước khi sử dụng. Dung dịch và huyền phù tiêm ngay lúc sử dụng có thể được điều chế từ bột, hạt, và viên nén tiết trùng.

Liều lượng

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hiểu rõ rằng liều lượng thích hợp của thể tiếp hợp, và chế phẩm chứa thể tiếp hợp, có thể thay đổi từ đối tượng bị bệnh này sang đối tượng bị bệnh khác. Việc xác định liều lượng tối ưu thường là gồm việc làm cân bằng của mức độ có lợi trị liệu chống lại nguy cơ hoặc tác dụng phụ có hại bất kỳ. Mức liều lượng được chọn sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, hoạt tính của hợp chất cụ thể, đường sử dụng, thời gian sử dụng, tốc độ của sự bài tiết của hợp chất, khoảng thời gian điều trị, các thuốc, hợp chất, và/hoặc nguyên liệu khác được sử dụng ở tổ hợp, mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh, và loài, giới tính, tuổi, khối lượng, tình trạng bệnh, sức khỏe chung, và tiền sử y tế trước đây của đối tượng bị bệnh. Lượng của hợp chất và đường sử dụng cuối cùng là tùy theo sự suy xét của bác sĩ, bác sĩ thú y, hoặc thầy thuốc lâm sàng, mặc dù thường là liều lượng sẽ được chọn để đạt được nồng độ cục bộ tại vị trí tác động mà đạt được tác dụng mong muốn mà không gây ra tác dụng phụ có hại hoặc gây độc đáng kể.

Việc sử dụng có thể được thực hiện trong một liều, liên tục hoặc gián đoạn (ví dụ, trong các liều chia nhỏ ở khoảng cách thích hợp) trong suốt khoảng thời gian điều trị.

Phương pháp xác định phương thức và liều lượng hiệu quả nhất của việc sử dụng đã được biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này và thay đổi theo chế phẩm sử dụng để trị liệu, mục đích trị liệu, (các) tế bào đích được điều trị, và đối tượng được điều trị. Lần sử dụng đơn lẻ hoặc nhiều lần sử dụng có thể được thực hiện với mức và mô hình liều lượng được chọn bởi bác sĩ điều trị, bác sĩ thú y, hoặc thầy thuốc lâm sàng.

Nhìn chung, liều lượng thích hợp của hợp chất hoạt tính nằm trong khoảng từ khoảng 100 ng đến khoảng 25 mg (thông thường hơn là từ khoảng 1 μ g đến khoảng 10 mg) trong mỗi kilogam khối lượng cơ thể của đối tượng trong mỗi ngày. Khi hợp chất hoạt tính là muối, este, amit, tiền dược chất, hoặc dạng tương tự, lượng được sử dụng được tính trên cơ sở hợp chất gốc và do vậy khối lượng thực tế để được sử dụng được tăng lên theo tỷ lệ.

Lượng liều lượng được mô tả ở trên có thể áp dụng cho thể tiếp hợp hoặc cho lượng hữu hiệu của hợp chất có thể giải phóng sau khi phân cắt gốc liên kết.

Để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh, liều lượng thích hợp của ADC theo sáng chế phụ thuộc vào loại bệnh cần điều trị, như định nghĩa ở trên, mức độ nghiêm trọng và tiến trình của bệnh, phân tử được sử dụng cho mục đích ngăn ngừa hay trị liệu, trị liệu trước đó, tiền sử lâm sàng của đối tượng bị bệnh và sự đáp ứng với kháng thể, và sự suy xét của bác sĩ tham gia. Phân tử này thích hợp là được sử dụng cho đối tượng bị bệnh vào một lần hoặc trong một loạt điều trị. Tùy thuộc vào loại và mức độ nghiêm trọng của bệnh, từ 1 μ g/kg đến 100 mg/kg hoặc lớn hơn của phân tử là liều lượng ứng viên ban đầu để sử dụng cho đối tượng bị bệnh, dù, ví dụ, bằng một hoặc nhiều lần sử dụng riêng rẽ, hoặc bằng cách truyền liên tục. Để sử dụng lặp lại trong một vài ngày hoặc lâu hơn, tùy thuộc vào điều kiện, việc điều trị được duy trì cho đến khi xảy ra sự kìm hãm mong muốn của triệu chứng bệnh. Các phác đồ liều khác có thể là hữu ích. Sự tiến triển của liệu pháp này dễ dàng được kiểm soát bằng các kỹ thuật và thử nghiệm thông thường.

Tải lượng dược chất

Tải lượng dược chất (p) là số lượng trung bình của dược chất trong mỗi đơn vị phổi tử, có thể là chất liên kết tế bào, ví dụ kháng thể.

Số lượng trung bình của dược chất trong mỗi kháng thể trong chế phẩm điều chế của ADC từ phản ứng tiếp hợp có thể được xác định đặc điểm bằng phương thức thông thường như UV, HPLC pha đảo, HIC, khối phổ, thử nghiệm ELISA, và điện di. Sự phân

bổ định lượng của ADC đối với p cũng có thể được xác định. Bằng ELISA, giá trị trung bình của p trong chế phẩm điều chế cụ thể của ADC có thể được xác định (Hamblett et al (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070; Sanderson et al (2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852). Tuy nhiên, sự phân bố của giá trị p (thuốc) không thấy rõ được bằng sự liên kết kháng thể-kháng nguyên và giới hạn phát hiện của ELISA. Ngoài ra, thử nghiệm ELISA để phát hiện thể tiếp hợp kháng thể-thuốc không xác định được các gốc thuốc được gắn với kháng thể ở đâu, như mảnh chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ, hoặc các gốc axit amin cụ thể. Trong một số trường hợp, sự tách, tinh chế, và sự xác định đặc điểm của ADC đồng nhất trong đó p là giá trị nhất định từ ADC với các tải lượng được chất khác có thể đạt được bằng các phương thức như HPLC pha đảo hoặc điện di. Các kỹ thuật này cũng có thể áp dụng cho các loại khác của thể tiếp hợp.

Đối với một số thể tiếp hợp được chất kháng thể, p có thể bị giới hạn bởi số lượng của vị trí gắn trên kháng thể. Ví dụ, kháng thể có thể chỉ có một hoặc một vài nhóm thiol xystein, hoặc có thể chỉ có một hoặc một vài nhóm thiol có đủ khả năng phản ứng mà gốc liên kết có thể được gắn qua đó. Tải lượng được chất cao hơn có thể gây ra sự kết tụ, sự không hòa tan, độ độc, hoặc mất khả năng thâm tể bào của thể tiếp hợp kháng thể-thuốc nhất định.

Thông thường, ít hơn số lượng lớn nhất theo lý thuyết của gốc thuốc được tiếp hợp với kháng thể trong phản ứng tiếp hợp. Kháng thể có thể chứa, ví dụ, nhiều gốc lysin mà không phản ứng với Gốc liên kết Thuốc. Chỉ các nhóm lysin phản ứng nhất có thể phản ứng với chất phản ứng gốc liên kết phản ứng amin. Ngoài ra, chỉ các nhóm xystein thiol phản ứng nhất có thể phản ứng với chất phản ứng gốc liên kết phản ứng thiol. Nhìn chung, kháng thể không chứa nhiều, nếu có, nhóm thiol xystein tự do và có thể phản ứng có thể được liên kết với gốc thuốc. Hầu hết các gốc xystein thiol trong kháng thể của hợp chất tồn tại dưới dạng cầu disulfua và phải được khử bằng được chất khử như dithiothreitol (DTT) hoặc TCEP, trong điều kiện khử một phần hoặc toàn bộ. Tải lượng (tỷ lệ thuốc/kháng thể) của ADC có thể được kiểm soát theo một vài phương thức khác nhau, bao gồm: (i) giới hạn độ dư mol của Gốc liên kết Thuốc tương quan với kháng thể, (ii) giới hạn thời gian hoặc nhiệt độ phản ứng tiếp hợp, và (iii) điều kiện khử một phần hoặc hạn chế đối với sự cải biến xystein thiol.

Các kháng thể nhất định có disulfua giữa các chuỗi có thể khử được, tức là cầu

xystein. Kháng thể có thể được làm cho có khả năng phản ứng để tiếp hợp với chất phản ứng gốc liên kết bằng cách xử lý bằng dược chất khử như DTT (dithiothreitol). Do đó mỗi cầu xystein tạo thành, theo lý thuyết, hai chất ưa nhân thiol có khả năng phản ứng. Các nhóm ưa nhân khác có thể được đưa vào trong kháng thể thông qua phản ứng của lysin với 2-iminothiolan (chất phản ứng Traut) dẫn đến sự biến đổi của amin thành thiol. Các nhóm thiol có khả năng phản ứng có thể được đưa vào trong kháng thể (hoặc mảnh của chúng) bằng cách thiết kế một, hai, ba, bốn, hoặc hơn bốn gốc xystein (ví dụ, điều chế kháng thể đột biến chứa một hoặc nhiều gốc axit amin xystein không tự nhiên). US 7521541 hướng dẫn việc thiết kế kháng thể bằng cách đưa vào axit amin xystein có khả năng phản ứng.

Axit amin xystein có thể được thiết kế tại các vị trí phản ứng trong kháng thể và không tạo thành liên kết disulfua nội chuỗi hoặc giữa các phân tử (Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26(8):925-932; Dornan et al (2009) Blood 114(13):2721-2729; US 7521541; US 7723485; WO2009/052249). Xystein thiol đã được thiết kế có thể phản ứng với Gốc liên kết Thuốc theo sáng chế (tức là có công thức I) có các nhóm ưa điện tử, có thể phản ứng thiol như maleimide hoặc alpha-halo amide để tạo thành ADC với kháng thể đã được thiết kế xystein. Do đó sự định vị của đơn vị dược chất có thể được thiết kế, được kiểm soát, và được biết. Tải lượng dược chất có thể được kiểm soát vì các nhóm xystein thiol đã được thiết kế thường phản ứng với chất phản ứng thuốc-gốc liên kết ở năng suất cao. Việc thiết kế kháng thể IgG để đưa axit amin xystein vào bằng cách thế tại vị trí đơn lẻ trên chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ tạo ra hai xystein mới trên kháng thể đối xứng. Tải lượng dược chất gần bằng 2 có thể đạt được với sự gần đồng nhất của sản phẩm tiếp hợp ADC.

Khi nhiều hơn một nhóm ưa nhân hoặc ưa điện tử của kháng thể phản ứng với Gốc liên kết Thuốc, thì sản phẩm thu được có thể là hỗn hợp của hợp chất ADC với sự phân bố của đơn vị dược chất được gắn vào kháng thể, ví dụ 1, 2, 3, v.v.. Phương pháp sắc ký lỏng như pha đảo dạng polyme (PLRP) và tương tác kỵ nước (HIC) có thể tách các hợp chất trong hỗn hợp theo giá trị tải lượng dược chất. Các chế phẩm điều chế của ADC với giá trị tải lượng dược chất (p) đơn lẻ có thể được phân lập, tuy nhiên, các ADC giá trị tải lượng đơn lẻ này có thể vẫn là hỗn hợp đồng nhất bởi vì đơn vị dược chất có thể được gắn vào, thông qua gốc liên kết, tại các vị trí khác nhau trên kháng thể.

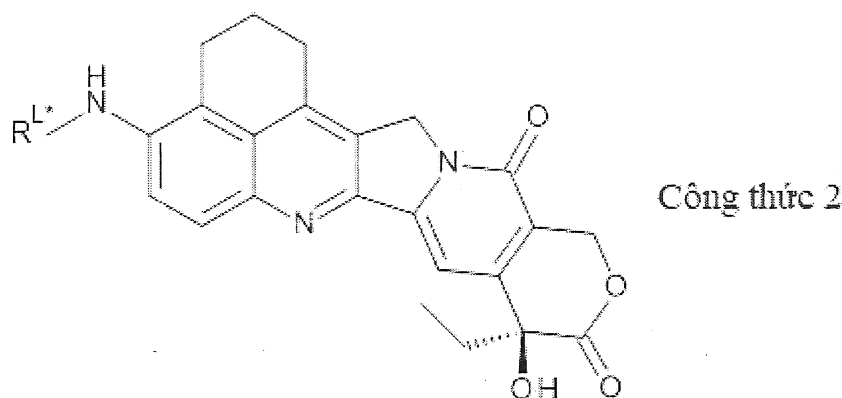
Do đó thể tiếp hợp được chất kháng thể chế phẩm theo sáng chế có thể bao gồm hỗn hợp của các thể tiếp hợp được chất kháng thể trong đó kháng thể có một hoặc nhiều gốc thuốc và trong đó gốc thuốc có thể được gắn vào kháng thể tại các gốc axit amin khác nhau.

Theo một phương án, số lượng trung bình của được chất trong mỗi chất liên kết tế bào nằm trong khoảng từ 1 đến 20. Theo một số phương án khoảng giá trị được chọn từ 1 đến 10, từ 2 đến 10, từ 2 đến 8, từ 2 đến 6, và từ 4 đến 10.

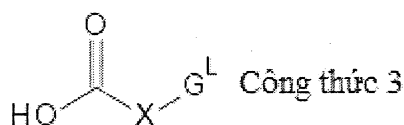
Theo một số phương án, có một được chất trong mỗi chất liên kết tế bào.

Quy trình điều chế chung

Hợp chất có công thức I trong đó R^L có công thức Ia có thể được tổng hợp từ hợp chất có công thức 2:



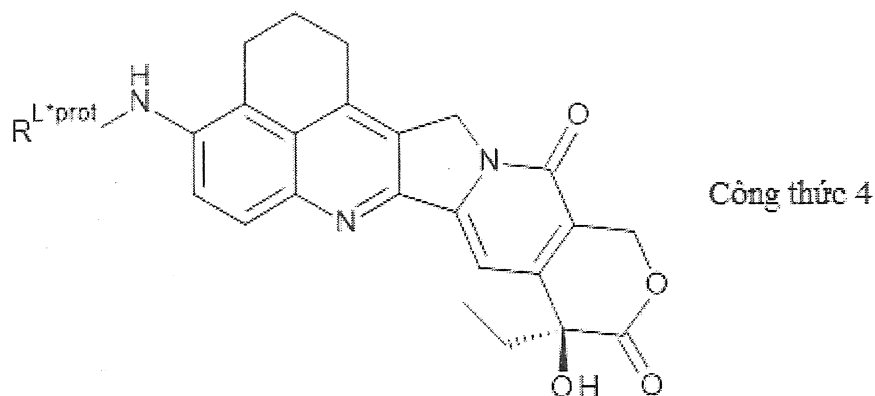
trong đó R^{L*} là -QH bằng cách liên kết hợp chất có công thức 3:



hoặc dạng đã hoạt hóa của chúng.

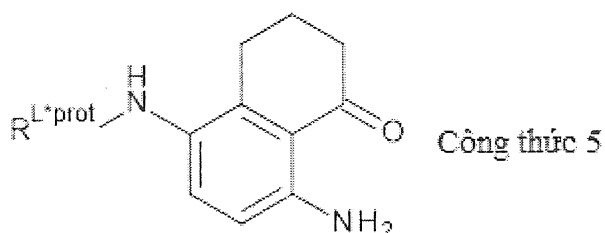
Phản ứng này có thể được thực hiện trong điều kiện ghép cặp amit.

Hợp chất có công thức 2 có thể được tổng hợp bằng cách khử bảo vệ của hợp chất có công thức 4:



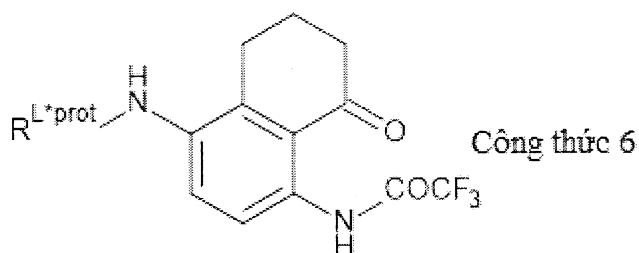
trong đó R^{L*prot} là $-Q-Prot^N$, trong đó $Prot^N$ là nhóm bảo vệ amin.

Hợp chất có công thức 4 có thể được tổng hợp bằng cách ghép cặp hợp chất có công thức 5:



với hợp chất A3 bằng cách sử dụng phản ứng Friedlander.

Hợp chất có công thức 5 có thể được tổng hợp từ hợp chất có công thức 6:



bằng cách loại bỏ nhóm bảo vệ trifloaxetamit.

Hợp chất có công thức 6 có thể được tổng hợp bằng cách ghép cặp: $R^{L*prot}-OH$ vào hợp chất I7.

Hợp chất có công thức I trong đó R^L có công thức Ia hoặc Ib có thể được tổng hợp từ hợp chất I11 bằng cách ghép cặp hợp chất R^L-OH , hoặc dạng đã hoạt hóa của chúng.

Nhóm bảo vệ amin

Các nhóm bảo vệ amin đã được biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Tham khảo cụ thể đến phần bộc lộ của các nhóm bảo vệ thích hợp trong Greene's Protecting Groups in Organic Synthesis, Fourth Edition, John Wiley & Sons, 2007 (ISBN 978-0-471-69754-1), pages 696-871.

Các ưu tiên khác

Các ưu tiên sau đây có thể áp dụng cho tất cả các khía cạnh của sáng chế như được mô tả ở trên, hoặc có thể liên quan đến khía cạnh đơn lẻ. Các ưu tiên này có thể được kết hợp với nhau ở tổ hợp bất kỳ.

Q^x

Theo một phương án, Q là gốc axit amin. Axit amin có thể là axit amin tự nhiên hoặc axit amin không tự nhiên.

Theo một phương án, Q được chọn từ Phe, Lys, Val, Ala, Cit, Leu, Ile, Arg, và Trp, trong đó Cit là xitruilin.

Theo một phương án, Q chứa gốc dipeptit. Axit amin trong dipeptit có thể là tổ hợp bất kỳ của axit amin tự nhiên và axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, dipeptit chứa axit amin tự nhiên. Trong đó gốc liên kết là gốc liên kết không bền cathepsin, dipeptit là vị trí tác động để phân cắt qua trung gian cathepsin. Khi đó dipeptit là vị trí nhận diện đối với cathepsin.

Theo một phương án, Q được chọn từ NH-Phe-Lys-C=O , NH-Val-Ala-C=O , NH-Val-Lys-C=O , NH-Ala-Lys-C=O , NH-Val-Cit-C=O , NH-Phe-Cit-C=O , NH-Leu-Cit-C=O , NH-Ile-Cit-C=O , NH-Phe-Arg-C=O , NH-Trp-Cit-C=O , và NH-Gly-Val-C=O ; trong đó Cit là xitruilin.

Tốt hơn là, Q được chọn từ NH-Phe-Lys-C=O , NH-Val-Ala-C=O , NH-Val-Lys-C=O , NH-Ala-Lys-C=O , và NH-Val-Cit-C=O .

Tốt nhất nếu, Q được chọn từ NH-Phe-Lys-C=O , NH-Val-Cit-C=O hoặc NH-Val-Ala-C=O .

Các tổ hợp dipeptit khác được quan tâm bao gồm: NH-Gly-Gly-C=O , NH-Gly-Val-C=O , NH-Pro-Pro-C=O , và NH-Val-Glu-C=O .

Các tổ hợp dipeptit khác có thể được sử dụng, bao gồm các tổ hợp dipeptit được mô tả bởi Dubowchik et al., *Bioconjugate Chemistry*, 2002, 13,855-869, được kết hợp trong bản mô tả này để tham khảo.

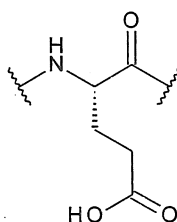
Theo một số phương án, Q là gốc tripeptit. Axit amin trong tripeptit có thể là tổ hợp bất kỳ của axit amin tự nhiên và axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, tripeptit chứa axit amin tự nhiên. Trong đó gốc liên kết là gốc liên kết không bền cathepsin, tripeptit là vị trí tác động để phân cắt qua trung gian cathepsin. Khi đó tripeptit là vị trí nhận diện đối với cathepsin. Gốc liên kết tripeptit được đặc biệt quan tâm là: $\text{NH-Glu-Val-Ala-C=O}$, $\text{NH-Glu-Val-Cit-C=O}$, $\text{NH-}\alpha\text{Glu-Val-Ala-C=O}$, $\text{NH-}\alpha\text{Glu-Val-Cit-C=O}$

Theo một số phương án, Q là gốc tetrapeptit. Axit amin trong tetrapeptit có thể là tổ hợp bất kỳ của axit amin tự nhiên và axit amin không tự nhiên. Theo một số phương án, tetrapeptit chứa axit amin tự nhiên. Trong đó gốc liên kết là gốc liên kết không bền cathepsin, tetrapeptit là vị trí tác động để phân cắt qua trung gian cathepsin. Khi đó tetrapeptit là vị trí nhận diện đối với cathepsin. Gốc liên kết tetrapeptit được đặc biệt quan tâm là: $\text{NH-Gly-Gly-Phe-Gly-C=O}$; và $\text{NH-Gly-Phe-Gly-Gly-C=O}$.

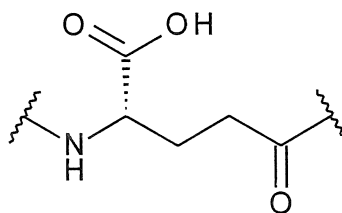
Theo một số phương án, tetrapeptit là: $\text{NH-Gly-Gly-Phe-Gly-C=O}$.

Trong các đại diện nêu trên của các gốc peptit, NH- thể hiện đầu tận cùng N, và -C=O thể hiện đầu tận cùng C của gốc. Đầu tận cùng C liên kết với NH của A*.

Glu thể hiện gốc của axit glutamic, tức là:



αGlu thể hiện gốc của axit glutamic khi được liên kết thông qua chuỗi α , tức là:



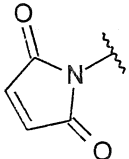
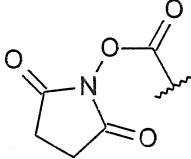
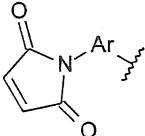
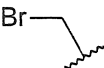
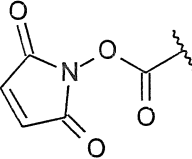
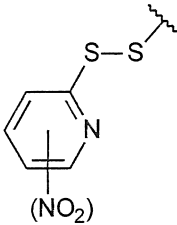
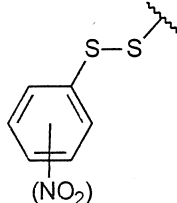
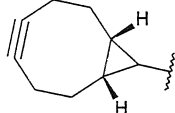
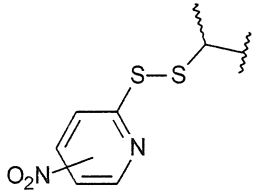
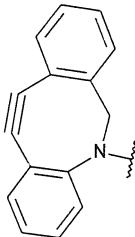
Theo một phương án, chuỗi bên axit amin được bảo vệ hóa học, khi thích hợp.

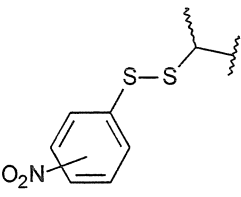
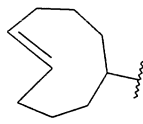
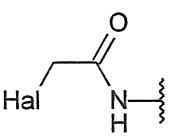
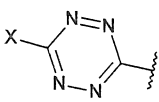
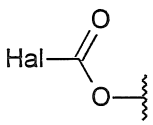
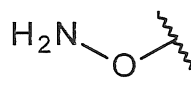
Nhóm bảo vệ chuỗi bên có thể là nhóm như thảo luận ở trên. Trình tự axit amin đã được bảo vệ có thể phân cắt được bằng enzym. Ví dụ, trình tự dipeptit chứa gốc Lys được bảo vệ chuỗi bên bằng Boc có thể phân cắt được bằng cathepsin.

Các nhóm bảo vệ đối với chuỗi bên của axit amin đã được biết rõ trong lĩnh vực và được mô tả trong Danh Mục Novabiochem, và như được mô tả ở trên.

G^L

G^L có thể được chọn từ

(G^{L1-1})		(G^{L6})	
(G^{L1-2})		(G^{L7})	
(G^{L2})		(G^{L8})	
(G^{L3-1})	 trong đó nhóm NO_2 là tùy ý	(G^{L9})	
(G^{L3-2})	 trong đó nhóm NO_2 là tùy ý	(G^{L10})	
(G^{L3-3})	 trong đó nhóm NO_2 là tùy ý	(G^{L11})	

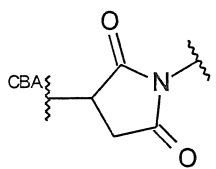
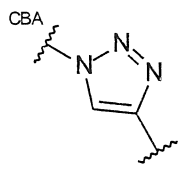
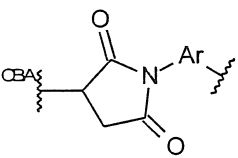
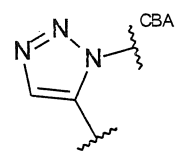
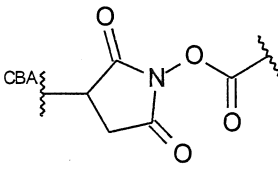
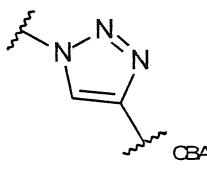
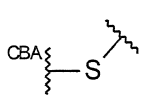
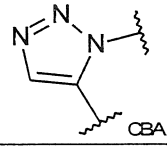
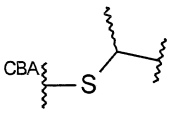
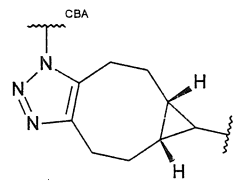
(G^{L3-4})	 trong đó nhóm NO_2 là tùy ý	(G^{L12})	
(G^{L4})	 Trong đó $Hal = I, Br, Cl$	(G^{L13})	
(G^{L5})		(G^{L14})	

trong đó Ar thể hiện nhóm C_{5-6} arylen, ví dụ phenylen, và X thể hiện C_{1-4} alkyl.

Theo một số phương án, G^L được chọn từ G^{L1-1} và G^{L1-2} . Theo một số phương án trong số các phương án này, G^L là G^{L1-1} .

G^{LL}

G^{LL} có thể được chọn từ

(G^{LL1-1})		(G^{LL8-1})	
(G^{LL1-2})		(G^{LL8-2})	
(G^{LL2})		(G^{LL9-1})	
(G^{LL3-1})		(G^{LL9-2})	
(G^{LL3-2})		(G^{LL10})	

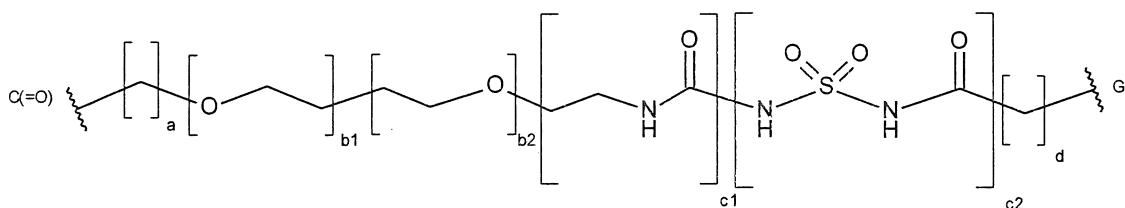
(G^{LL4})		(G^{LL11})	
(G^{LL5})		(G^{LL12})	
(G^{LL6})		(G^{LL13})	
(G^{LL7})		(G^{LL14})	

trong đó Ar thể hiện nhóm C_{5-6} arylen, ví dụ phenylen và X thể hiện C_{1-4} alkyl.

Theo một số phương án, G^{LL} được chọn từ G^{LL1-1} và G^{LL1-2} . Theo một số phương án trong số các phương án này, G^{LL} là G^{LL1-1} .

X

X là:



trong đó $a =$ từ 0 đến 5, $b1 =$ từ 0 đến 16, $b2 =$ từ 0 đến 16, $c = 0$ hoặc 1, $d =$ từ 0 đến 5, trong đó ít nhất nếu $b1$ hoặc $b2 = 0$ và ít nhất nếu $c1$ hoặc $c2 = 0$.

a có thể bằng 0, 1, 2, 3, 4 hoặc 5. Theo một số phương án, a nằm trong khoảng từ 0 đến 3. Theo một số phương án trong số các phương án này, a bằng 0 hoặc 1. Theo phương án khác, a bằng 0.

$b1$ có thể bằng 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 hoặc 16. Theo một số phương án, $b1$ nằm trong khoảng từ 0 đến 12. Theo một số phương án trong số các

phương án này, b_1 nằm trong khoảng từ 0 đến 8, và có thể bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.

b_2 có thể bằng 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 hoặc 16. Theo một số phương án, b_2 nằm trong khoảng từ 0 đến 12. Theo một số phương án trong số các phương án này, b_2 nằm trong khoảng từ 0 đến 8, và có thể bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.

Chỉ một trong số b_1 và b_2 có thể không bằng 0.

c_1 có thể bằng 0 hoặc 1.

c_2 có thể bằng 0 hoặc 1.

Chỉ một trong số c_1 và c_2 có thể không bằng 0.

d có thể bằng 0, 1, 2, 3, 4 hoặc 5. Theo một số phương án, d nằm trong khoảng từ 0 đến 3. Theo một số phương án trong số các phương án này, d bằng 1 hoặc 2. Theo phương án khác, d bằng 2. Theo phương án khác, d bằng 5.

Theo một số phương án của X, a bằng 0, b_1 bằng 0, c_1 bằng 1, c_2 bằng 0 và d bằng 2, và b_2 có thể nằm trong khoảng từ 0 đến 8. Theo một số phương án trong số các phương án này, b_2 bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.

Theo một số phương án của X, a bằng 1, b_2 bằng 0, c_1 bằng 0, c_2 bằng 0 và d bằng 0, và b_1 có thể nằm trong khoảng từ 0 đến 8. Theo một số phương án trong số các phương án này, b_1 bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.

Theo một số phương án của X, a bằng 0, b_1 bằng 0, c_1 bằng 0, c_2 bằng 0 và d bằng 1, và b_2 có thể nằm trong khoảng từ 0 đến 8. Theo một số phương án trong số các phương án này, b_2 bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.

Theo một số phương án của X, b_1 bằng 0, b_2 bằng 0, c_1 bằng 0, c_2 bằng 0 và một trong số a và d bằng 0. Chỉ số còn lại trong số a và d nằm trong khoảng từ 1 đến 5. Theo một số phương án trong số các phương án này, chỉ số còn lại trong số a và d bằng 1. Theo phương án khác trong số các phương án này, chỉ số còn lại trong số a và d bằng 5.

Theo một số phương án của X, a bằng 1, b_2 bằng 0, c_1 bằng 0, c_2 bằng 1, d bằng 2, và b_1 có thể nằm trong khoảng từ 0 đến 8. Theo một số phương án trong số các phương án này, b_2 bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.

Theo một số phương án, R^L có công thức Ib.

Theo một số phương án, R^{LL} có công thức Ib'.

R^{L1} và R^{L2} độc lập được chọn từ H và methyl, hoặc cùng với nguyên tử carbon liên kết với chúng tạo thành nhóm xyclopropylen hoặc xyclobutylen.

Theo một số phương án, cả R^{L1} và R^{L2} đều là H.

Theo một số phương án, R^{L1} là H và R^{L2} là methyl.

Theo một số phương án, cả R^{L1} và R^{L2} đều là methyl.

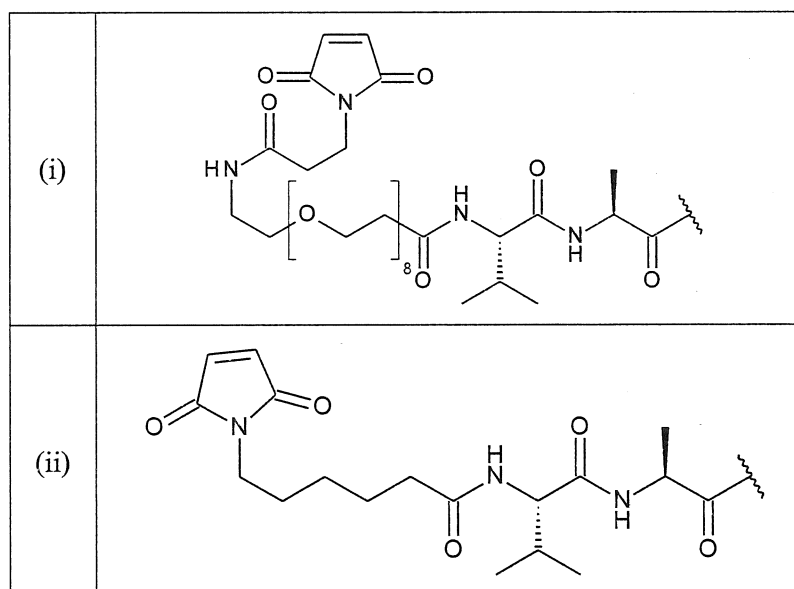
Theo một số phương án, R^{L1} và R^{L2} cùng với nguyên tử carbon liên kết với chúng tạo thành nhóm xyclopropylen.

Theo một số phương án, R^{L1} và R^{L2} cùng với nguyên tử carbon liên kết với chúng tạo thành nhóm xyclobutylen.

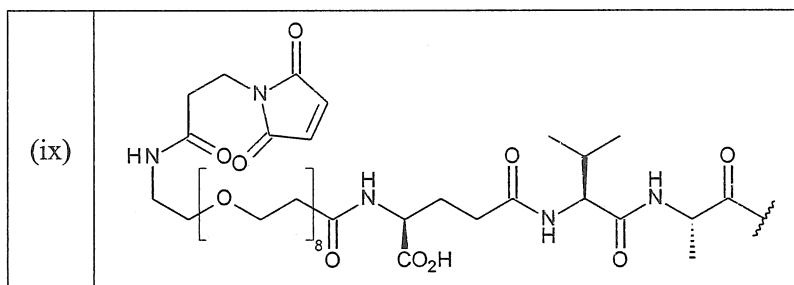
Trong nhóm Ib, theo một số phương án, e bằng 0. Theo phương án khác, e bằng 1 và nhóm nitro có thể ở vị trí có sẵn bất kỳ của vòng. Theo một số phương án trong số các phương án này, nó ở vị trí ortho. Theo các phương án khác trong số các phương án này, nó ở vị trí para.

Theo một số phương án của khía cạnh thứ năm của sáng chế, dạng được làm giàu đồng phân đối ảnh có tỷ lệ chất đồng phân đối ảnh lớn hơn 60:40, 70:30; 80:20 hoặc 90:10. Theo phương án khác, tỷ lệ chất đồng phân đối ảnh lớn hơn 95:5, 97:3 hoặc 99:1.

Theo một số phương án, R^L được chọn từ



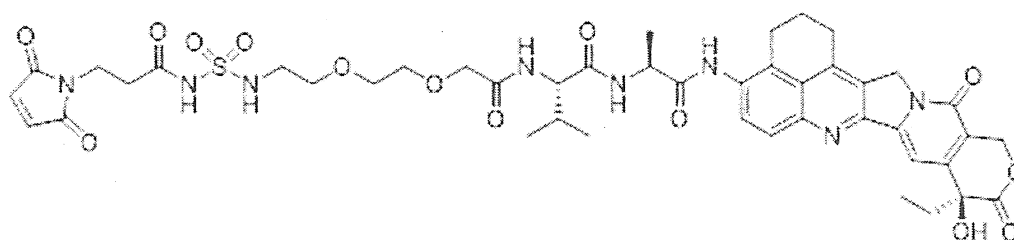
(iii)	
(iv)	
(v)	
(vi)	
(vii)	
(viii)	



Theo một số phương án, R^{LL} là nhóm có nguồn gốc từ các nhóm R^L ở trên.

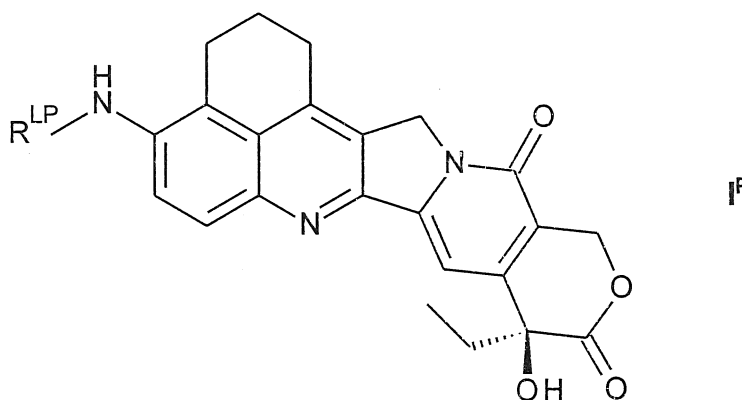
Theo một phương án của khía cạnh thứ nhất theo sáng chế, hợp chất có công thức

I là:



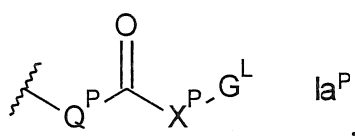
Các ưu tiên khác

Theo một số phương án, hợp chất có công thức I có công thức I^P :



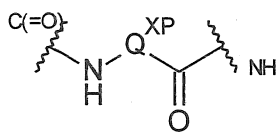
và muối và solvat của nó, trong đó R^{LP} là gốc liên kết để nối với chất liên kết tế bào, được chọn từ

(ia):



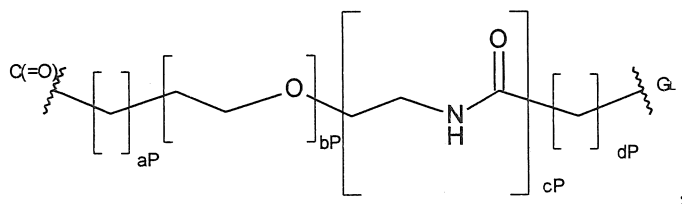
trong đó

Q^P là:



, trong đó Q^{XP} là nhóm sao cho Q^P là gốc axit amin, gốc dipeptit hoặc gốc tripeptit;

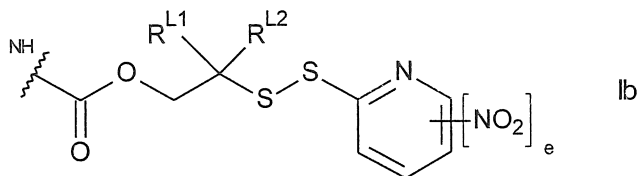
X^P là:



trong đó aP = từ 0 đến 5, bP = từ 0 đến 16, cP = 0 hoặc 1, dP = từ 0 đến 5;

G^L là gốc liên kết để nối với đơn vị phối tử;

(ib):



trong đó R^{L1} và R^{L2} độc lập được chọn từ H và methyl, hoặc cùng với nguyên tử carbon mà chúng liên kết với tạo thành nhóm xyclopropylen hoặc xyclobutylen ; và

e bằng 0 hoặc 1.

aP có thể bằng 0, 1, 2, 3, 4 hoặc 5. Theo một số phương án, aP nằm trong khoảng từ 0 đến 3. Theo một số phương án trong số các phương án này, aP bằng 0 hoặc 1. Theo phương án khác, aP bằng 0.

bP có thể bằng 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 hoặc 16. Theo một số phương án, b nằm trong khoảng từ 0 đến 12. Theo một số phương án trong số các phương án này, bP nằm trong khoảng từ 0 đến 8, và có thể bằng 0, 2, 4 hoặc 8.

cP có thể bằng 0 hoặc 1.

dP có thể bằng 0, 1, 2, 3, 4 hoặc 5. Theo một số phương án, dP nằm trong khoảng

từ 0 đến 3. Theo một số phương án trong số các phương án này, dP bằng 1 hoặc 2. Theo phương án khác, dP bằng 2.

Theo một số phương án của X^P , aP bằng 0, cP bằng 1 và dP bằng 2, và bP có thể nằm trong khoảng từ 0 đến 8. Theo một số phương án trong số các phương án này, bP bằng 0, 4 hoặc 8.

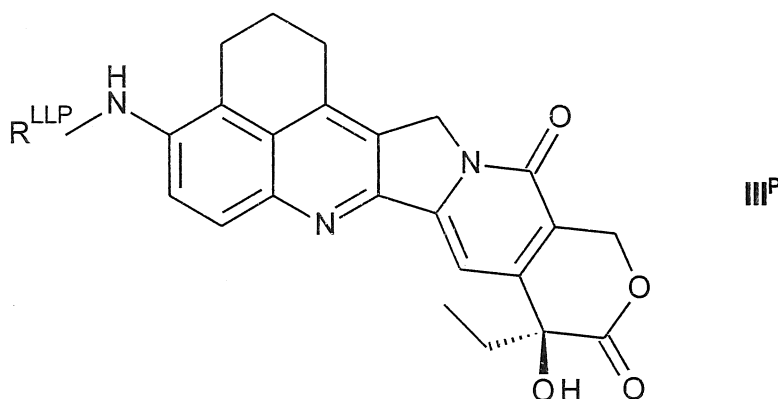
Các ưu tiên đối với Q^X ở trên đối với hợp chất có công thức I có thể áp dụng cho Q^{XP} , khi thích hợp.

Các ưu tiên đối với G^L , R^{L1} , R^{L2} và e ở trên đối với hợp chất có công thức I có thể áp dụng cho hợp chất có công thức I^P .

Theo một số phương án, thể tiếp hợp có công thức IV có công thức IV^P :

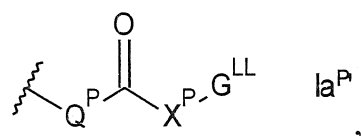


hoặc muối hoặc solvat được dụng của nó, trong đó L là đơn vị phối tử (tức là, chất hướng đích), D^{LP} là đơn vị được chất gốc liên kết có công thức III^P :



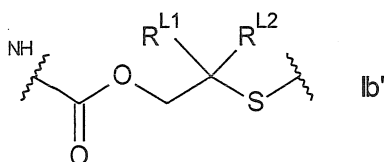
R^{LLP} là gốc liên kết được nối với đơn vị phối tử được chọn từ

(ia'):



trong đó Q^P và X^P như định nghĩa ở trên và G^{LL} là gốc liên kết được nối với đơn vị phối tử; và

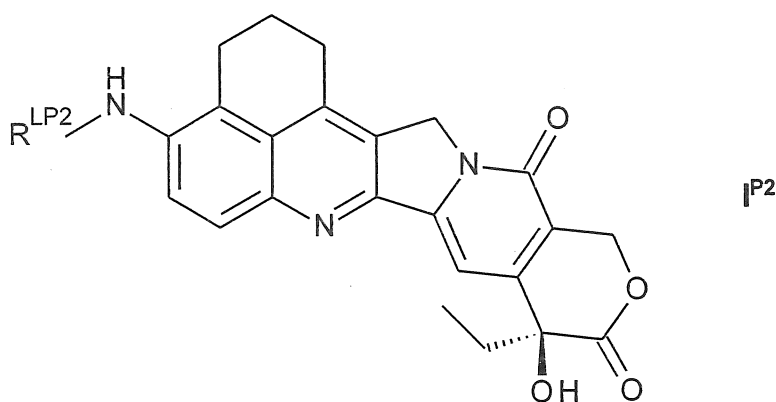
(ib'):



trong đó R^{L1} và R^{L2} như định nghĩa ở trên; và

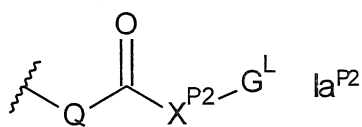
p là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 20.

Theo một số phương án, hợp chất có công thức I có công thức I^{P2}:



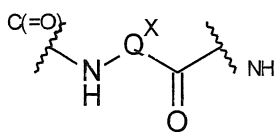
và muối và solvat của nó, trong đó R^{LP2} là gốc liên kết để nối với chất liên kết tế bào, được chọn từ

(ia):



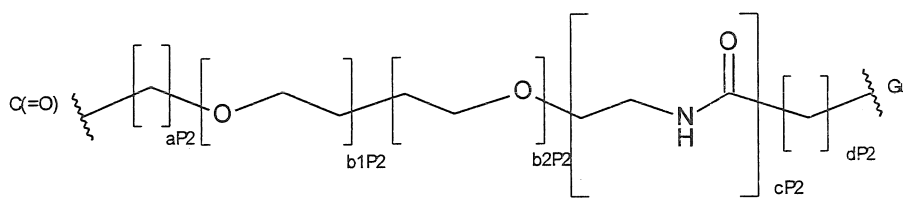
trong đó

Q là:



, trong đó Q^X là nhóm sao cho Q là gốc axit amin, gốc dipeptit, gốc tripeptit hoặc gốc tetrapeptit;

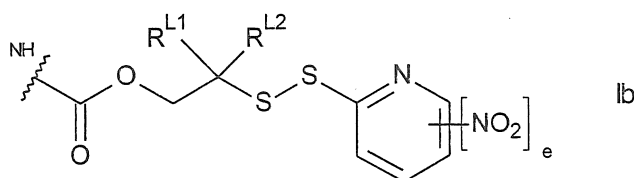
X^{P2} là:



trong đó $aP2$ = từ 0 đến 5, $b1P2$ = từ 0 đến 16, $b2P2$ = từ 0 đến 16, $cP2$ = 0 hoặc 1, $dP2$ = từ 0 đến 5, trong đó ít nhất nếu $b1P2$ hoặc $b2P2$ = 0 (tức là chỉ một trong số $b1$ và $b2$ có thể không bằng 0);

G^L là gốc liên kết để nối với đơn vị phối tử;

(ib):



trong đó R^{L1} và R^{L2} độc lập được chọn từ H và methyl, hoặc cùng với nguyên tử carbon mà chúng liên kết với, tạo thành nhóm xyclopropylen hoặc xyclobutylen ; và

e bằng 0 hoặc 1.

$aP2$ có thể bằng 0, 1, 2, 3, 4 hoặc 5. Theo một số phương án, $aP2$ nằm trong khoảng từ 0 đến 3. Theo một số phương án trong số các phương án này, $aP2$ bằng 0 hoặc 1. Theo phương án khác, $aP2$ bằng 0.

$b1P2$ có thể bằng 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 hoặc 16. Theo một số phương án, $b1P2$ nằm trong khoảng từ 0 đến 12. Theo một số phương án trong số các phương án này, $b1P2$ nằm trong khoảng từ 0 đến 8, và có thể bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.

$b2P2$ có thể bằng 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 hoặc 16. Theo một số phương án, $b2P2$ nằm trong khoảng từ 0 đến 12. Theo một số phương án trong số các phương án này, $b2P2$ nằm trong khoảng từ 0 đến 8, và có thể bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.

Chỉ một trong số $b1P2$ và $b2P2$ có thể không bằng 0.

$cP2$ có thể bằng 0 hoặc 1.

dP2 có thể bằng 0, 1, 2, 3, 4 hoặc 5. Theo một số phương án, dP2 nằm trong khoảng từ 0 đến 3. Theo một số phương án trong số các phương án này, dP2 bằng 1 hoặc 2. Theo phương án khác, dP2 bằng 2. Theo phương án khác, dP2 bằng 5.

Theo một số phương án của X^{P2} , aP2 bằng 0, b1P2 bằng 0, cP2 bằng 1 và dP2 bằng 2, và b2P2 có thể nằm trong khoảng từ 0 đến 8. Theo một số phương án trong số các phương án này, b2P2 bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.

Theo một số phương án của X^{P2} , aP2 bằng 1, b2P2 bằng 0, cP2 bằng 0 và dP2 bằng 0, và b1P2 có thể nằm trong khoảng từ 0 đến 8. Theo một số phương án trong số các phương án này, b1P2 bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.

Theo một số phương án của X^{P2} , aP2 bằng 0, b1P2 bằng 0, cP2 bằng 0 và dP2 bằng 1, và b2P2 có thể nằm trong khoảng từ 0 đến 8. Theo một số phương án trong số các phương án này, b2P2 bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.

Theo một số phương án của X^{P2} , b1P2 bằng 0, b2P2 bằng 0, cP2 bằng 0 và một trong số aP2 và dP2 bằng 0. Chỉ số còn lại trong số aP2 và d nằm trong khoảng từ 1 đến 5. Theo một số phương án trong số các phương án này, chỉ số còn lại trong số aP2 và d bằng 1. Theo phương án khác trong số các phương án này, chỉ số còn lại trong số aP2 và dP2 bằng 5.

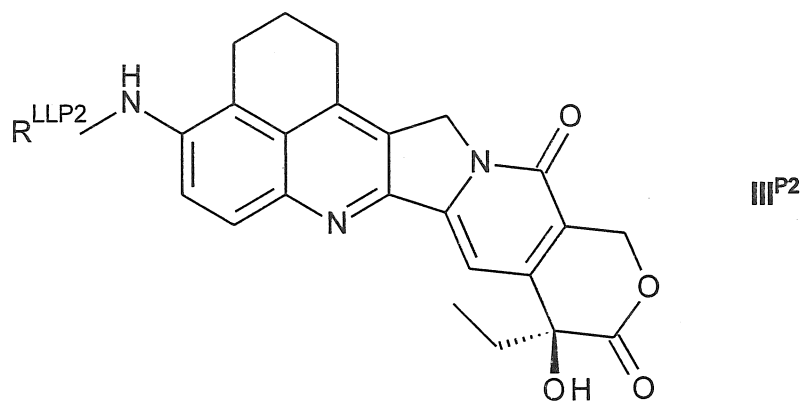
Các ưu tiên đối với Q^X ở trên đối với hợp chất có công thức I có thể áp dụng cho Q^X trong Công thức Ia^{P2}, khi thích hợp.

Các ưu tiên đối với G^L , R^{L1} , R^{L2} và e ở trên đối với hợp chất có công thức I có thể áp dụng cho hợp chất có công thức I^{P2}.

Theo một số phương án, thể tiếp hợp có công thức IV có công thức IV^{P2}:

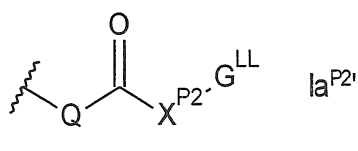


hoặc muối hoặc solvat được dụng của nó, trong đó L là đơn vị phối tử (tức là, chất hướng đích), D^{LP2} là đơn vị dược chất gốc liên kết có công thức III^{P2}:



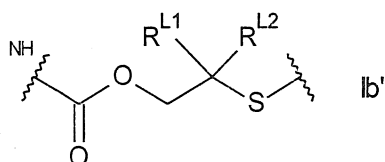
R^{LLP2} là gốc liên kết được nối với đơn vị phối tử được chọn từ

(ia'):



trong đó Q và X^{P2} như định nghĩa ở trên và G^{LL} là gốc liên kết được nối với đơn vị phối tử; và

(ib'):



trong đó R^{L1} và R^{L2} như định nghĩa ở trên; và

p là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 20.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Thông tin chung

Sắc ký nhanh được thực hiện bằng cách sử dụng Biotage® Isolera™ và các phân đoạn được kiểm tra về độ tinh khiết bằng cách sử dụng sắc ký lớp mỏng (thin-layer chromatography - TLC). TLC được thực hiện bằng cách sử dụng silicagel Merck Kieselgel 60 F254, với chất chỉ thị huỳnh quang trên đĩa nhôm. Sự trực quan hóa của TLC đạt được bằng tia UV.

Các dung môi chiết và sắc ký được mua và được sử dụng mà không tinh chế thêm

từ VWR U.K.

Tất cả các hóa chất nguyên chất được mua từ Sigma-Aldrich trừ khi có quy định khác.

Chất phản ứng đã peg hóa được thu lấy từ Quanta biodesign US thông qua Stratech UK.

Điều kiện LC/MS

Phương pháp A

Phương pháp khối phổ phun điện tử chế độ dương được thực hiện bằng cách sử dụng Waters Acquity H-class SQD2.

Các pha động được sử dụng là dung môi A (nước với axit formic 0,1%) và dung môi B (axetonitril với axit formic 0,1%). Giữ chế phẩm ban đầu 5% B trong 25 giây, sau đó tăng lên từ 5% B đến 100% B trong khoảng thời gian 1 phút 35 giây. Giữ chế phẩm trong thời gian 50 giây ở 100% B, sau đó quay trở lại 5% B trong 5 giây và giữ ở đó trong 5 giây. Tổng thời gian của việc chạy gradien là 3,0 phút. Tốc độ dòng bằng 0,8 ml/phút. Bước phát hiện được thực hiện ở bước sóng bằng 254 nm. Cột: Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18 1,7µm 2,1 x 50 mm ở nhiệt độ 50°C được hiệu chỉnh với tiền cột Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18 VanGuard, 130A, 1,7µm, 2,1 mm x 5 mm.

Phương pháp B

HPLC (Waters Alliance 2695) được chạy bằng cách sử dụng pha động của nước (A) (axit formic 0,1%) và axetonitril (B) (axit formic 0,1%).

Giữ chế phẩm ban đầu 5% B trong 25 giây, sau đó tăng lên từ 5% B đến 100% B trong khoảng thời gian 1 phút 35 giây. Giữ chế phẩm trong thời gian 50 giây ở 100% B, sau đó quay trở lại 5% B trong 5 giây và giữ ở đó trong 5 giây. Tổng thời gian của việc chạy gradien là 3,0 phút. Tốc độ dòng bằng 0,8 ml/phút. Sự phát hiện chiều dài bước sóng nằm trong khoảng: từ 190 đến 800 nm. Cột: Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18 1,7µm 2,1 x 50 mm ở nhiệt độ 50°C được hiệu chỉnh với Tiền cột Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18 VanGuard, 130A, 1,7µm, 2,1 mm x 5 mm.

Phương pháp C

HPLC (Waters Alliance 2695) được chạy bằng cách sử dụng pha động của nước (A) (axit formic 0,1%) và axetonitril (B) (axit formic 0,1%).

Giữ chế phẩm ban đầu 5% B trong 1 phút, sau đó tăng lên từ 5% B đến 100% B trong khoảng thời gian 9 phút. Giữ chế phẩm trong thời gian 2 phút ở 100% B, sau đó quay trở lại 5% B trong 0,10 phút và giữ ở đó trong thời gian 3 phút. Tổng thời gian chạy gradien bằng 15 phút. Tốc độ dòng 0,6 ml/phút. Sự phát hiện chiều dài bước sóng nằm trong khoảng: từ 190 đến 800 nm. Nhiệt độ lò: 50°C. Cột: ACE Excel 2 C18-AR, 2 μ , 3,0 x 100mm.

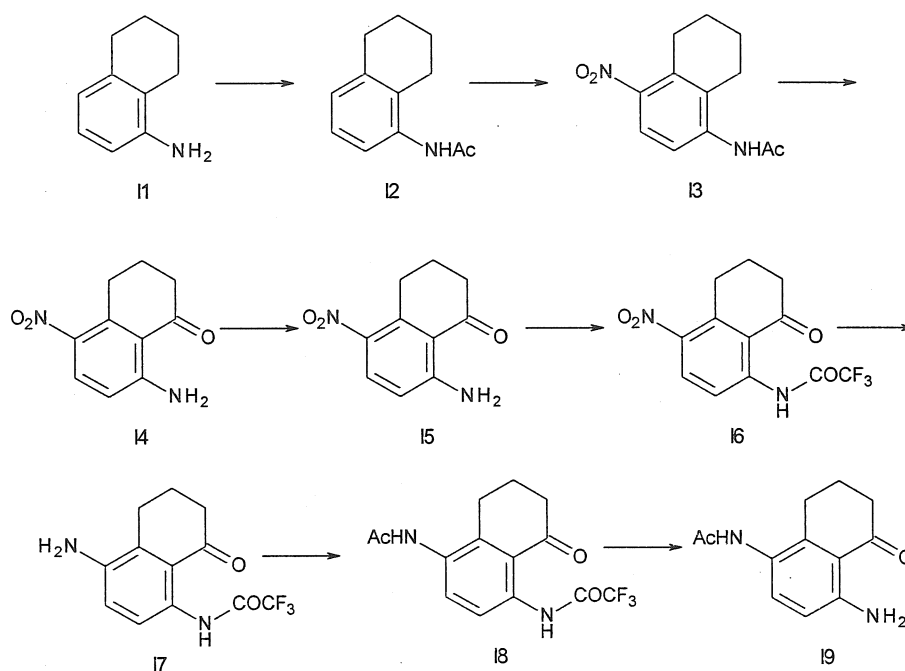
Điều kiện HPLC

Sắc ký lỏng hiệu năng cao siêu nhanh pha đảo (UFLC) được thực hiện trên máy Shimadzu ProminenceTM bằng cách sử dụng cột PhenomenexTM Gemini NX 5 μ C18 (ở nhiệt độ 50°C) kích thước: 150 x 21,2 mm. Các chất rửa giải được sử dụng là dung môi A (H₂O với axit formic 0,1%) và dung môi B (CH₃CN với axit formic 0,1%). Tất cả các thí nghiệm UFLC được thực hiện với điều kiện gradien: Chế phẩm ban đầu 13% B tăng lên đến 30% B trong khoảng thời gian 3 phút, sau đó tăng lên đến 45% B trong thời gian 8 phút và lại lên 100% trong thời gian 6 phút trước khi quay trở lại 13% trong thời gian 2 phút và giữ trong thời gian 1 phút. Tổng thời gian của việc chạy gradien là 20,0 phút. Tốc độ dòng bằng 20,0 ml/phút và bước phát hiện được thực hiện ở bước sóng bằng 254 và 223 nm.

Phương pháp NMR

Độ dịch chuyển hóa học proton NMR được đo trên thang delta ở 400 MHz bằng cách sử dụng Bruker AV400. Các chữ viết tắt sau đây được sử dụng: s, mức đơn; d, mức đôi; t, mức ba; q, mức bốn; quin, mức năm; m, mức bội; br, rộng. Các hằng số ghép cặp được báo cáo theo Hz.

Tổng hợp các hợp chất trung gian quan trọng



a) N-(5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-1-yl)acetamidit (I2)

Hòa tan 5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-1-amin I1 (8,54 g, 58,0 mmol) trong diclometan (80 ml). Bổ sung trietylamin (18 ml, 129 mmol) và làm lạnh hỗn hợp xuống 0°C. Bổ sung từng giọt axetic anhydrit (11,5 ml, 122 mmol), khi hoàn thành việc bổ sung, làm ấm hỗn hợp phản ứng lên nhiệt độ trong phòng và khuấy trong thời gian 45 phút, sau đó thì LCMS chỉ ra phản ứng đã hoàn thành. Pha loãng hỗn hợp với CH₂Cl₂, rửa bằng H₂O, NaHCO₃ bão hòa, axit xitric 10%, làm khô pha hữu cơ trên MgSO₄ và cô trong chân không. Nghiền nhỏ chất rắn màu trắng nhờ với Et₂O/isohexan 1:3 để thu được I2 (10,8 g, 57,1 mmol, Hiệu suất 98%) dưới dạng chất rắn màu trắng được sử dụng mà không tinh chế thêm. LC/MS (phương pháp A): thời gian lưu 1,44 phút (ES+) m/z 190 [M + H]⁺

b) N-(4-nitro-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-1-yl)acetamidit (I3)

Bổ sung từng phần N-(5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-1-yl)acetamidit I2 (1,00 g, 5,2840 mmol) vào axit sulfuric (15 ml, 281 mmol) ở nhiệt độ -5°C. Bổ sung từng phần natri nitrat (450 mg, 5,2945 mmol) vào hỗn hợp phản ứng và khuấy trong thời gian 30 phút ở nhiệt độ -5°C sau đó thì LCMS chỉ ra phản ứng không tiến triển thêm nữa. Rót hỗn hợp phản ứng lên trên nước đá với sự làm lạnh bên ngoài, chiết hỗn hợp trong nước với CH₂Cl₂, làm khô pha hữu cơ trên MgSO₄ và tinh chế bằng Isolera (EtOAc 10-80% trong isohexan) để thu được hỗn hợp của N-(4-nitro-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-1-yl)acetamidit I3 và N-(2-nitro-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-1-yl)acetamidit (956 mg, 4,0811

mmol, Hiệu suất 77%) dưới dạng chất rắn màu trắng/màu vàng. LC/MS (phương pháp A): thời gian lưu 1,53 phút (ES+) m/z 235 $[M + H]^+$.

c) N-(4-nitro-8-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-1-yl)axetamit (I4)

Hòa tan N-(4-nitro-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-1-yl)axetamit I3 (1,01 g, 4,31 mmol) trong axeton (30 ml). Bổ sung magie sulfat trong nước (3,9 ml, 5,9 mmol, 1,5 mol/l) và làm lạnh hỗn hợp xuống 0°C. Bổ sung từng phần kali permanganat (2,07 g, 13,0 mmol) vào hỗn hợp phản ứng và làm ấm hỗn hợp lên nhiệt độ trong phòng và khuấy trong thời gian 50 phút, sau đó thì TLC chỉ ra phản ứng đã hoàn thành. Lọc hỗn hợp phản ứng qua Xelit, rửa chất rắn bằng $CHCl_3$ và rửa hỗn hợp hữu cơ thu được bằng H_2O , nước muối, làm khô trên $MgSO_4$ và tinh chế bằng isolera (EtOAc 20-50% trong isohexan) để thu được hỗn hợp của N-(4-nitro-8-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-1-yl)axetamit I4 và N-(2-nitro-8-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-1-yl)axetamit (709 mg, 2,86 mmol, 66%) dưới dạng chất rắn màu trắng/màu vàng. LC/MS (phương pháp A): thời gian lưu 1,44 phút (ES+) m/z 190 $[M + H]^+$

d) 8-amino-5-nitro-3,4-dihydronaphtalen-1(2H)-on (I5)

Khuấy hỗn hợp của N-(4-nitro-8-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-1-yl)axetamit I4 và N-(2-nitro-8-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-1-yl)axetamit (709 mg, 2,8561 mmol) và axit clohydric 6N (7 ml) ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 2,5 giờ, sau đó thì LCMS chỉ ra phản ứng đã hoàn thành. Làm nguội hỗn hợp phản ứng trong bể nước đá và bổ sung dung dịch NaOH 6N đến khi độ pH có tính bazơ. Chiết hỗn hợp trong nước với CH_2Cl_2 , làm khô pha hữu cơ trên $MgSO_4$ và cô trong chân không. Isolera (EtOAc 0-50% trong isohexan) tạo ra 8-amino-5-nitro-3,4-dihydronaphtalen-1(2H)-on I5 (320 mg, 1,552 mmol, Hiệu suất 54%) dưới dạng chất rắn màu vàng/màu da cam. LC/MS (phương pháp A): thời gian lưu 1,54 phút (ES+) m/z 207 $[M + H]^+$

e) 2,2,2-triflo-N-(4-nitro-8-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-1-yl)axetamit (I6)

Hòa tan 8-amino-5-nitro-3,4-dihydronaphtalen-1(2H)-on I5 (430 mg, 2,0854 mmol) trong diclometan (20 ml). Bổ sung pyridin (340 μ l, 4,20 mmol) và làm lạnh hỗn hợp xuống 0°C. Bổ sung trifloaxetic anhydrit (590 μ l, 4,197 mmol) và khuấy trong thời gian 30 phút, sau đó thì LCMS chỉ ra phản ứng đã hoàn thành. Pha loãng hỗn hợp với CH_2Cl_2 , rửa bằng H_2O , làm khô pha hữu cơ trên $MgSO_4$ và cô trong chân không để thu được 2,2,2-triflo-N-(4-nitro-8-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-1-yl)axetamit I6 (630 mg,

2,0846 mmol, Hiệu suất >99%) dưới dạng chất rắn màu vàng, được sử dụng mà không tinh chế thêm. LC/MS (phương pháp A): thời gian lưu 1,86 phút (ES+) m/z 301X $[M - H]^-$

f) N-(4-amino-8-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-1-yl)-2,2,2-trifloaxetamit (I7)

Tạo huyền phù kẽm (2,73 g, 41,7 mmol) trong metanol (80 ml), axit formic (4 ml) và nước (4 ml) và làm lạnh hỗn hợp xuống 0°C. Bổ sung từng phần 2,2,2-triflo-N-(4-nitro-8-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-1-yl)axetamit I6 (568 mg, 2,0865 mmol) và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 30 phút, sau đó thì LCMS chỉ ra phản ứng đã hoàn thành. Lọc hỗn hợp phản ứng, pha loãng dịch lọc bằng EtOAc và rửa bằng NaHCO_3 bão hòa. Làm khô pha hữu cơ trên MgSO_4 và cô trong chân không để thu được N-(4-amino-8-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-1-yl)-2,2,2-trifloaxetamit I7 (568 mg, 2,0865 mmol, Hiệu suất >99%) dưới dạng chất rắn màu vàng, được sử dụng mà không tinh chế thêm. LC/MS (phương pháp A): thời gian lưu 1,65 phút (ES+) m/z 273 $[M + H]^+$

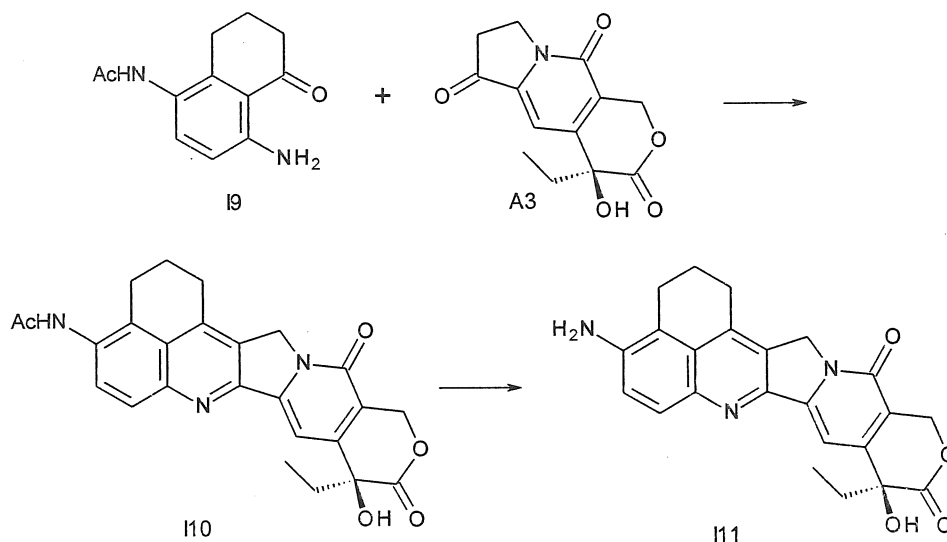
g) N-(4-axetamido-8-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-1-yl)-2,2,2-trifloaxetamit (I8)

Hòa tan N-(8-amino-4-oxo-tetralin-5-yl)-2,2,2-triflo-axetamit I7 (568 mg, 2,0865 mmol) trong diclometan (20 ml). Bổ sung trietylamin (580 μl , 4,16 mmol) sau đó là axetyl clorua (297 μl , 4,173 mmol) và khuấy hỗn hợp trong thời gian 30 phút, sau đó thì LCMS chỉ ra phản ứng đã hoàn thành. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng CH_2Cl_2 , rửa bằng H_2O , làm khô pha hữu cơ trên MgSO_4 và cô trong chân không để thu được N-(8-axetamido-4-oxo-tetralin-5-yl)-2,2,2-triflo-axetamit I8 (655 mg, 2,084 mmol, Hiệu suất >99%) dưới dạng chất rắn màu vàng, được sử dụng mà không tinh chế thêm. LC/MS (phương pháp A): thời gian lưu 1,55 phút (ES+) m/z 315 $[M + H]^+$

h) N-(4-amino-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-1-yl)axetamit (I9)

Hòa tan N-(8-axetamido-4-oxo-tetralin-5-yl)-2,2,2-triflo-axetamit I8 (2,77 g, 8,81 mmol) trong metanol (240 ml) và nước (17 ml). Bổ sung kali carbonat (4,88 g, 35,3 mmol) và khuấy hỗn hợp trong thời gian 1,5 giờ ở nhiệt độ 50°C, sau đó thì LCMS chỉ ra phản ứng đã hoàn thành. Làm nguội hỗn hợp phản ứng, cô trong chân không, hòa tan trong MeOH 10% trong CH_2Cl_2 và rửa bằng H_2O . Làm khô pha hữu cơ trên MgSO_4 và tinh chế bằng sắc ký isolera (MeOH 2-15% trong CH_2Cl_2) để thu được N-(8-amino-1-oxo-tetralin-5-yl)axetamit I9 (1,20 g, 5,50 mmol, Hiệu suất 62,3%) dưới dạng chất rắn

màu vàng. LC/MS (phương pháp A): thời gian lưu 0,98 phút (ES+) m/z 219 $[M + H]^+$



i) (S)-N-(9-ethyl-9-hydroxy-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahydro-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl)axetamit (I10)

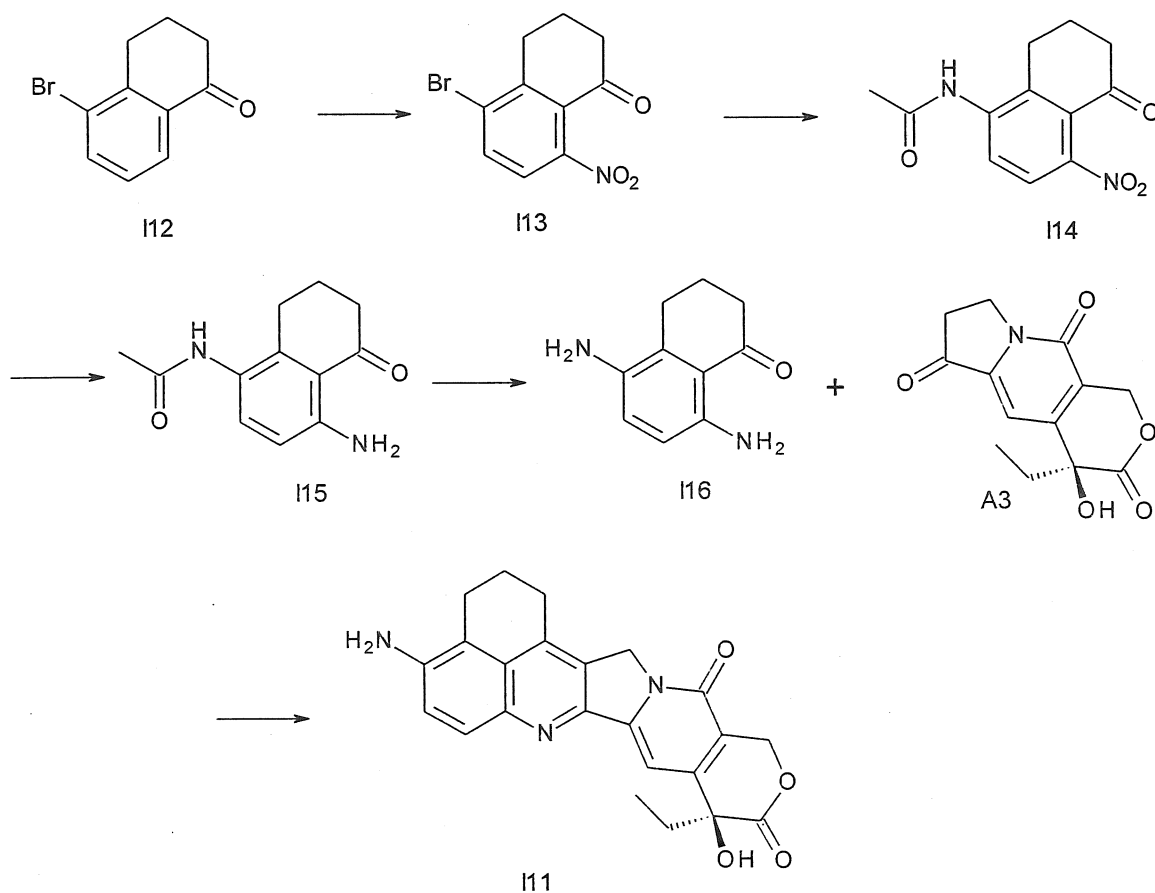
Hòa tan N-(8-amino-1-oxo-tetralin-5-yl)axetamit 19 (641 mg, 2,94 mmol, 1,0 đương lượng), (S)-4-ethyl-4-hydroxy-7,8-dihydro-1H-pyrano[3,4-f]indolizin-3,6,10(4H)-trion A3 (840 mg, 3,19 mmol, 1,1 đương lượng) và PPTS (740 mg, 2,95 mmol, 1,0 đương lượng) trong toluen (60 ml) và khuấy ở dòng hồi lưu trong thời gian 3 giờ, sau đó thì LCMS chỉ ra 19 đã được tiêu thụ. Làm nguội hỗn hợp phản ứng và cô trong chân không. Nghiền nhỏ chất rắn thu được với axetonitril, sau đó là axeton để thu được I10 dưới dạng chất rắn màu nâu với sự tạp nhiễm TsOH nhỏ (1,26 g, 96%). LC/MS (phương pháp A): thời gian lưu 1,32 phút (ES+) m/z 447 $[M + H]^+$

j) (S)-4-amino-9-ethyl-9-hydroxy-1,2,3,9,12,15-hexahydro-10H,13H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-10,13-dion (I11)

Hòa tan (S)-N-(9-ethyl-9-hydroxy-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahydro-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl)axetamit (I10) (1,26 g, 2,83 mmol, 1,0 đương lượng) trong axit clohydric (6 mol/l) trong H₂O (12 ml) và khuấy hỗn hợp trong thời gian 5 giờ ở nhiệt độ 80°C, sau đó thì LCMS chỉ ra I10 đã được tiêu thụ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng H₂O và cô trong chân không để thu được (S)-4-amino-9-ethyl-9-hydroxy-1,2,3,9,12,15-hexahydro-10H,13H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-10,13-dion I11 (1,51 g, 2,85 mmol, 90 % khối lượng, Hiệu suất 101%) dưới dạng chất rắn kết tinh màu đỏ. LC/MS (phương

pháp A): thời gian lưu 1,36 phút (ES+) m/z 405 $[M + H]^+$.

Phương pháp tổng hợp khác của I11



IPC, độ tinh khiết và phương pháp thử nghiệm đối với quy trình tổng hợp này

Thiết bị	Thermo U-3000		
Cột	ACE Excel 3 C18- PFP (3,0 mm×150 mm)		
Lò	40°C		
Pha động	A: 10mM Amoni Format trong nước độ pH=3,5		
	B: CAN		
Chương trình gradien	Thời gian (phút)	A%	B%
	0,0	90	10
	20,0	10	90
	23,0	10	90
	24,0	90	10
	30,0	90	10
	Thời gian tái cân bằng: 6 phút		
Tốc độ dòng	1,0 ml/phút		
Bộ phận phát hiện	UV 220 nm		
Chất pha loãng	ACN		

a) 5-bromo-8-nitro-tetralin-1-on (I13)

Bổ sung dung dịch của kali nitrat (1,15 đương lượng, 13,83 g) hòa tan trong axit sulphuric (Đặc, 5,0 thể tích tương đối, 160 ml) (thời gian bổ sung 4-12 giờ, duy trì nhiệt

độ dưới 10°C) vào dung dịch của 5-bromotetralin-1-on (I12)(1,0 đương lượng, 26,77 g) trong axit sulfuric (Đặc, 5,0 thể tích tương đối, 160 ml) dưới nitơ. Khi phản ứng đã hoàn thành chuyển hỗn hợp phản ứng vào bình thót cổ chứa nước (36 thể tích tương đối, 1,15 l) điều chỉnh tốc độ chuyển để giữ nhiệt độ dưới 10°C. Lọc chất rắn thu được, rửa bằng nước (4,0 thể tích tương đối, 128 ml) ba lần và sau đó làm khô ở nhiệt độ ~40°C trong thời gian 24 giờ. Hòa tan bánh khô trong hỗn hợp của axeton (2,5 thể tích tương đối, 80 ml) và nước (0,38 thể tích tương đối, 12,2 ml) gia nhiệt lên ~75°C và sau đó làm lạnh xuống ~20°C. Lấy chất rắn thu được ra bằng cách lọc. Tráo đổi dung môi thành etanol bằng cách chưng cất và thể tích dung dịch giảm xuống 2,0 thể tích tương đối (64 ml). Làm lạnh dung dịch xuống ~25°C và thu gom chất rắn thu được bằng cách lọc. Rửa chất rắn bằng etanol (1,0 Thể tích Tương Đối, 32ml) sau đó làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 40°C để thu được 5-bromo-8-nitro-tetralin-1-on I13 (15,36g, 40%) dưới dạng chất rắn màu nâu; RT 14,0 phút

Phương pháp 1 IPC, độ tinh khiết và phương pháp thử nghiệm đối với bromo-8-nitro-tetralin-1-on.

Thiết bị	Thermo U-3000		
Cột	ACE Excel 3 C18- PFP (3,0 mm×150 mm)		
Lò	40°C		
Pha động	A: 10mM Amoni Format trong nước độ pH=3,5		
	B: ACN		
Chương trình gradien	Thời gian (phút)	A%	B%
	0,0	90	10
	20,0	10	90
	23,0	10	90
	24,0	90	10
	30,0	90	10
Thời gian tái cân bằng: 6 phút			
Tốc độ dòng	1,0 ml/phút		
Bộ phận phát hiện	UV 220 nm		
Chất pha loãng	ACN		

b) N-(8-nitro-1-oxo-tetralin-5-yl)axetamit (I14)

Gia nhiệt dung dịch của bromo-8-nitro-tetralin-1-on (I13)(1,0 đương lượng, 18,0 g, 90,6% khối lượng/khối lượng), axetamit (1,2 đương lượng, 4,72 g), tris(dibenzylidenaxeton)dipaladi(0) (0,01 đương lượng, 0,61 g) và kali photphat (1,4 đương lượng, 19,8 g) trong dioxan (15 thể tích tương đối, 270 ml) dưới nitơ lên ~70°C. Khi phản ứng đã hoàn thành làm lạnh dung dịch xuống ~20°C và pha loãng bằng dioxan (5 thể tích tương đối, 90,0 ml) và lọc. Tráo đổi dung môi thành etanol và thể tích giảm

xuống tổng thể tích phản ứng bằng 3 thể tích tương đối (54,0 ml). Làm lạnh dung dịch xuống $\sim 20^{\circ}\text{C}$ và thu gom chất rắn thu được bằng cách lọc và rửa bằng MTBE (metyl tert-butyl ete) (1,0 thể tích tương đối, 18,0 ml). Làm khô chất rắn dưới chân không ở nhiệt độ 40°C để thu được N-(8-nitro-1-oxo-tetralin-5-yl)axetamit I14 (10,0 g, 60,6%) dưới dạng chất rắn màu vàng đậm; RT 8,86 phút.

c) N-(8-amino-1-oxo-tetralin-5-yl)axetamit (I15)

Bổ sung paladi hydroxit trên carbon (20% khối lượng/khối lượng, 0,15 đương lượng, 5,25g) vào dung dịch của N-(8-nitro-1-oxo-tetralin-5-yl)axetamit (I14) (1,0 đương lượng, 32,6g) trong metanol (40 thể tích tương đối, 1250mL). Đặt hỗn hợp phản ứng dưới khí quyển hydro ở ~ 40 psi, ở nhiệt độ $\sim 40^{\circ}\text{C}$ trong thời gian 8 giờ. Loại bỏ hydro và thay thế bằng nitơ và loại bỏ chất xúc tác bằng cách lọc qua xenluloza, rửa xenluloza bằng metanol (4,0 thể tích tương đối, 130ml). Làm giảm thể tích dung dịch xuống 4,0 thể tích tương đối bằng cách chưng cất và sau đó pha loãng bằng MTBE (4 thể tích tương đối, 130ml). Thu gom chất rắn thu được bằng cách lọc, rửa bằng MTBE (2 thể tích tương đối, 65ml) và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 40°C để thu được N-(8-amino-1-oxo-tetralin-5-yl)axetamit I15 (21,1g, 77,8%) dưới dạng chất rắn màu xanh xám; RT 5,44 phút.

d) 5,8-diaminotetralin-1-on (I16)

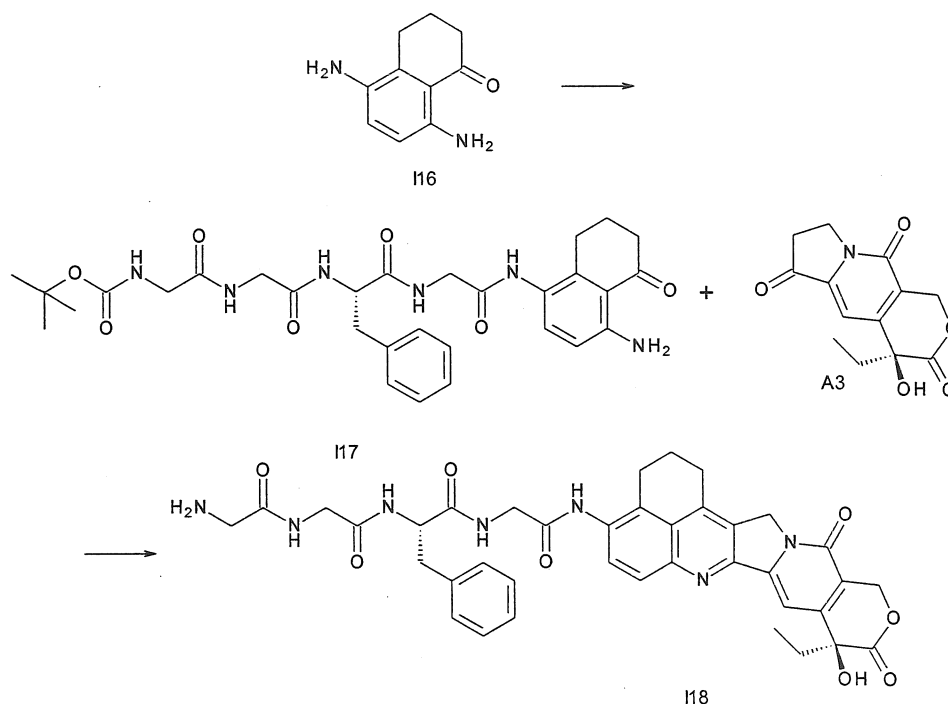
Giữ dung dịch của N-(8-amino-1-oxo-tetralin-5-yl)axetamit (I15) (1,0 đương lượng, 10,0 g) trong axit clohydric (5M, 6,0 thể tích tương đối, 60 ml) ở nhiệt độ $\sim 90^{\circ}\text{C}$ trong thời gian 3 giờ. Làm giảm nhiệt độ xuống 25°C và bổ sung natri hydroxit (2M, 4,0 thể tích tương đối, 40ml) đến khi đạt được độ pH 10,0, duy trì nhiệt độ 25°C . Thu gom chất rắn thu được bằng cách lọc và rửa bằng nước (2,0 thể tích tương đối, 20 ml). Hòa tan bánh ướt trong tetrahydrofuran (60 thể tích tương đối, 600 ml) và lọc. Cô dung dịch đến 5,0 thể tích tương đối và bổ sung heptan (20 thể tích tương đối, 200 ml). Cô dung dịch đến 10,0 thể tích tương đối và bổ sung thêm heptan (20 thể tích tương đối, 200 ml), và sau đó lại làm giảm thể tích xuống 10,0 thể tích tương đối. Thu gom chất rắn thu được bằng cách lọc và rửa bằng heptan (5,0 thể tích tương đối, 50 ml). Làm khô chất rắn dưới chân không ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 17 giờ để thu được 5,8-diaminotetralin-1-on (I16) (6,90g, 82,7%) dưới dạng chất rắn màu vàng; ^1H NMR (400 MHz DMSO- d_6) δ ppm 1,82 (m, 2H), 2,38 (t, $J=2,0$ Hz, 2H), 2,47 (t, $J=2,0$ Hz, 2H), 6,34 (d, $J=2,0$ Hz, 1H),

6,68 (d, J=2,0 Hz, 1H); RT 3,90

e) (S)-4-amino-9-etyl-9-hydroxy-1,2,3,9,12,15-hexahydro-10H,13H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-10,13-dion (I11)

Giữ dung dịch của 5,8-diaminotetralin-1-on (I16)(1,0 đương lượng, 5,0g), (4S)-4-etyl-4-hydroxy-7,8-dihydro-1H-pyrano[3,4-f]indolizin-3,6,10-trion (A3)(1,06 đương lượng, 7,9g), và pyridinium para-toluensulfonat (1,0 đương lượng, 7,2g) trong toluen (50,0 thể tích tương đối, 250 ml) ở nhiệt độ 120°C trong thời gian 15 giờ. Làm giảm thể tích của dung dịch xuống 2,0 thể tích tương đối và sau đó pha loãng bằng axetonitril (20 thể tích tương đối, 100 ml) và nước (20 thể tích tương đối, 100 ml). Lọc chất pha trộn loãng thu được và rửa chất rắn bằng axetonitril trong nước (1:1, 20 thể tích tương đối, 100 ml). Pha trộn loãng chất rắn với metanol trong nước (nước:MeOH 3:1, 40 thể tích tương đối, 200 ml), lọc và rửa bằng metanol trong nước (1:1, 20 thể tích tương đối, 100 ml). Pha trộn loãng chất rắn với nước (60 thể tích tương đối, 300 ml) ở nhiệt độ 50°C, lọc và rửa bằng nước (10 thể tích tương đối, 50 ml). Pha trộn loãng chất rắn với axetonitril trong nước (nước: axetonitril, 1:3, 40 thể tích tương đối, 200 ml) ở nhiệt độ 30°C, lọc và rửa bằng axetonitril trong nước (nước: axetonitril, 1:3, 5 thể tích tương đối, 50 ml) và sau đó làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 40°C để thu được (S)-4-amino-9-etyl-9-hydroxy-1,2,3,9,12,15-hexahydro-10H,13H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-10,13-dion (I11) dưới dạng chất rắn màu trắng (5,0g, 43,7%); RT 5,13.

Tổng hợp I18



a) tert-butyl (S)-(2-((2-((1-((4-amino-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-1-yl)amino)-2-oxoethyl)amino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino)-2-oxoethyl)amino)-2-oxoethyl)carbamate (I17)

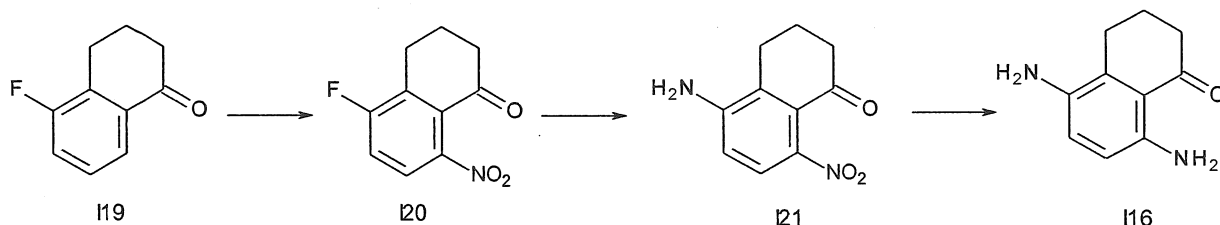
Hòa tan Boc-GGFG-OH (227 mg, 0,52 mmol) và EEDQ (157 mg, 0,634 mmol) trong CH_2Cl_2 (25 ml) và khuấy hỗn hợp trong thời gian 15 phút, đến khi peptit đi vào trong dung dịch. Tiếp đó bổ sung hợp chất I16 (100 mg, 0,56747 mmol) và để hỗn hợp có khuấy đến khi hoàn thành. Sau 1 giờ, thấy phản ứng hoàn thành 90% bằng LVMC. Hỗn hợp trở nên đặc hơn khi sản phẩm vỡ ra. Để yên hỗn hợp trong một giờ nữa trước khi hút chân không đến khô. Hấp thụ chất thô trong Et_2O (50 ml). Lọc chất rắn và tiếp đó hấp thụ trong CH_2Cl_2 (50 ml) để tinh chế thêm. Lọc chất rắn và làm khô để thu được sản phẩm I17 (273 mg, 0,459 mmol, Hiệu suất 80,9%) dưới dạng chất rắn màu xám. Dữ liệu phân tích: LCMS 3 phút: $\text{ES}^+ = 1,46$ phút, m/z 595,7 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

b) (S)-2-(2-(2-aminoaxetamido)axetamido)-N-(2-(((S)-9-ethyl-9-hydroxy-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahydro-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl)amino)-2-oxoethyl)-3-phenylpropanamit (I18)

Hòa tan anilin I17 (450 mg, 1,045 mMol), lacton A5 (280 mg, 1,064 mMol) và pyridinium p-toluensulfonat (273 mg, 1,086 mMol) trong toluen (20 ml) và gia nhiệt hỗn hợp lên 150°C (hồi lưu cao). Bổ sung MeOH (4 ml) để giúp hòa tan hỗn hợp. Sau 7 giờ hút chân không phản ứng thô đến khô. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký silicagel

(CHCl₃/MeOH, từ 100% đến 65:35) để thu được sản phẩm I18 (259 mg, 0,359 mmol, hiệu suất 78,1). Dữ liệu phân tích: LCMS 3 phút: ES⁺ = 1,17 phút, m/z 722,8 [M + H]⁺.

Phương pháp tổng hợp khác của I16



a) 5-fluoro-8-nitro-tetralin-1-on (I20)

Hòa tan 5-fluorotetralin-1-on I19 (4,7 g, 29 mmol) trong 1/2 lượng của axit sulfuric (120 ml) trong bình thót cổ đáy tròn 3 cổ. Khuấy hỗn hợp đến khi tất cả chất rắn hòa tan và sau đó làm lạnh xuống 0-5°C. Trong phễu nhỏ giọt, hòa tan kali nitrat (3 g, 29,6730 mmol) vào nửa còn lại của axit sulfuric (120 ml) ở nhiệt độ 0-5°C. Bỏ sung từ từ vào hỗn hợp SM để đảm bảo duy trì dung dịch lạnh (45 phút). Khuấy ở nhiệt độ 0-5°C đến khi hoàn thành. Tiếp theo đập tắt hỗn hợp phản ứng bằng nước (250 ml) và để có khuấy ở nhiệt độ 0-5°C. Lọc chất rắn và rửa bằng nước (50 ml). Làm khô chất rắn trong lò chân không trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ 50°C. Pha trộn loãng chất rắn thô trong Et₂O qua đêm trước khi làm lạnh xuống 0°C và lọc. Rửa bánh ướt bằng lượng thêm nữa của Et₂O lạnh (50 ml) và để cho khô trong lò chân không ở nhiệt độ 50°C để thu được sản phẩm tinh khiết I20 (5,5 g, 26 mmol, hiệu suất 92%) dưới dạng bột mịn màu hồng nhạt. LCMS (Phương pháp B): ES⁺ = 1,55 phút, m/z 210,1 [M + H]⁺.

b) 5-Amino-8-nitro-tetralin-1-on (I21)

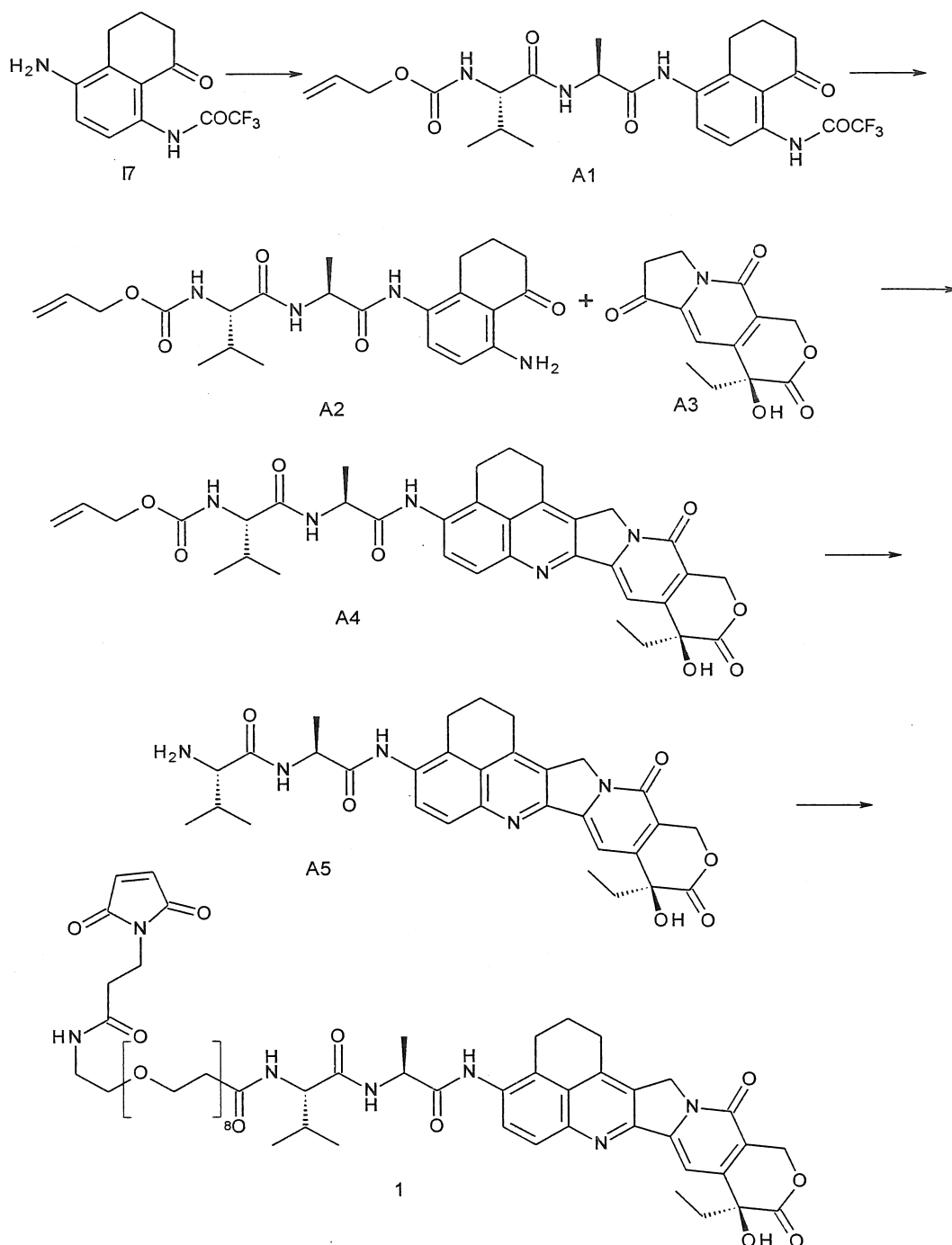
Hòa tan hợp chất I20 (2,7 g, 13 mmol) trong CH₃CN (2,5 ml) và bổ sung NH₄OH (21 % khối lượng) trong H₂O (8 ml, 40 mmol) vào ống chịu áp suất kín và gia nhiệt lên 185°C. Ngay khi hoàn thành, chuyển hỗn hợp vào bình thót cổ đáy tròn và hút chân không. Tinh chế chất thô bằng sắc ký cột silicagel (CHCl₃/MeOH; từ 100 đến 99:1) để thu được sản phẩm tinh khiết I21 (1,1 g, 5,3 mmol, hiệu suất 41%) dưới dạng chất rắn màu đen. LCMS (Phương pháp B): ES⁺ = 1,34 phút, m/z 207,1 [M + H]⁺.

c) 5,8-diaminotetralin-1-on (I16)

Hòa tan hợp chất I21 (1,35 g, 6,55 mmol) trong hỗn hợp của metanol (20 ml), H₂O (1 ml) và axit formic (1 ml) ở nhiệt độ 0°C. Bổ sung từ từ kẽm (8,5 g, 130 mmol), đảm

bảo giữ nhiệt độ dưới 40°C. Bổ sung thêm một chút axit formic/H₂O (0,5 ml) để thúc đẩy phản ứng hoàn thành. Lọc hỗn hợp phản ứng, và pha loãng dịch lọc bằng EtOAc và CH₂Cl₂ trước khi hút chân không. Tái khô chất thô lên trên sắc ký cột silicagel (CHCl₃/EtOAc; từ 100 đến 7:3 sau đó là CHCl₃/MeOH; từ 99:1 đến 98:2) để thu được sản phẩm tinh khiết I16 (1,015 g, 5,760 mmol, Hiệu suất 88,0%). LCMS (Phương pháp B): ES⁺ = 0,2 phút, m/z không được quan sát thấy.

Ví dụ 1



a) Allyl ((S)-3-methyl-1-oxo-1-(((S)-1-oxo-1-((5-oxo-4-(2,2,2-trifluoroacetamido)-

5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-1-yl)amino)propan-2-yl)amino)butan-2-yl)carbamate (A1)

Bổ sung DCC (6,54 g, 31,7 mMol) và HOPO (3,36 g, 30,2 mMol) vào dung dịch của alloc-Val-Ala-OH (9,09 g, 31,7 mmol) và I7 (7,85 g, 28,8 mMol) trong CH₂Cl₂ (300 ml) ở nhiệt độ 25°C. Để yên hỗn hợp thu được có khuấy qua đêm. Lọc chất rắn màu trắng được tạo thành trong quá trình phản ứng ra và rửa bằng CH₂Cl₂ lạnh. Rửa dịch lọc bằng nước (150 ml) và nước muối (150 ml). Lớp hữu cơ được làm khô qua MgSO₄, được lọc và được làm bay hơi. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký silicagel (Hex/EtOAc, 60:40). Làm nhiễm sản phẩm A1 đã được phân lập với DCU đồng rửa giải (21,1 g, hiệu suất 140%). LC/MS (Phương pháp B): ES⁺ = 1,81 phút, m/z 527,6 [M + H]⁺.

b) Alyl ((S)-1-(((S)-1-((4-amino-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-1-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)amino)-3-metyl-1-oxobutan-2-yl)carbamate (A2)

Hòa tan anilin đã được bảo vệ A1 (18 g, 34,19 mMol) trong hỗn hợp của MeOH và bổ sung H₂O 10:1 (165 ml) và K₂CO₃ (10 g, 72,36 mMol). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 50°C đến khi hoàn thành. Hút chân không hỗn hợp đến gần như khô và hấp thụ phần cặn với CH₂Cl₂ và rửa bằng H₂O và nước muối, trước khi làm khô trên MgSO₄, lọc và làm bay hơi. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký silicagel (CHCl₃/MeOH, từ 100% đến 7:3). Làm nhiễm sản phẩm đã được phân lập A2 với tạp chất đồng rửa giải (10,71 g, hiệu suất 73%). LC/MS (Phương pháp B): ES⁺ = 1,46 phút, m/z 431,7 [M + H]⁺.

c) Alyl ((S)-1-(((S)-1-(((S)-9-etyl-9-hydroxy-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahydro-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)amino)-3-metylbutan-2-yl)carbamate (A4)

Hòa tan anilin A2 (450 mg, 1,045 mMol), lacton A3 (280 mg, 1,064 mMol) và pyridinium p-toluensulfonat (273 mg, 1,086 mMol) trong toluen (20 ml) và gia nhiệt hỗn hợp lên 130°C (hồi lưu cao). Thỉnh thoảng bổ sung vài giọt MeOH để giúp hòa tan hỗn hợp. Sau 7 giờ hút chân không phản ứng thô đến khô. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký silicagel (CHCl₃/MeOH, từ 100% đến 95:5) để thu được sản phẩm A4 (360 mg, hiệu suất 52,3%). LC/MS (Phương pháp B): ES⁺ = 1,51 phút, m/z 658,8 [M + H]⁺.

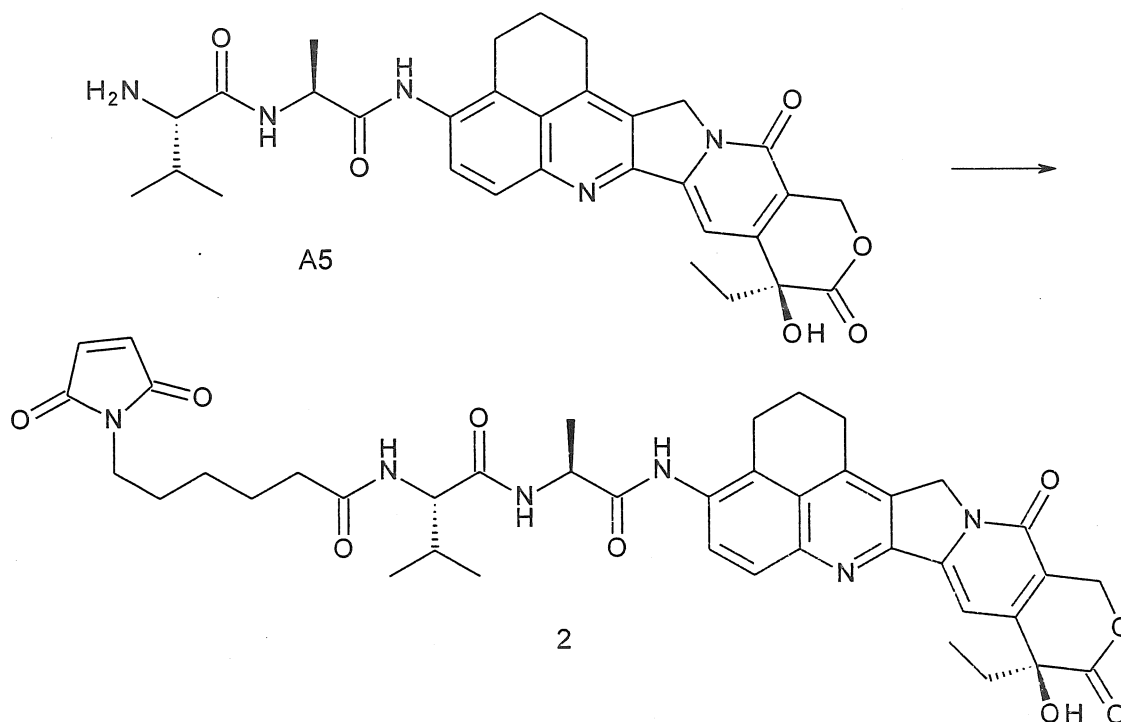
d) Alyl (S)-2-amino-N-((S)-1-(((S)-9-etyl-9-hydroxy-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahydro-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)-3-metylbutanamit (A5)

Bổ sung piperidin dư (642 μ l) vào dung dịch của A4 (543 mg, 0,82 mMol) và $\text{PdP(Ph}_3)_4$ (89 mg, 0,08 mMol) trong CH_2Cl_2 (15 ml). Để hỗn hợp có khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 20 phút, tại thời điểm đó phản ứng tiến đến hoàn thành (như theo dõi bằng LC/MS). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng CH_2Cl_2 (25 ml) và rửa pha hữu cơ bằng H_2O (25 ml) và nước muối (25 ml). Làm khô pha hữu cơ trên MgSO_4 , lọc và loại bỏ dung môi dư bằng cách bay hơi quay dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô A5 được sử dụng như vậy trong bước tiếp theo. LC/MS (Phương pháp B): $\text{ES}^+ = 1,15$ phút, m/z 574,6 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

e) 1-(3-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-yl)propanamido)-N-((S)-1-(((S)-1-(((S)-9-ethyl-9-hydroxy-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahydro-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)amino)-3-metyl-1-oxobutan-2-yl)-3,6,9,12,15,18,21,24-octaosaheptacosan-27-amit (1)

Bổ sung pyridin (83 μ l, 1,03 mMol) và Mal-dPEG₈-OTFP (767 mg, 1,03 mMol) vào dung dịch của chất thô A5 (giả định 1,03 mMol) trong CH_2Cl_2 khô (50 ml) dưới khí quyển argon. Khuấy phản ứng qua đêm và khi phản ứng không hoàn thành bổ sung 0,5 đương lượng của Mal-dPEG₈-OTFP để cố thúc đẩy phản ứng. Pha loãng phản ứng bằng CH_2Cl_2 (25 ml) và rửa pha hữu cơ bằng H_2O (2 x 50 ml) và nước muối trước khi làm khô trên MgSO_4 , lọc và loại bỏ dung môi dư bằng cách bay hơi quay dưới áp suất giảm bằng cách bay hơi quay dưới áp suất giảm. Tinh chế chất thô bằng HPLC pha đảo (gradient của $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN} + \text{FA}$ 0,05%) và làm khô lạnh để thu được 1 (1,189 g, hiệu suất 31% qua 2 bước). LC/MS (Phương pháp B): $\text{ES}^+ = 1,43$ phút, m/z 1149,3 $[\text{M} + \text{H}]^+$. LC/MS (Phương pháp C): $\text{ES}^+ = 5,37$ phút, m/z 1149,4 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

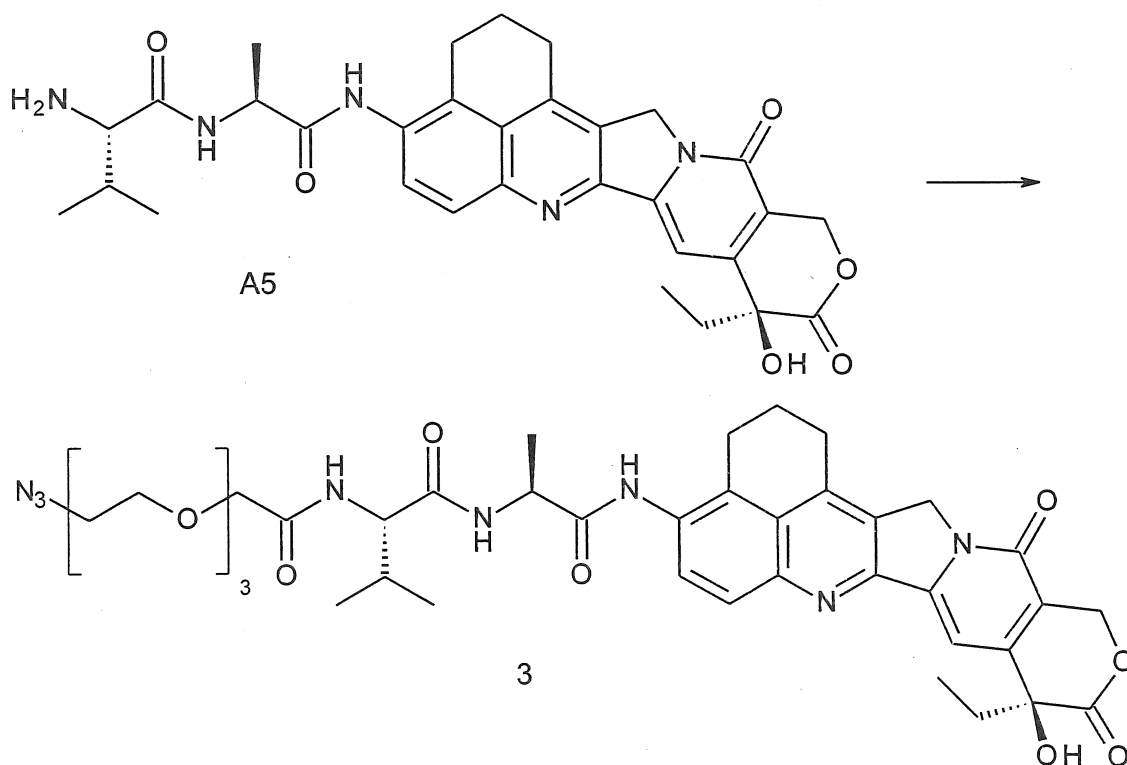
Ví dụ 2



6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)-N-((S)-1-(((S)-1-(((S)-9-ethyl-9-hydroxy-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahydro-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)amino)-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)hexanamide (2)

Bổ sung axit mal-caproic (56 mg, 0,26 mMol) và EDCI.HCl (51 mg, 0,26 mMol) vào dung dịch của A5 thô (giả định 0,26 mMol) trong CH₂Cl₂ khô (20 ml) dưới khí quyển argon. Khuấy phản ứng qua đêm và khi phản ứng chưa hoàn thành, bổ sung 0,5 đương lượng nữa của axit mal-caproic và EDCI.HCl. Pha loãng phản ứng bằng CH₂Cl₂ (25 ml) và rửa pha hữu cơ bằng H₂O (2 x 50 ml) và nước muối trước khi làm khô trên MgSO₄, lọc và loại bỏ dung môi dư bằng cách bay hơi quay dưới áp suất giảm bằng cách bay hơi quay dưới áp suất giảm. Tinh chế chất thô bằng sắc ký cột silicagel (CHCl₃/MeOH 95:5) để thu được 2 (31,6 mg, hiệu suất 20% qua 2 bước). LC/MS (Phương pháp B): ES⁺ = 1,56 phút, m/z 767,8 [M + H]⁺. LC/MS (Phương pháp C) 15 phút: ES⁺ = 6,05 phút, m/z 767,8 [M + H]⁺.

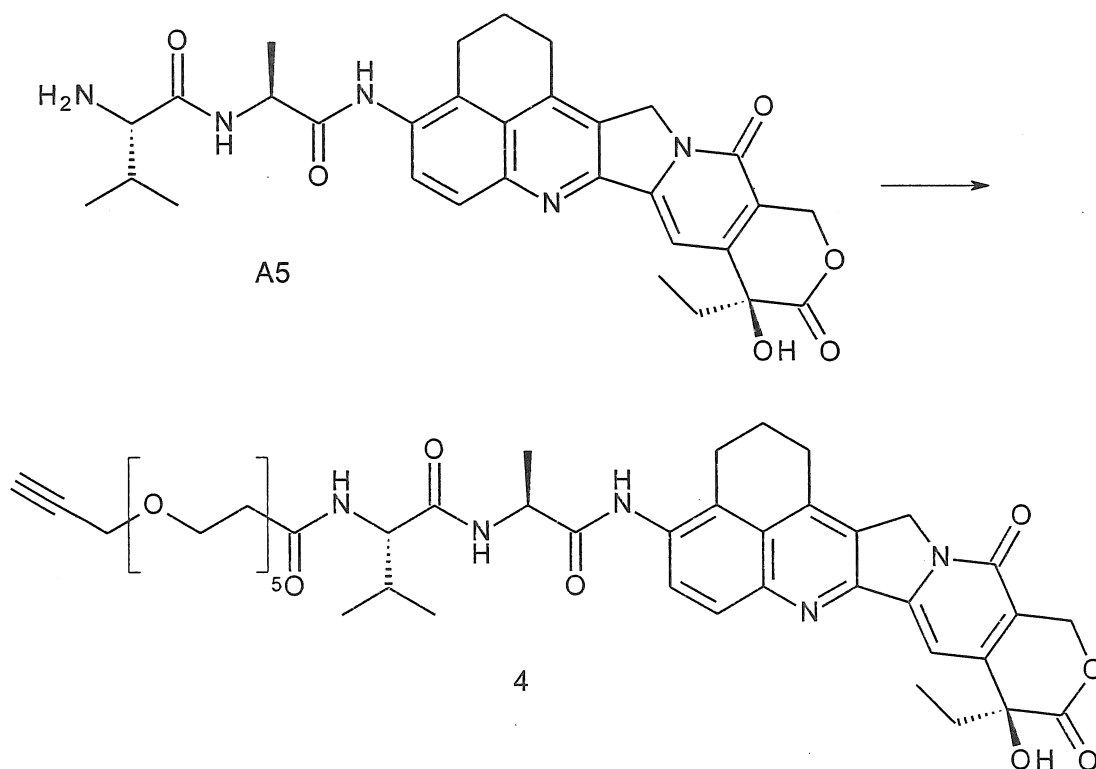
Ví dụ 3



(S)-2-(2-(2-(2-(2-azidoethoxy)ethoxy)ethoxy)acetamido)-N-((S)-1-(((S)-9-ethyl-9-hydroxy-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahydro-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)-3-methylbutanamide (3)

Bổ sung azido-dPEG₃-axit (77,5 mg, 0,31 mMol) và EDCI.HCl (60 mg, 0,31 mMol) vào dung dịch của A5 thô (giả định 0,31 mMol) trong CH₂Cl₂ khô (20 ml) dưới khí quyển argon. Khuấy phản ứng qua đêm và khi phản ứng chưa hoàn thành, bổ sung 0,5 đương lượng nữa của azido-dPEG₃-OH và EDCI.HCl. Pha loãng phản ứng bằng CH₂Cl₂ (25 ml) và rửa pha hữu cơ bằng H₂O (2 x 50 ml) và nước muối trước khi làm khô trên MgSO₄, lọc và loại bỏ dung môi dư bằng cách bay hơi quay dưới áp suất giảm bằng cách bay hơi quay dưới áp suất giảm. Tinh chế chất thô bằng HPLC điều chế và làm khô lạnh các phân đoạn để thu được 3 tinh khiết (92,2 mg, hiệu suất 24,7% qua 2 bước). LC/MS (Phương pháp B): ES⁺ = 1,69 phút, m/z 789,9 [M + H]⁺. LC/MS (Phương pháp C): ES⁺ = 6,68 phút, m/z 790,0 [M + H]⁺.

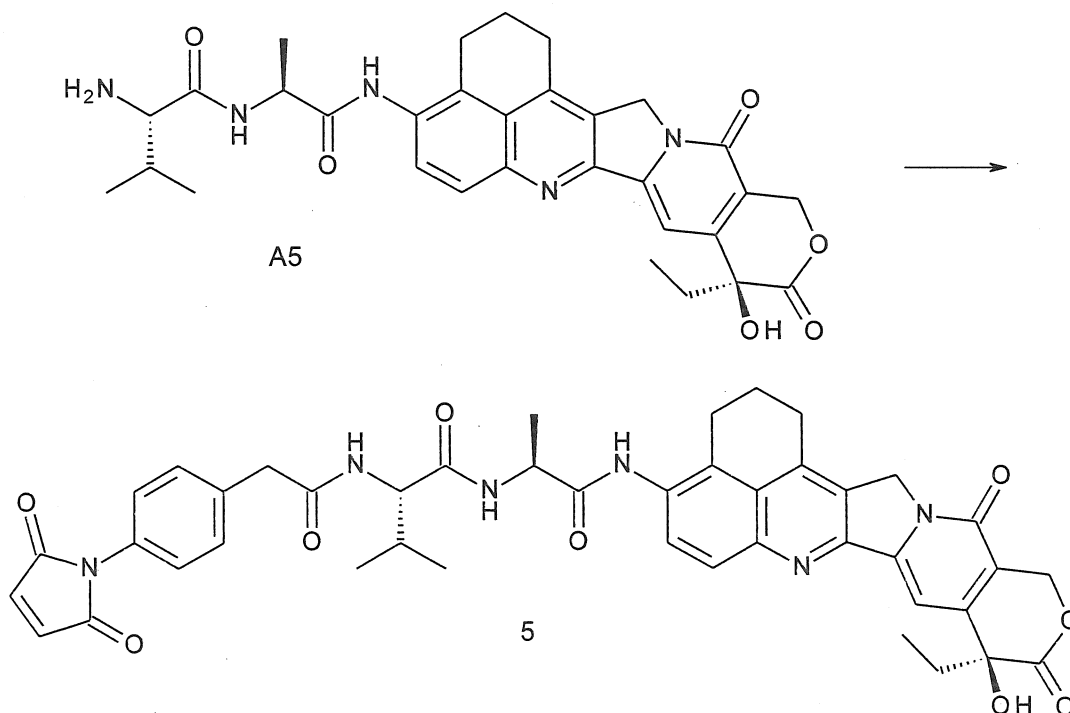
Ví dụ 4



N-((S)-1-(((S)-1-(((S)-9-ethyl-9-hydroxy-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahydro-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)amino)-3-metyl-1-oxobutan-2-yl)-4,7,10,13,16-pentaoxanonadec-18-ynamit (4)

Bổ sung propargyl-dPEG₅-axit (56 mg, 0,19 mMol) và EDCI.HCl (37 mg, 0,19 mMol) vào dung dịch của chất thô A5 (giả định 0,19 mMol) trong CH₂Cl₂ khô (10 ml) dưới khí quyển argon. Khuấy phản ứng qua đêm và khi phản ứng chưa hoàn thành, bổ sung 0,5 đương lượng nữa của Propargyl-dPEG₅-OH và EDCI.HCl. Pha loãng phản ứng bằng CH₂Cl₂ (25 ml) và rửa pha hữu cơ bằng H₂O (2 x 50 ml) và nước muối trước khi làm khô trên MgSO₄, lọc và loại bỏ dung môi dư bằng cách bay hơi quay dưới áp suất giảm bằng cách bay hơi quay dưới áp suất giảm. Tinh chế chất thô bằng HPLC điều chế và làm khô lạnh các phân đoạn để thu được 4 tinh khiết (22 mg, hiệu suất 16,7% qua 2 bước). LC/MS (Phương pháp B): ES⁺ = 1,54 phút, m/z 860,9 [M + H]⁺. LCMS (Phương pháp C): ES⁺ = 5,57 phút, m/z 860,9 [M + H]⁺.

Ví dụ 5

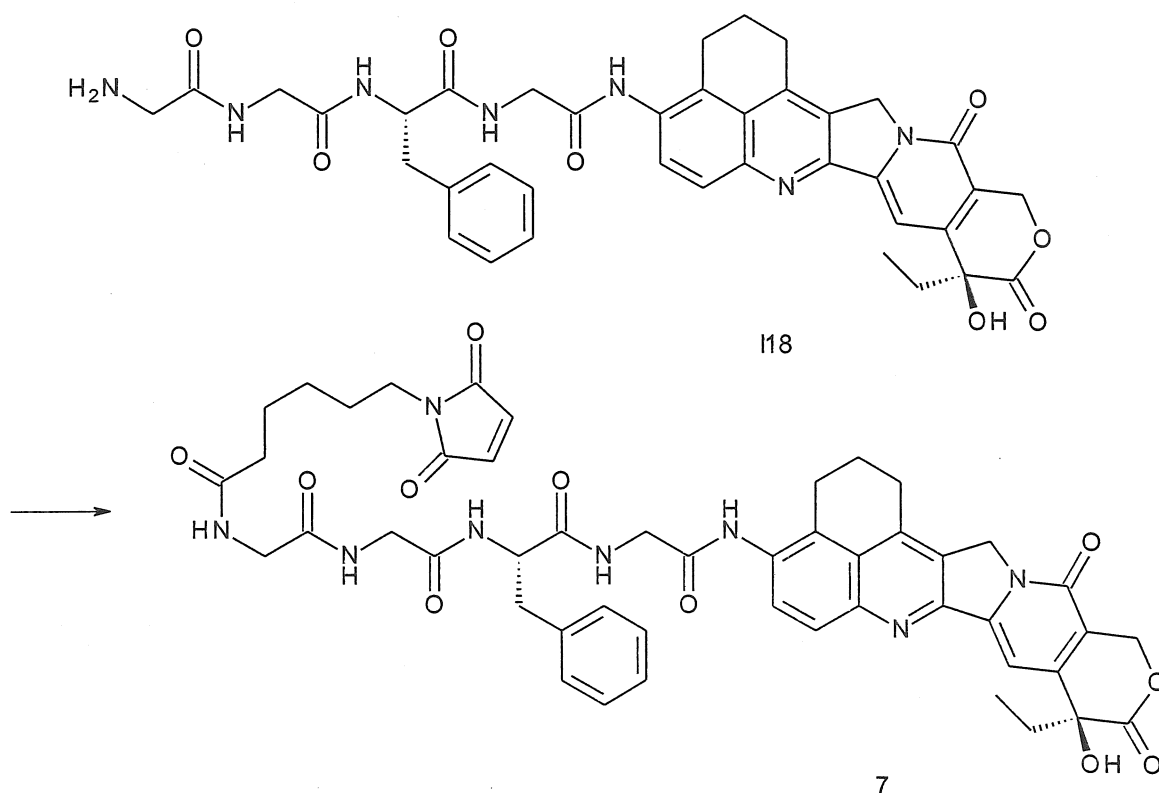


(S)-2-(2-(4-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-yl)phenyl)acetamido)-N-((S)-1-(((S)-9-ethyl-9-hydroxy-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahydro-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)-3-methylbutanamid (5)

Bổ sung PM-axetic-OSu (64 mg, 0,19 mMol) vào dung dịch của A5 thô (giả định 0,19 mMol) trong CH_2Cl_2 khô (10 ml) dưới khí quyển argon. Phản ứng không tiếp diễn nên bổ sung DIPEA (51 μl , 0,28 mMol). Khuấy phản ứng đến khi hoàn thành. Pha loãng hỗn hợp với CH_2Cl_2 (25 ml) và rửa pha hữu cơ bằng H_2O (2 x 50 ml) và nước muối trước khi làm khô trên MgSO_4 , lọc và loại bỏ dung môi dư bằng cách bay hơi quay dưới áp suất giảm bằng cách bay hơi quay dưới áp suất giảm. Tinh chế chất thô bằng HPLC điều chế và làm khô lạnh các phân đoạn để thu được 5 tinh khiết (2,5 mg, hiệu suất 1,6% qua 2 bước). LC/MS (Phương pháp B): $\text{ES}^+ = 1,54$ phút, m/z 787,7 $[\text{M} + \text{H}]^+$. LC/MS (Phương pháp C): $\text{ES}^+ = 5,61$ phút, m/z 787,8 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

(ii) Hòa tan (S)-4-amino-9-ethyl-9-hydroxy-1,2,3,9,12,15-hexahydro-10H,13H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-10,13-dion (I11) (43 mg, 0,09026 mmol, 1,0 đương lượng) trong diclometan (2 ml), N,N-diisopropyletylamin (42 μ l, 0,241 mmol, 2,7 đương lượng) và pyridin (25 μ l, 0,309 mmol, 3,4 đương lượng). Bỏ sung hỗn hợp phản ứng từ bước (i) và khuấy hỗn hợp trong thời gian 30 phút, sau đó thì LCMS chỉ ra phản ứng đã hoàn thành. Cô hỗn hợp phản ứng trong chân không và tinh chế bằng sắc ký isolera (MeOH 0-4% trong CH₂Cl₂) để thu được 6 (22 mg, 0,03256 mmol, Hiệu suất 36%, QC = 96,8%) dưới dạng chất rắn màu vàng. LC/MS (Phương pháp B): RT = 1,86 phút, 676,6 [M+H]⁺.

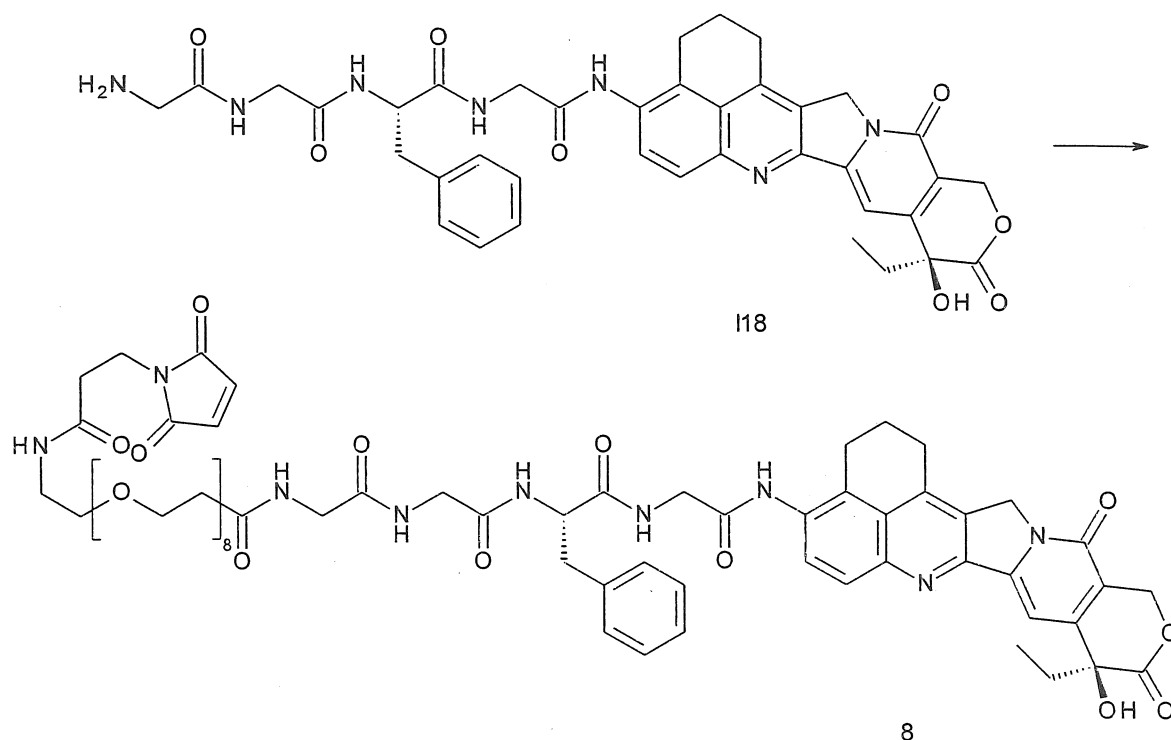
Ví dụ 7



6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-yl)-N-(2-((2-(((S)-1-((2-(((S)-9-ethyl-9-hydroxy-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahydro-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl)amino)-2-oxoethyl)amino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino)-2-oxoethyl)amino)-2-oxoethyl)hexanamid (7)

Hòa tan hợp chất 118 (259 mg, 0,3588 mmol) trong CH_2Cl_2 (25 ml). Nguyên liệu bắt đầu không tan hết do đó bổ sung DMA (1 ml). Vì không quan sát thấy sự cải thiện, bổ sung DIPEA (68 μl , 0,390 mmol) và tất cả chất rắn đi vào trong dung dịch. Bổ sung axit maleimic caproic (69 mg, 0,358 mmol) và để hỗn hợp có khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm và thời điểm mà phân tích LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành. Dập tắt hỗn hợp phản ứng bằng MeOH (2 ml) và hút chân không đến khô. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC điều chế và tiếp đó làm khô lạnh để thu được hợp chất 7 dưới dạng chất rắn màu nâu vàng nhạt (38,2 mg, hiệu suất 11%). Dữ liệu phân tích: LCMS 3phút: $\text{ES}^+ = 1,47$ phút, m/z 916,2 $[\text{M} + \text{H}]^+$ LCMS 15phút: $\text{ES}^+ = 5,46$ phút, m/z 916,1 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

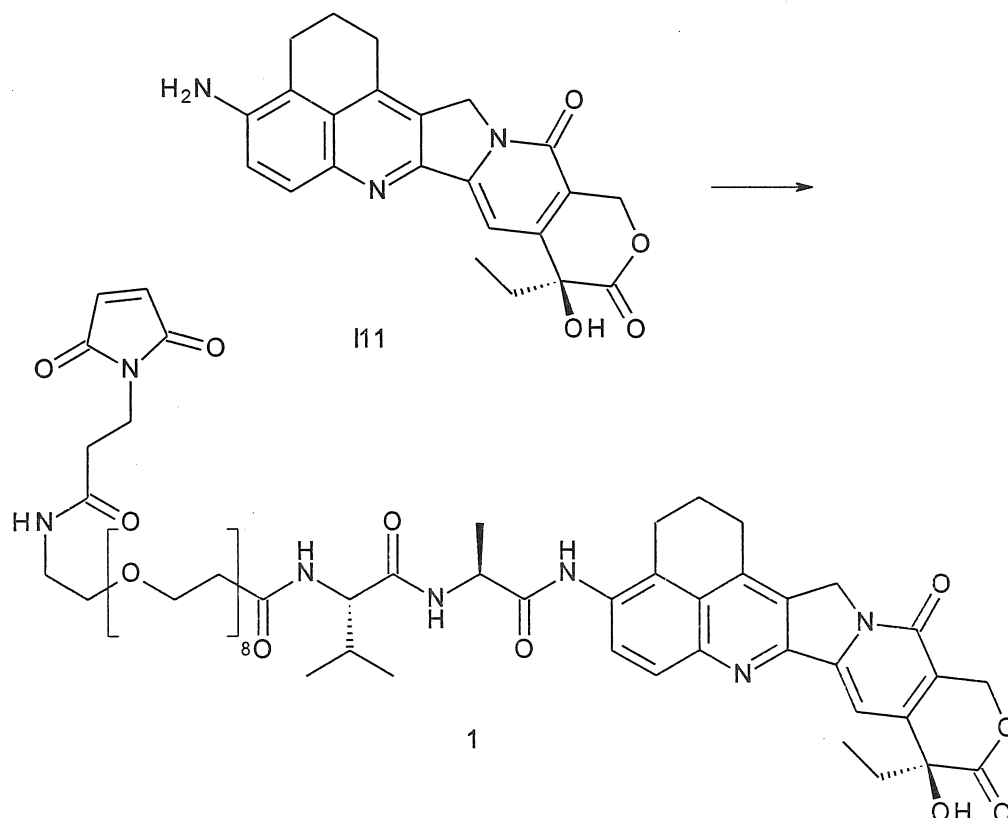
Ví dụ 8



1-(3-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-yl)propanamido)-N-(2-(((S)-1-((2-(((S)-9-ethyl-9-hydroxy-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahydro-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl)amino)-2-oxoethyl)amino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino)-2-oxoethyl)amino)-2-oxoethyl)-3,6,9,12,15,18,21,24-octaosaheptacosan-27-amit (8)

Hòa tan hợp chất 118 (70 mg, 0,096 mmol) trong CH_2Cl_2 (5 ml). Nguyên liệu bắt đầu không tan hết do đó bổ sung DMA (0,5 ml). Vì không quan sát thấy sự cải thiện, bổ sung DIPEA (19 μl , 0,106 mmol) và tất cả chất rắn đi vào trong dung dịch. Bổ sung Mal-dPEG₈-OH (63 mg, 0,106 mmol) và EDCI.HCl (19mg, 0,099 mMol) và để hỗn hợp có khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm và thời điểm mà phân tích LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành. Dập tắt hỗn hợp phản ứng bằng MeOH (2 ml) và hút chân không đến khô. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC điều chế và tiếp đó làm khô lạnh để thu được 8 dưới dạng chất rắn màu nâu vàng nhạt (30 mg, hiệu suất 24%). LCMS 3phút: $\text{ES}^+ = 1,44$ phút, m/z 1297,6 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

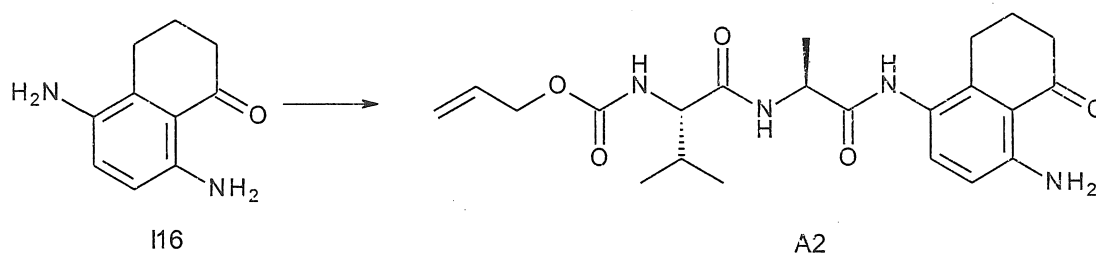
Ví dụ 9 - Phương pháp tổng hợp khác của 1



Hòa tan (S)-4-amino-9-ethyl-9-hydroxy-1,2,3,9,12,15-hexahydro-10H,13H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-10,13-dion I11 (371 mg, 0,779 mmol, 1,0 đương lượng) trong diclometan (30 ml). Bổ sung N,N-diisopropyletylamin (69 μ l, 0,396 mmol, 0,51 đương lượng), và axit (2S)-2-[[[(2S)-2-[3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[3-(2,5-dioxopyrrol-1-yl)propanoylamino]etoxy]etoxy]etoxy]etoxy]etoxy]etoxy]etoxy]propanoylamino]-3-metyl-butanoyl]amino]propanoic (664 mg, 0,871 mmol, 1,1 đương lượng) trong N,N-dimetylaxetamit (10 ml), sau đó là EDCI.HCl (226 mg, 1,18 mmol, 1,5 đương lượng) và khuấy hỗn hợp trong thời gian 2 giờ, sau đó thì LCMS chỉ ra sự biến đổi tốt, nhưng mà phản ứng đã ngừng lại. Làm ấm hỗn hợp phản ứng lên 30°C và khuấy trong thời gian 30 phút, LCMS chỉ ra không có sự thay đổi do đó loại bỏ CH_2Cl_2 trong chân không và bổ sung Et_2O vào dung dịch DMA thu được. Thu gom dầu đã kết tủa, loại bỏ Et_2O trong chân không và lặp lại quy trình kết tủa. Tinh chế các chất kết tủa kết hợp bằng HPLC (10-60% B trong A trong thời gian 13 phút) để thu được 1 (200 mg, 0,174 mmol, độ tinh khiết 98%, Hiệu suất 22%) dưới dạng phần cặn màu vàng sau khi làm khô lạnh. LC/MS (phương pháp A): thời gian lưu 1,44 phút (ES+) m/z 1149 $[\text{M} + \text{H}]^+$

^1H NMR (600 MHz, Chloroform- d) δ 8,81 (s, 1H), 7,83 (s, 2H), 7,48 (s, 1H), 7,18 (dd, $J = 18,7, 7,5$ Hz, 2H), 6,69 (s, 2H), 6,43 (s, 1H), 5,68 (d, $J = 16,1$ Hz, 1H), 5,27 (d, $J = 16,1$ Hz, 1H), 5,03 (d, $J = 18,4$ Hz, 1H), 4,90 (d, $J = 18,4$ Hz, 1H), 4,75 (p, $J = 7,2$ Hz, 1H), 4,32 (dd, $J = 7,4, 5,8$ Hz, 1H), 4,05 (s, 1H), 3,83 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H), 3,78 - 3,68 (m, 3H), 3,68 - 3,57 (m, 31H), 3,53 (t, $J = 5,1$ Hz, 3H), 3,40 (q, $J = 5,3$ Hz, 2H), 3,06 - 2,91 (m, 3H), 2,84 (dt, $J = 16,3, 6,2$ Hz, 1H), 2,63 (ddd, $J = 14,8, 8,5, 4,2$ Hz, 1H), 2,57 - 2,44 (m, 4H), 2,30 (dq, $J = 13,4, 6,7$ Hz, 1H), 2,10 (p, $J = 6,4$ Hz, 3H), 1,91 (ddt, $J = 16,8, 14,3, 7,2$ Hz, 3H), 1,54 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H), 1,02 (dd, $J = 15,5, 6,9$ Hz, 10H).

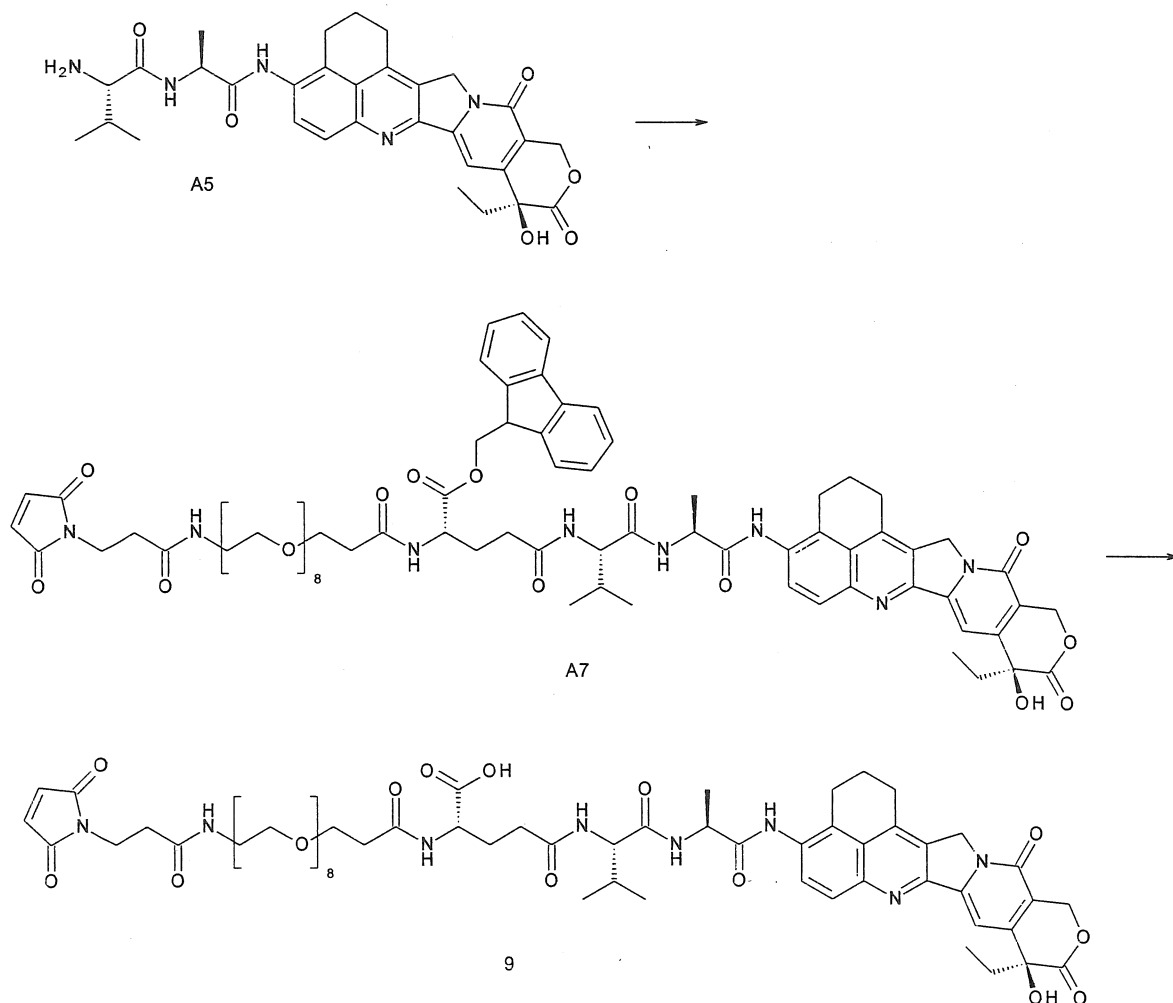
Ví dụ 10 - Phương pháp tổng hợp khác của A2



Alyl ((S)-1-(((S)-1-((4-amino-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-1-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)amino)-3-metyl-1-oxobutan-2-yl)carbamate (A2)

Bổ sung EDCI.HCl (7,71 g, 31,2 mMol) vào dung dịch của alloc-Val-Ala-OH (8,49 g, 31,2 mmol) trong CH_2Cl_2 (200 ml) và khuấy trong thời gian 15 phút hoặc đến khi hòa tan. Tiếp đó bổ sung 116 (5 g, 28,3 mMol) và để yên hỗn hợp thu được có khuấy đến khi phản ứng đã hoàn thành. Loại bỏ chất bay hơi dưới áp suất giảm. Hấp thụ sản phẩm thô trong Et_2O (50 ml) và nghiền siêu âm hỗn hợp trong thời gian 3 phút. Lọc chất rắn và hấp thụ lại trong CH_2Cl_2 (50 ml), nghiền siêu âm trong thời gian 3 phút và lọc lại để thu được sản phẩm tinh khiết A2 dưới dạng chất rắn màu xám (12,21 g, hiệu suất 79%). LC/MS (Phương pháp B): $\text{ES}^+ = 1,47$ phút, m/z 431,5 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Ví dụ 11



a) (9H-fluoren-9-yl)methyl N2-(1-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-yl)-3-oxo-7,10,13,16,19,22,25,28-octaoxa-4-azahentriacontan-31-oyl)-N5-((S)-1-(((S)-1-(((S)-9-ethyl-9-hydroxy-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahydro-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)amino)-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-L-glutaminat (A7)

Bổ sung EDCI.HCl (0,10 mmol, 1,2 đương lượng) vào dung dịch của A5 (0,087 mmol, 1,0 đương lượng) và Mal-PEG₈-Glu-OH (0,10 mmol, 1,2 đương lượng) trong DCM (5 ml) và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô và tinh chế bằng cột (MeOH/DCM 8-12%) để lại sản phẩm dưới dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất = 80 mg (63%). LC/MS (Phương pháp B) rt 1,66 phút m/z (1456,2) M+H.

b) N2-(1-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-yl)-3-oxo-7,10,13,16,19,22,25,28-octaoxa-4-azahentriacontan-31-oyl)-N5-((S)-1-(((S)-1-(((S)-9-ethyl-9-hydroxy-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahydro-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-

b]quinolin-4-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)amino)-3-metyl-1-oxobutan-2-yl)-L-glutamin
(9)

Bổ sung 1-metylpyrrolidin (200 μ l) vào dung dịch của A7 (0,06 mmol) trong DMF (0,8 ml) và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 10 phút. Loại bỏ dung môi dưới chân không và tinh chế phân cận bằng HPLC điều chế (MeCN/nước 30% + axit formic 0,05% trong thời gian 8,5 phút). Làm khô lạnh các phân đoạn chứa sản phẩm để thu được sản phẩm dưới dạng chất rắn màu trắng nhờ. Hiệu suất = 23 mg (30%). LC/MS (Phương pháp B) rt 1,43 phút m/z (1278,4) M+H.

Ví dụ 12 - Tiếp hợp

Kháng thể herceptin-C239i

Thiết kế kháng thể herceptin để có xystein được cài xen giữa các vị trí 239 và 240 được tạo ra theo phương pháp được mô tả trong Dimasi, N., et al., Molecular Pharmaceutics, 2017, 14, 1501-1516 (DOI: 5 10.1021/acs.molpharmaceut.6b00995).

ConjA

Bổ sung dung dịch 50 mM của DL-dithiothreitol (DTT) trong nước muối đệm photphat độ pH 7,4 (PBS) (150 đương lượng mol/kháng thể, 40 micromol, 800 μ l) vào 10 ml dung dịch của kháng thể herceptin-C239i (40 mg, 267 nanomol) trong chất đệm khử chứa PBS và axit etylendiamintetraaxetic (EDTA) 1 mM và nồng độ kháng thể cuối cùng bằng 4,0 mg/ml. Để cho hỗn hợp khử phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 4 giờ 45 phút (hoặc đến khi quan sát thấy sự khử hoàn toàn bằng UHPLC) trong máy lắc quỹ đạo với lắc nhẹ nhàng (60 vòng/phút). Trao đổi chất đệm cho kháng thể đã khử, thông qua ly tâm lọc quay, vào chất đệm tái oxy hóa chứa PBS và EDTA 1 mM để loại bỏ tất cả được chất khử dư. Bổ sung dung dịch 50 mM của axit dehydroascorbic (DHAA, 20 đương lượng mol/kháng thể, 5,33 micromol, 106,7 μ l) trong DMSO và để cho hỗn hợp tái oxy hóa phản ứng trong thời gian 16 giờ ở nhiệt độ trong phòng với lắc nhẹ nhàng (60 vòng/phút) ở nồng độ kháng thể bằng 4 mg/ml (hoặc bổ sung thêm DHAA và để phản ứng một thời gian nữa đến khi quan sát thấy sự tái oxy hóa hoàn toàn của xystein thiol để tái tạo thành xystein disulfua giữa các chuỗi bằng UHPLC). Sau đó lọc tiệt trùng hỗn hợp tái oxy hóa và pha loãng trong chất đệm tiếp hợp chứa PBS và EDTA 1 mM đối với nồng độ kháng thể cuối cùng bằng 3,6 mg/ml. Bổ sung Hợp chất 1 dưới dạng dung dịch DMSO (10 đương lượng mol/kháng thể, 1,33 micromol, trong 0,55 ml DMSO) vào

5,0 ml dung dịch kháng thể đã được tái oxy hóa này (20 mg, 133 nanomol) đối với nồng độ DMSO cuối cùng 10% (thể tích/thể tích). Trộn dung dịch trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng, sau đó đập tắt sự tiếp hợp bằng cách bổ sung N-acetyl cystein (6,67 micromol, 67 μ l ở 100 mM), sau đó tinh chế bằng cách lọc quay vào PBS bằng cách sử dụng bộ lọc quay Amicon Ultracell 30 kDa MWCO 15 ml, lọc tiệt trùng và phân tích.

Phân tích UHPLC trên hệ thống Shimadzu Prominence bằng cách sử dụng cột Thermo Scientific MAbPac 50 mm x 2,1 mm rửa giải với gradien của nước và axetonitril trên mẫu đã khử của ConjA ở 214 nm và 330 nm (đặc hiệu Hợp chất 1) thể hiện các chuỗi nhẹ không tiếp hợp và hỗn hợp của các chuỗi nặng không tiếp hợp và các chuỗi nặng được gắn vào phân tử đơn lẻ của Hợp chất 1, thống nhất với tỷ lệ thuốc với kháng thể (DAR) của 1,89 phân tử của Hợp chất 1 trong mỗi kháng thể.

Phân tích UHPLC trên hệ thống Shimadzu Prominence bằng cách sử dụng cột Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μ m 4,6 x 150 mm (với cột chắn 4 μ m 3,0 x 20 mm) rửa giải với chất đệm SEC được lọc tiệt trùng 0,3 ml/phút chứa kali photphat 200 mM độ pH 6,95, kali clorua 250 mM và isopropanol 10% (thể tích/thể tích) trên mẫu của ConjA ở 280 nm thể hiện độ tinh khiết monome bằng 98%. Phân tích UHPLC SEC tạo ra nồng độ của ConjA cuối cùng ở 2,14 mg/ml trong 6,5 ml, thu được khối lượng của ConjA là 13,9 mg (hiệu suất 70%).

ConjA*

Bổ sung dung dịch 10 mM của Tris(2-carboxyetyl)phosphin (TCEP) trong nước muối đệm photphat pH 7,4 (PBS) (10 đương lượng mol/kháng thể, 400 nanomol, 40 μ l) vào 2,4 ml dung dịch của kháng thể Tratzumab (6 mg, 40 nanomol) trong chất đệm khử chứa PBS và axit etylenđiamintetraaxetic (EDTA) 1 mM và nồng độ kháng thể cuối cùng bằng 2,5 mg/ml. Để cho hỗn hợp khử phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 16 giờ (hoặc đến khi quan sát thấy sự khử hoàn toàn bằng UHPLC) trong máy lắc quỹ đạo với lắc nhẹ nhàng (60 vòng/phút). Trao đổi chất đệm cho kháng thể đã khử dung dịch (để loại bỏ tất cả dư thừa chất khử), thông qua ly tâm lọc quay, vào chất đệm tiếp hợp chứa PBS và EDTA 1 mM đối với nồng độ kháng thể cuối cùng bằng 2,0 mg/ml. Bổ sung Hợp chất 1 dưới dạng dung dịch DMSO (20 đương lượng mol/kháng thể, 400 nanomol, trong 0,15 ml DMSO) vào 1,35 ml của dung dịch kháng thể đã được khử này (3 mg, 20 nanomol) đối với nồng độ DMSO cuối cùng 10% (thể tích/thể tích). Trộn dung dịch

trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng, sau đó dập tắt sự tiếp hợp bằng cách bổ sung N-acetyl cystein (2 micromol, 20 μ l ở 100 mM), sau đó tinh chế thông qua ly tâm lọc quay bằng cách sử dụng bộ lọc quay Amicon Ultracell 30KDa MWCO 15ml, lọc tiệt trùng và phân tích.

Phân tích UHPLC trên hệ thống Shimadzu Prominence bằng cách sử dụng cột Thermo Scientific MAbPac 50 mm x 2,1 mm rửa giải với gradien của nước và axetonitril trên mẫu đã khử của ConjA* ở 214 nm và 330 nm (đặc hiệu Hợp chất 1) thể hiện hỗn hợp của các chuỗi nhẹ không tiếp hợp, các chuỗi nhẹ được gắn vào phân tử đơn lẻ của Hợp chất 1, các chuỗi nặng không tiếp hợp và các chuỗi nặng được gắn vào lên đến ba phân tử của Hợp chất 1, thống nhất với tỷ lệ thuốc với kháng thể (DAR) bằng 7,89 phân tử của Hợp chất 1 trong mỗi kháng thể.

Phân tích UHPLC trên hệ thống Shimadzu Prominence bằng cách sử dụng cột Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μ m 4,6 x 150 mm (với cột chắn 4 μ m 3,0 x 20 mm) rửa giải với chất đệm SEC được lọc tiệt trùng 0,3 ml/phút chứa kali photphat 200 mM độ pH 6,95, kali clorua 250 mM và isopropanol 10% (thể tích/thể tích) trên mẫu của ConjA* ở 280 nm thể hiện độ tinh khiết monome bằng 98,5%. Phân tích UHPLC SEC tạo ra nồng độ của ConjA* cuối cùng ở 2,02 mg/ml trong 1,25 ml, thu được khối lượng của ConjA* là 2,5 mg (hiệu suất 84%).

ConjB

Bổ sung dung dịch 10 mM của Tris(2-carboxyethyl)phosphin (TCEP) trong nước muối đệm photphat độ pH 7,4 (PBS) (10 đương lượng mol/kháng thể, 3,56 micromol, 356 μ l) vào 11,1 ml dung dịch của kháng thể Tratzumab (53,4 mg, 356 nanomol) trong chất đệm khử chứa PBS, độ pH 7,4 và axit etylenđiamintetraaxetic (EDTA) 1 mM và nồng độ kháng thể cuối cùng bằng 4,84 mg/ml. Để cho hỗn hợp khử phản ứng ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 1 giờ 30 phút (hoặc đến khi quan sát thấy sự khử hoàn toàn bằng UHPLC) trong máy lắc quỹ đạo với lắc nhẹ nhàng (60 vòng/phút). Bổ sung Hợp chất 2 dưới dạng dung dịch DMSO (15 đương lượng mol/kháng thể, 5,1 micromol, trong 1,2 ml DMSO) vào 10,5 ml của dung dịch kháng thể đã được khử này (50,8 mg, 339 nanomol) đối với nồng độ DMSO cuối cùng 10% (thể tích/thể tích). Trộn dung dịch trong thời gian 1 giờ 30 phút ở nhiệt độ trong phòng, sau đó dập tắt sự tiếp hợp bằng cách bổ sung N-acetyl cystein (25,4 micromol, 254 μ l ở 100 mM), sau đó tinh chế trên AKTA™ Start

FPLC bằng cách sử dụng cột GE Healthcare HiLoad™ 26/600 được đóng gói với Superdex 200 PG, rửa giải với 2,6 ml/phút PBS. Gộp các phân đoạn tương ứng với đỉnh monome ConjB, cô và trao đổi chất đệm vào chất đệm 25 mM Histidin 205 mM Sucroza độ pH 6,0 bằng cách sử dụng bộ lọc quay Amicon Ultracell 50KDa MWCO 15ml, lọc tiệt trùng và phân tích.

Phân tích UHPLC trên hệ thống Shimadzu Prominence bằng cách sử dụng cột Thermo Scientific MAbPac 50 mm x 2,1 mm rửa giải với gradien của nước và axetonitril trên mẫu đã khử của ConjB ở 214 nm và 330 nm (đặc hiệu Hợp chất 2) thể hiện hỗn hợp của các chuỗi nhẹ không tiếp hợp, các chuỗi nhẹ được gắn vào phân tử đơn lẻ của Hợp chất 2, các chuỗi nặng không tiếp hợp và các chuỗi nặng được gắn vào lên đến ba phân tử của Hợp chất 2, thống nhất với tỷ lệ thuốc với kháng thể (DAR) bằng 7,93 phân tử của Hợp chất 2 trong mỗi kháng thể.

Phân tích UHPLC trên hệ thống Shimadzu Prominence bằng cách sử dụng cột Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μ m 4,6 x 150 mm (với cột chắn 4 μ m 3,0 x 20 mm) rửa giải với chất đệm SEC được lọc tiệt trùng 0,3 ml/phút chứa kali photphat 200 mM độ pH 6,95, kali clorua 250 mM và isopropanol 10% (thể tích/thể tích) trên mẫu của ConjB ở 280 nm thể hiện độ tinh khiết monome bằng 98,9%. Phân tích UHPLC SEC tạo ra nồng độ của ConjB cuối cùng ở 2,4 mg/ml trong 16 ml, thu được khối lượng của ConjB là 38,4 mg (hiệu suất 84%).

ConjC

Bổ sung dung dịch 10 mM của Tris(2-carboxyetyl)phosphin (TCEP) trong nước muối đệm photphat pH 7,4 (PBS) (40 đương lượng mol/kháng thể, 11,2 micromol, 1,12 ml) vào 20 ml dung dịch của kháng thể Herceptin-C239i (42 mg, 280 nanomol) trong chất đệm khử chứa PBS và axit etylendiamintetraaxetic (EDTA) 1 mM và nồng độ kháng thể cuối cùng bằng 2,1 mg/ml. Để cho hỗn hợp khử phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 16 giờ (hoặc đến khi quan sát thấy sự khử hoàn toàn bằng UHPLC) trong máy lắc quỹ đạo với lắc nhẹ nhàng (60 vòng/phút). Trao đổi chất đệm cho kháng thể đã khử, thông qua ly tâm lọc quay, vào chất đệm tái oxy hóa chứa PBS và EDTA 1 mM để loại bỏ tất cả được chất khử dư. Bổ sung dung dịch 50 mM của axit dehydroascorbic (DHAA, 30 đương lượng mol/kháng thể, 7,0 micromol, 141 μ l) trong DMSO vào 22 ml kháng thể đã trao đổi chất đệm đã được khử này (35,2 mg, 235 nanomol) và để cho hỗn

hợp tái oxy hóa phản ứng trong thời gian 2 giờ và 30 phút ở nhiệt độ trong phòng với lắc nhẹ nhàng (60 vòng/phút) ở nồng độ kháng thể bằng 1,6 mg/ml (hoặc bổ sung thêm DHAA và để phản ứng một thời gian nữa đến khi quan sát thấy sự tái oxy hóa hoàn toàn xystein thiol để tái tạo xystein disulfua giữa các chuỗi bằng UHPLC). Sau đó lọc tiệt trùng hỗn hợp tái oxy hóa. Bổ sung Hợp chất 6 dưới dạng dung dịch DMSO (20 đương lượng mol/kháng thể, 2,3 micromol, trong 1,36 ml DMSO) vào 11,0 ml dung dịch kháng thể đã được tái oxy hóa này (17,6 mg, 117 nanomol) điều chỉnh độ pH bằng 1,22 ml Natri Bicarbonat 1 M đối với nồng độ DMSO cuối cùng 10% (thể tích/thể tích) và natri bicarbonat 1 M 10% (thể tích/thể tích). Để cho dung dịch phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ với lắc nhẹ nhàng. Sau đó đập tắt sự tiếp hợp bằng cách bổ sung N-acetyl xystein (12 micromol, 117 μ l ở 100 mM), sau đó tinh chế và trao đổi chất đệm vào chất đệm 25 mM Histidin 205 mM Sucroza độ pH 6,0 bằng cách sử dụng bộ lọc quay Amicon Ultracell 50 kDa MWCO 15 ml, lọc tiệt trùng và phân tích.

Phân tích UHPLC trên hệ thống Shimadzu Prominence bằng cách sử dụng cột rửa giải Sepax Proteomix HIC Butyl-NP5 4,6 x 35 mm 5 μ m với gradien của chất đệm natri photphat 25 mM, amoni sulphat 1,5 M độ pH 7,4 và 20% axetonitril (thể tích/thể tích) trong chất đệm natri photphat 25 mM độ pH 7,4 trên mẫu nguyên vẹn của ConjC ở 214 nm và 330 nm (đặc hiệu Hợp chất 6) thể hiện kháng thể không được tiếp hợp và được tiếp hợp được gắn vào một hoặc hai phân tử của Hợp chất 6, thống nhất với tỷ lệ thuốc với kháng thể (DAR) bằng 1,42 phân tử của Hợp chất 6 trong mỗi kháng thể.

Phân tích UHPLC trên hệ thống Shimadzu Prominence bằng cách sử dụng cột Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μ m 4,6 x 150 mm (với cột chắn 4 μ m 3,0 x 20 mm) rửa giải với chất đệm SEC được lọc tiệt trùng 0,3 ml/phút chứa kali photphat 200 mM độ pH 6,95, kali clorua 250 mM và isopropanol 10% (thể tích/thể tích) trên mẫu của ConjC ở 280 nm thể hiện độ tinh khiết monome bằng 98%. Phân tích UHPLC SEC tạo ra nồng độ của ConjC cuối cùng ở 1,06 mg/ml trong 10,1 ml, thu được khối lượng của ConjC là 10,7 mg (hiệu suất 61%).

Ví dụ 13 - Thử nghiệm *in vitro*

Hòa tan nguyên liệu thử nghiệm rắn trong DMSO vào dung dịch dự trữ 2 mM, từ đó tạo ra tám dịch pha loãng theo dãy ở tỷ lệ 1:10 trong DMSO và lưu trữ ở nhiệt độ -20°C đến khi sử dụng.

Rửa tế bào NCI-N87 dính bằng D-PBS và tách ra bằng Trypsin-EDTA, sau đó xác định mật độ và khả năng sống tế bào trong hai bản sao bằng thử nghiệm loại trừ xanh Trypan bằng cách sử dụng máy đếm tế bào tự động (LUNA-II™). Pha loãng huyền phù tế bào đến 1×10^5 tế bào/ml trong môi trường sinh trưởng (RPMI 1640 với Glutamax + Huyết Thanh Thai Bò HyClone™ 10% (thể tích/thể tích)) và xoáy cuộn trước khi phân tán 2ml trong mỗi giếng vào đĩa polypropylen 3 ml tiệt trùng. Sau đó phân tán các dịch pha loãng đầu đạn vào các giếng thích hợp ở 10 µl/giếng và trộn bằng pipet lặp đi lặp lại. Đối với các giếng đối chứng phân tán 10 µl DMSO lên trên 2 ml huyền phù tế bào, và trộn kỹ. Sau đó chia phần phân ước 100µl của mỗi mẫu vào 2 giếng bản sao của vi đĩa 96 giếng phẳng tiệt trùng và ủ trong thiết bị ủ đã được khử khí CO₂ (5%) 37°C. Khi kết thúc khoảng thời gian ủ (7 ngày), đo khả năng sống tế bào bằng thử nghiệm One (MTS) trong nước CellTiter 96™, được phân tán ở 20µl/giếng và ủ trong thời gian 4 giờ ở nhiệt độ 37°C, CO₂ 5%. Sau đó đọc đĩa trên Máy Đọc Đĩa Nhiều Nhãn EnVision™ (Perkin Elmer) bằng cách sử dụng độ hấp thụ ở 490 nm.

Tính tỷ lệ phần trăm sống sót tế bào từ độ hấp thụ trung bình của 2 giếng bản sao đối với mỗi mẫu, so sánh với độ hấp thụ trung bình trong hai giếng đối chứng chỉ được xử lý bằng DMSO (100%). Xác định IC₅₀ bằng cách làm khớp mỗi bộ dữ liệu với đường cong đáp ứng liều lượng dạng xích ma với độ dốc biến đổi bằng cách sử dụng thuật toán ăn khớp đường cong không tuyến tính trên phần mềm GraphPad Prism (San Diego, CA).

Tất cả các thí nghiệm trong báo cáo này được thực hiện và được thử nghiệm trong ba thí nghiệm độc lập. Dữ liệu được báo cáo dưới dạng giá trị trung bình của ba bản sao độc lập.

	IC ₅₀ (nM)
I11	0,3854

Ví dụ 14 - Thử nghiệm *in vitro* ADC

Đo nồng độ và khả năng sống của tế bào từ bình thót cổ T75 dưới mức hợp lưu (độ hợp lưu 80-90%) bằng cách nhuộm màu xanh trypan, và đếm bằng cách sử dụng Máy Đếm Tế Bào Tự Động LUNA-II™. Pha loãng tế bào đến 2×10^5 /ml, phân tán (50 µl trong mỗi giếng) vào đĩa đáy phẳng 96 giếng.

Tạo ra dung dịch dự trữ (1 ml) của thể tiếp hợp được chất kháng thể (ADC) (20 µg/ml) bằng cách pha loãng ADC đã được tiệt trùng trong bộ lọc vào môi trường nuôi

cấy tế bào. Tạo ra tập hợp của các dịch pha loãng 8x 10 lần của ADC dự trữ trong đĩa 24 giếng bằng cách chuyển theo dãy 100 μ l vào 900 μ l của môi trường nuôi cấy tế bào. Phân tán dịch pha loãng ADC (50 μ l trong mỗi giếng) vào 4 giếng bản sao của đĩa 96 giếng, chứa 50 μ l huyền phù tế bào được cấy từ trước. Giếng đối chứng tiếp nhận 50 μ l môi trường nuôi cấy tế bào. Ủ đĩa 96 giếng chứa tế bào và ADC ở nhiệt độ 37°C trong thiết bị ủ đã khử khí CO₂ trong khoảng thời gian bọc lộ.

Khi kết thúc khoảng thời gian ủ, đo khả năng sống tế bào bằng thử nghiệm MTS. Phân tán MTS (Promega) (20 μ l trong mỗi giếng) vào mỗi giếng và ủ trong thời gian 4 giờ ở nhiệt độ 37°C trong thiết bị ủ đã khử khí CO₂. Đo độ hấp thụ của giếng ở 490 nm. Tính tỷ lệ phần trăm sống sót tế bào từ độ hấp thụ trung bình trong 4 giếng đã được xử lý bằng ADC so với độ hấp thụ trung bình trong 4 giếng không được xử lý đối chứng (100%). Xác định IC₅₀ từ dữ liệu đáp ứng liều lượng bằng cách sử dụng GraphPad Prism bằng cách sử dụng thuật toán ăn khớp đường cong không tuyến tính: đường cong đáp ứng liều lượng dạng xích ma với độ dốc biến đổi.

Thời gian ủ ADC là 4 ngày với MDA-MB-468 và 7 ngày đối với NCI-N87. Nuôi cấy MDA-MB-468 và NCI-N87 trong RPMI 1640 với Glutamax + Huyết Thanh Thai Bò HyClone™ 10% (thể tích/thể tích). NCI-N87 là dòng tế bào biểu hiện Her2 và MDA-MB-468 là dòng tế bào âm tính Her2.

EC ₅₀ (μ g/ml)	NCI-N87	MDA-MB-468
ConjA	0,1176	>10
ConjA*	0,01634	>10
ConjB	0,01857	>10
ConjC	0,1452	>10

Ví dụ 15 - Thử nghiệm *in vivo* ADC

Phương pháp và nguyên liệu

Chuột nhắt

Chuột nhắt suy giảm miễn dịch kết hợp nghiêm trọng cái (Fox Chase SCID™, CB17/Icr- Prkdcscid/IcoIcrCrl, Charles River) tám tuần tuổi có khối lượng cơ thể (BW) nằm trong khoảng từ 14,5 đến 20,0 gam vào Ngày 1 của nghiên cứu. Cho các chuột được ăn tùy thích nước (thảm thấu ngược, 1 phần triệu Cl), và Lab Diet™ Đã Cải Biến Và Chiếu Xạ NIH 31 gồm có 18,0% protein thô, 5,0% chất béo thô, và 5,0% chất xơ thô. Nhốt các chuột trong Enrich-o'cobs™ Laboratory Animal Bedding đã chiếu xạ trong

lồng vi cách ly tĩnh ở chu kỳ 12 giờ sáng ở nhiệt độ 20-22°C và độ ẩm 40-60%. CR Discovery Services đặc biệt tuân theo khuyến nghị của Hướng Dẫn Chăm Sóc Và Sử Dụng Động Vật Thí Nghiệm (Guide for Care and Use of Laboratory Animals) về nuôi nhốt, chăm sóc, quy trình phẫu thuật, quy định về thức ăn và nước uống, và chăm sóc thú y. Chương trình chăm sóc và sử dụng động vật ở CR Discovery Services được công nhận bởi Tổ Chức Đánh Giá Và Công Nhận Sự Chăm Sóc Động Vật Thí Nghiệm (Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International - AAALAC), mà đánh giá sự tuân thủ với tiêu chuẩn được chấp nhận về việc chăm sóc và sử dụng động vật thí nghiệm.

Nuôi cấy tế bào khối u

Nuôi cấy tế bào u lympho ung thư biểu mô dạ dày NCI-N87 người trong môi trường RPMI-1640 có bổ sung huyết thanh thai bò 10%, glutamin 2 mM, penixilin 100 đơn vị/ml, streptomycin sulfat 100 µg/ml và gentamicin 25 µg/ml. Cho tế bào sinh trưởng trong bình thoát cổ nuôi cấy mô trong thiết bị ủ đã được làm ẩm ở nhiệt độ 37°C, trong khí quyển của 5% CO₂ và 95% không khí.

Cấy ghép *in vivo* và sinh trưởng khối u

Thu hoạch tế bào NCI-N87 sử dụng để cấy ghép trong quá trình sinh trưởng phlog và tái tạo huyền phù trong nước muối đậm photphat (PBS) chứa Matrigel™ 50% (BD Biosciences). Vào ngày cấy ghép khối u, tiêm dưới da mỗi chuột thử nghiệm ở sườn phải với 1×10^7 tế bào (0,1 ml huyền phù tế bào), và theo dõi sự sinh trưởng khối u dưới dạng kích thước trung bình đạt đến khoảng giá trị đích từ 100 đến 150 mm³. Mười hai ngày sau, kí hiệu là Ngày 1 của nghiên cứu, phân loại các chuột theo kích thước khối u tính được vào mười bốn nhóm, bảy nhóm được chỉ định để đánh giá hiệu quả (n=10) và bảy nhóm được chỉ định để thu gom mẫu (n=3) mỗi nhóm gồm có các chuột có thể tích khối u riêng lẻ nằm trong khoảng từ 108 đến 172 mm³ và thể tích khối u trung bình theo nhóm bằng 120-124 mm³. Đo khối u ở hai kích thước bằng cách sử dụng thước kẹp, và tính thể tích bằng cách sử dụng công thức:

$$\text{Thể tích khối u (mm}^3\text{)} = (w^2 \times l)/2$$

trong đó w = chiều rộng và l = chiều dài, theo mm, của khối u. Có thể ước tính khối lượng khối u với giả thiết là 1 mg tương đương với 1 mm³ của thể tích khối u.

Dược chất

Lưu trữ ConjA* được bảo vệ khỏi ánh sáng ở nhiệt độ 4°C. Sử dụng PBS tiệt trùng để sử dụng liều lượng cho nhóm đối chứng tá được lỏng.

Điều trị

Vào ngày 1 của nghiên cứu, phân các chuột nhắt SCID cái mang mảnh ghép khác loại NCI-N87 đã được thiết lập vào các nhóm. Pha loãng phân phân ước của dung dịch dự trữ bằng PBS đến nồng độ thích hợp. Sử dụng dược chất này trong tĩnh mạch thông qua tiêm tĩnh mạch đuôi một lần vào Ngày 1. Thể tích liều lượng là 0,2 ml trong mỗi 20 gam của khối lượng cơ thể (10 ml/kg), và tăng tỷ lệ lên khối lượng cơ thể của mỗi con đơn lẻ.

Các chuột ở nhóm 1 tiếp nhận tá được lỏng PBS, và đóng vai trò làm nhóm đối chứng. Nhóm 2 tiếp nhận ConjA* ở 4 mg/kg.

Đo các khối u bằng cách sử dụng thước kẹp hai lần trong mỗi tuần, và giết chết êm ái mỗi con khi khối u của nó đạt thể tích cuối bằng 800 mm³ hoặc khi kết thúc nghiên cứu (Ngày 68), tùy theo thời điểm nào đến trước. Các chuột mà đi ra khỏi nghiên cứu vì điểm cuối thể tích khối u được ghi trong tài liệu dưới dạng bị giết chết êm ái vì sự tiến triển khối u (TP), với ngày giết chết êm ái.

Tiêu chuẩn đối với đáp ứng thoái lui

Hiệu quả điều trị có thể được xác định từ tỷ lệ mắc mới và độ lớn của đáp ứng thoái lui quan sát được trong quá trình nghiên cứu. Việc điều trị có thể gây ra sự thoái lui một phần (PR) hoặc sự thoái lui hoàn toàn (CR) của khối u ở con vật. Trong đáp ứng PR, thể tích khối u bằng 50% hoặc ít hơn của thể tích Ngày 1 của nó đối với ba kết quả đo liên tiếp trong khoảng thời gian nghiên cứu, và bằng hoặc lớn hơn 13,5 mm³ đối một hoặc nhiều trong số ba kết quả đo này. Trong đáp ứng CR, thể tích khối u nhỏ hơn 13,5 mm³ đối với ba kết quả đo liên tiếp trong khoảng thời gian nghiên cứu. Các chuột được tính điểm chỉ một lần trong quá trình nghiên cứu đối với sự kiện PR hoặc CR và chỉ CR nếu cả hai tiêu chuẩn PR và CR được đáp ứng. Con vật với đáp ứng CR khi kết thúc nghiên cứu được phân loại thêm là đối tượng sống sót không có khối u (tumor-free survivor - TFS). Các chuột được theo dõi về đáp ứng thoái lui.

Độc tính

Các chuột được cân hàng ngày vào các Ngày 1-5, sau đó hai lần trong mỗi tuần đến khi hoàn thành nghiên cứu. Các chuột được quan sát thường xuyên về các dấu hiệu hiển nhiên của tác dụng phụ liên quan đến việc điều trị (TR), có hại bất kỳ, và các dấu hiệu lâm sàng được ghi nhận khi quan sát được. Khối lượng cơ thể riêng lẻ được theo dõi theo quy trình, và con vật bất kỳ có sự giảm khối lượng vượt quá 30% đối với một kết quả đo hoặc vượt quá 25% đối với ba kết quả đo liên tiếp bị giết chết êm ái dưới dạng chết TR. Sự giảm khối lượng cơ thể trung bình theo nhóm cũng được theo dõi theo quy trình CR Discovery Services. Độ tính chấp nhận được được định nghĩa dưới dạng sự mất khối lượng cơ thể (BW) trung bình theo nhóm nhỏ hơn 20% trong quá trình nghiên cứu và không lớn hơn 10% ca chết TR.

Kết quả

Fig.1 thể hiện đồ thị của sự phát triển khối u trung bình trong đó:

Tả được lông	●
ConjA*	◆

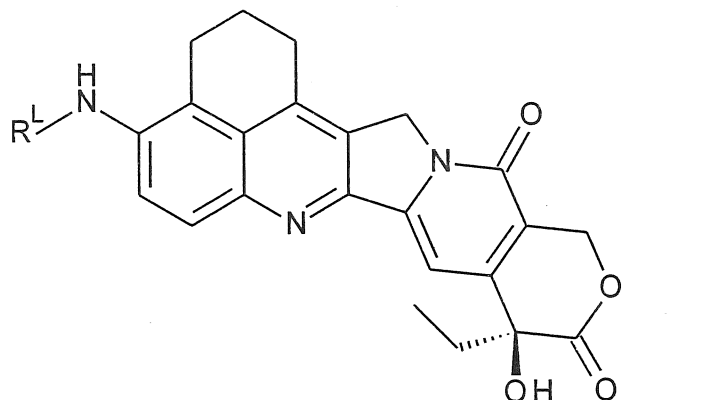
Các chuột ở nhóm 1 tiếp nhận tá dược lỏng PBS trong tĩnh mạch qd x 1 và đóng vai trò làm nhóm đối chứng. TTE trung vị đối với nhóm 1 là 24,8 ngày. Tất cả các khối u đối chứng đạt đến điểm cuối 800 mm³.

Nhóm 2 tiếp nhận ConjA* ở 4 mg/kg trong tĩnh mạch qd x 1. CR được quan sát được ở tất cả 10 chuột được phân loại thêm là TFS khi kết thúc nghiên cứu.

Trong nhóm điều trị điểm thấp nhất của khối lượng cơ thể là -9,5% vào ngày 50 của nghiên cứu. Không có sự chết TR được quan sát thấy.

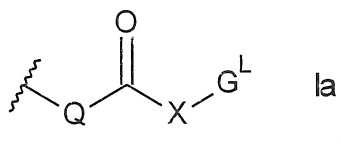
Các phương án bổ sung

1. Hợp chất có công thức I:



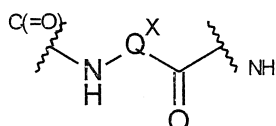
và muối và solvat của nó, trong đó R^L là gốc liên kết để nối với đơn vị phối tử, được chọn từ

(ia):



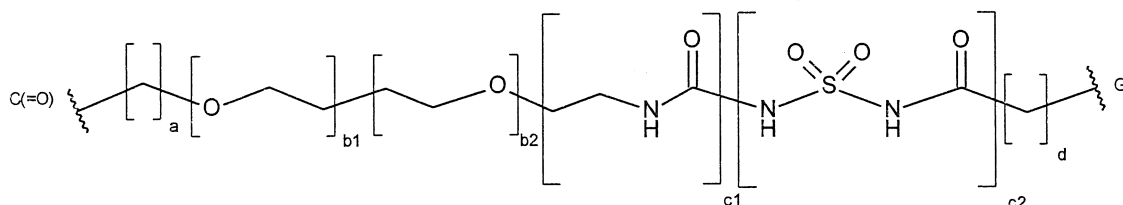
trong đó

Q là:



, trong đó Q^X là nhóm sao cho Q là gốc axit amin, gốc dipeptit, gốc tripeptit hoặc gốc tetrapeptit;

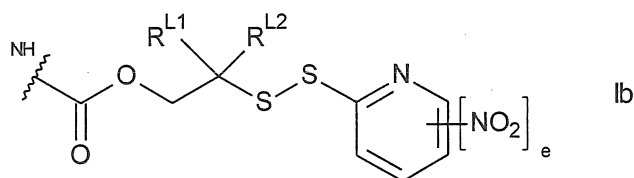
X là:



trong đó $a =$ từ 0 đến 5, $b_1 =$ từ 0 đến 16, $b_2 =$ từ 0 đến 16, $c_1 = 0$ hoặc 1, $c_2 = 0$ hoặc 1, $d =$ từ 0 đến 5, trong đó ít nhất nếu b_1 hoặc $b_2 = 0$ và ít nhất nếu c_1 hoặc $c_2 = 0$;

G^L là gốc liên kết để nối với đơn vị phối tử;

(ib):



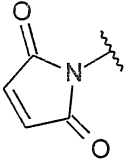
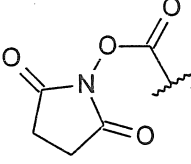
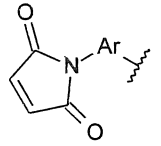
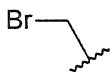
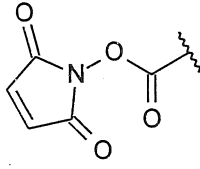
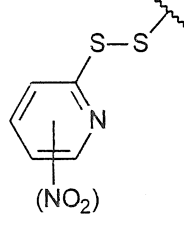
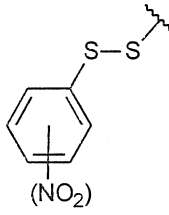
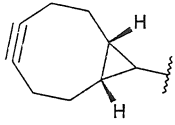
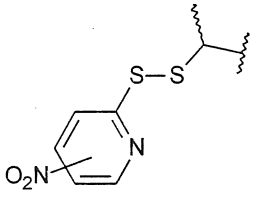
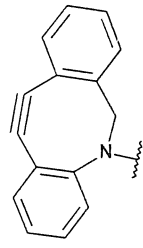
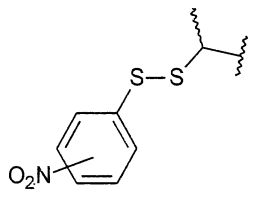
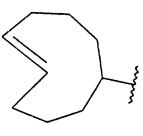
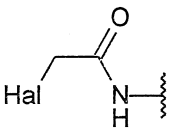
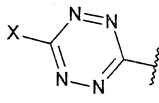
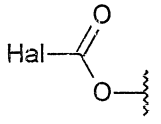
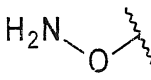
trong đó R^{L1} và R^{L2} độc lập được chọn từ H và metyl, hoặc cùng với nguyên tử carbon mà chúng liên kết với tạo thành nhóm xyclopropylen hoặc xyclobutylen ; và

e bằng 0 hoặc 1.

2. Hợp chất theo phương án 1, trong đó R^L có công thức Ia.
3. Hợp chất theo phương án 2, trong đó Q là gốc axit amin.
4. Hợp chất theo phương án 3, trong đó Q được chọn từ Phe, Lys, Val, Ala, Cit, Leu, Ile, Arg, và Trp.
5. Hợp chất theo phương án 2, trong đó Q là gốc dipeptit.
6. Hợp chất theo phương án 5, trong đó Q được chọn từ $^{NH}\text{-Phe-Lys-C(=O)}$, $^{NH}\text{-Val-Ala-C(=O)}$, $^{NH}\text{-Val-Lys-C(=O)}$, $^{NH}\text{-Ala-Lys-C(=O)}$, $^{NH}\text{-Val-Cit-C(=O)}$, $^{NH}\text{-Phe-Cit-C(=O)}$, $^{NH}\text{-Leu-Cit-C(=O)}$, $^{NH}\text{-Ile-Cit-C(=O)}$, $^{NH}\text{-Phe-Arg-C(=O)}$, $^{NH}\text{-Trp-Cit-C(=O)}$, và $^{NH}\text{-Gly-Val-C(=O)}$.
7. Hợp chất theo phương án 6, trong đó Q được chọn từ $^{NH}\text{-Phe-Lys-C(=O)}$, $^{NH}\text{-Val-Cit-C(=O)}$ và $^{NH}\text{-Val-Ala-C(=O)}$.
8. Hợp chất theo phương án 2, trong đó Q là gốc tripeptit.
9. Hợp chất theo phương án 8, trong đó Q được chọn từ $^{NH}\text{-Glu-Val-Ala-C(=O)}$, $^{NH}\text{-Glu-Val-Cit-C(=O)}$, $^{NH}\text{-}\alpha\text{Glu-Val-Ala-C(=O)}$, và $^{NH}\text{-}\alpha\text{Glu-Val-Cit-C(=O)}$.
10. Hợp chất theo phương án 2, trong đó Q là gốc tetrapeptit.
11. Hợp chất theo phương án 10, trong đó Q được chọn từ $^{NH}\text{-Gly-Gly-Phe-Gly-C(=O)}$; và $^{NH}\text{-Gly-Phe-Gly-Gly-C(=O)}$.
12. Hợp chất theo phương án 11, trong đó Q là $^{NH}\text{-Gly-Gly-Phe-Gly-C(=O)}$.
13. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 2 đến 12, trong đó a nằm trong khoảng từ 0 đến 3.
14. Hợp chất theo phương án 13, trong đó a bằng 0 hoặc 1.

15. Hợp chất theo phương án 13, trong đó a bằng 0.
16. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 2 đến 15, trong đó b1 nằm trong khoảng từ 0 đến 8.
17. Hợp chất theo phương án 16, trong đó b1 bằng 0.
18. Hợp chất theo phương án 16, trong đó b1 bằng 2.
19. Hợp chất theo phương án 16, trong đó b1 bằng 3.
20. Hợp chất theo phương án 16, trong đó b1 bằng 4.
21. Hợp chất theo phương án 16, trong đó b1 bằng 5.
22. Hợp chất theo phương án 16, trong đó b1 bằng 8.
23. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 2 đến 15 và 17, trong đó b2 nằm trong khoảng từ 0 đến 8.
24. Hợp chất theo phương án 23, trong đó b2 bằng 0.
25. Hợp chất theo phương án 23, trong đó b2 bằng 2.
26. Hợp chất theo phương án 23, trong đó b2 bằng 3.
27. Hợp chất theo phương án 23, trong đó b2 bằng 4.
28. Hợp chất theo phương án 23, trong đó b2 bằng 5.
29. Hợp chất theo phương án 23, trong đó b2 bằng 8.
30. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 2 đến 29, trong đó c1 bằng 0.
31. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 2 đến 29, trong đó c1 bằng 1.
32. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 2 đến 31, trong đó c2 bằng 0.
33. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 2 đến 30, trong đó c2 bằng 1.
34. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 2 đến 33, trong đó d nằm trong khoảng từ 0 đến 3.

35. Hợp chất theo phương án 34, trong đó d bằng 1 hoặc 2.
36. Hợp chất theo phương án 34, trong đó d bằng 2.
37. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 2 đến 33, trong đó d bằng 5.
38. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 2 đến 12, trong đó a bằng 0, b1 bằng 0, c1 bằng 1, c2 bằng 0 và d bằng 2, và b2 nằm trong khoảng từ 0 đến 8.
39. Hợp chất theo phương án 38, trong đó b2 bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.
40. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 2 đến 12, trong đó a bằng 1, b2 bằng 0, c1 bằng 0, c2 bằng 0 và d bằng 0, và b1 nằm trong khoảng từ 0 đến 8.
41. Hợp chất theo phương án 40, trong đó b1 bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.
42. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 2 đến 12, trong đó a bằng 0, b1 bằng 0, c1 bằng 0, c2 bằng 0 và d bằng 1, và b2 nằm trong khoảng từ 0 đến 8.
43. Hợp chất theo phương án 42, trong đó b2 bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.
44. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 2 đến 12, trong đó b1 bằng 0, b2 bằng 0, c1 bằng 0, c2 bằng 0, một của a và d bằng 0, và chỉ số còn lại trong số a và d nằm trong khoảng từ 1 đến 5.
45. Hợp chất theo phương án 44, trong đó chỉ số còn lại trong số a và d bằng 1 hoặc 5.
46. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 2 đến 12, trong đó a bằng 1, b2 bằng 0, c1 bằng 0, c2 bằng 1, d bằng 2, và b1 nằm trong khoảng từ 0 đến 8.
47. Hợp chất theo phương án 46, trong đó b1 bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.
48. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 2 đến 47, trong đó G^L được chọn từ

(G ^{L1-1})		(G ^{L6})	
(G ^{L1-2})		(G ^{L7})	
(G ^{L2})		(G ^{L8})	
(G ^{L3-1})	 trong đó nhóm NO ₂ là tùy ý	(G ^{L9})	
(G ^{L3-2})	 trong đó nhóm NO ₂ là tùy ý	(G ^{L10})	
(G ^{L3-3})	 trong đó nhóm NO ₂ là tùy ý	(G ^{L11})	
(G ^{L3-4})	 trong đó nhóm NO ₂ là tùy ý	(G ^{L12})	
(G ^{L4})	 trong đó Hal = I, Br, Cl	(G ^{L13})	
(G ^{L5})		(G ^{L14})	

trong đó Ar thể hiện nhóm C_{5-6} arylen, và X thể hiện C_{1-4} alkyl.

49. Hợp chất theo phương án 48, trong đó G^L được chọn từ G^{L1-1} và G^{L1-2} .

50. Hợp chất theo phương án 48, trong đó G^L là G^{L1-1} .

51. Hợp chất theo phương án 1, trong đó R^L có công thức Ib.

52. Hợp chất theo phương án 51, trong đó cả R^{L1} và R^{L2} đều là H.

53. Hợp chất theo phương án 51, trong đó R^{L1} là H và R^{L2} là methyl.

54. Hợp chất theo phương án 51, trong đó cả R^{L1} và R^{L2} đều là methyl.

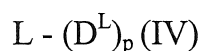
55. Hợp chất theo phương án 51, trong đó R^{L1} và R^{L2} cùng với nguyên tử carbon liên kết với chúng tạo thành nhóm xyclopropylen.

56. Hợp chất theo phương án 51, trong đó R^{L1} và R^{L2} cùng với nguyên tử carbon liên kết với chúng tạo thành nhóm xyclobutylen.

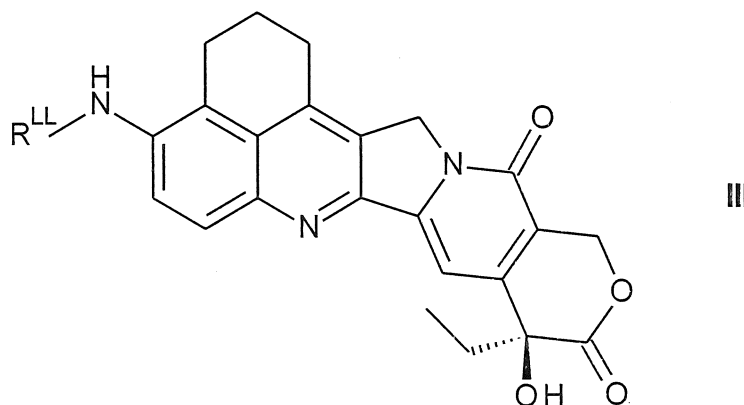
57. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 51 đến 56, trong đó e bằng 0.

58. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 51 đến 56, trong đó e bằng 1.

59. Thể tiếp hợp có công thức IV:

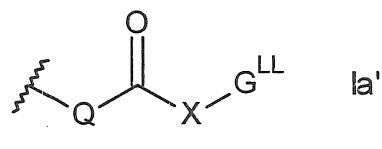


hoặc muối hoặc solvat được dụng của nó, trong đó L là đơn vị phối tử (tức là, chất hướng đích), D^L là đơn vị gốc liên kết được chất có công thức III:



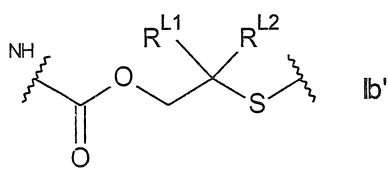
R^{LL} là gốc liên kết được nối với đơn vị phối tử được chọn từ

(ia'):



trong đó Q và X là như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 47 và G^{LL} là gốc liên kết được nối với đơn vị phối tử; và

(ib'):



trong đó R^{L1} và R^{L2} là như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 và từ 52 đến 56; và

p là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 20.

60. Thử tiếp hợp theo phương án 59, trong đó G^{LL} được chọn từ

(G^{LL1-1})		(G^{LL8-1})	
(G^{LL1-2})		(G^{LL8-2})	
(G^{LL2})		(G^{LL9-1})	
(G^{LL3-1})		(G^{LL9-2})	
(G^{LL3-2})		(G^{LL10})	

(G ^{LL4})		(G ^{LL11})	
(G ^{LL5})		(G ^{LL12})	
(G ^{LL6})		(G ^{LL13})	
(G ^{LL7})		(G ^{LL14})	

trong đó Ar thể hiện nhóm C₅₋₆ arylen và X thể hiện C₁₋₄ alkyl.

61. Thẻ tiếp hợp theo phương án 60, trong đó G^{LL} được chọn từ G^{LL1-1} và G^{LL1-2}.

62. Thẻ tiếp hợp theo phương án 61, trong đó G^{LL} là G^{LL1-1}.

63. Thẻ tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 59 đến 62, trong đó đơn vị phối tử là chất liên kết tế bào.

64. Thẻ tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 59 đến 62, trong đó đơn vị phối tử là kháng thể hoặc mảnh có hoạt tính của nó.

65. Thẻ tiếp hợp theo phương án 64, trong đó kháng thể hoặc mảnh kháng thể là kháng thể hoặc mảnh kháng thể đối với kháng nguyên kết hợp khối u.

66. Thẻ tiếp hợp theo phương án 65, trong đó kháng thể hoặc mảnh kháng thể là kháng thể mà liên kết với một hoặc nhiều kháng nguyên kết hợp khối u hoặc thụ thể bề mặt tế bào được chọn từ (1)-(89): (1) BMPR1B; (2) E16; (3) STEAP1; (4) 0772P; (5) MPF; (6) Napi3b; (7) Sema 5b; (8) PSCA hlg; (9) ETBR; (10) MSG783; (11) STEAP2; (12) TrpM4; (13) CRIPTO; (14) CD21; (15) CD79b; (16) FcRH2; (17) HER2; (18) NCA; (19) MDP; (20) IL20R-alpha; (21) Brevican; (22) EphB2R; (23) ASLG659; (24) PSCA; (25) GEDA; (26) BAFF-R; (27) CD22; (28) CD79a; (29) CXCR5; (30) HLA-DOB; (31) P2X5; (32) CD72; (33) LY64; (34) FcRH1; (35) IRTA2; (36) TENB2; (37)

PSMA - FOLH1; (38) SST; (38.1) SSTR2; (38.2) SSTR5; (38.3) SSTR1; (38.4) SSTR3; (38.5) SSTR4; (39) ITGAV; (40) ITGB6; (41) CEACAM5; (42) MET; (43) MUC1; (44) CA9; (45) EGFRvIII; (46) CD33; (47) CD19; (48) IL2RA; (49) AXL; (50) CD30 - TNFRSF8; (51) BCMA - TNFRSF17; (52) CT Ags - CTA; (53) CD174 (Lewis Y) - FUT3; (54) CLEC14A; (55) GRP78 - HSPA5; (56) CD70; (57) kháng nguyên đặc hiệu tế bào gốc; (58) ASG-5; (59) ENPP3; (60) PRR4; (61) GCC - GUCY2C; (62) Liv-1 - SLC39A6; (63) 5T4; (64) CD56 - NCMA1; (65) CanAg; (66) FOLR1; (67) GPNMB; (68) TIM-1 - HAVCR1; (69) RG-1/Mindin đích khối u tuyến tiền liệt - Mindin/RG-1; (70) B7-H4 - VTCN1; (71) PTK7; (72) CD37; (73) CD138 - SDC1; (74) CD74; (75) Claudins - CLs; (76) EGFR; (77) Her3; (78) RON - MST1R; (79) EPHA2; (80) CD20 - MS4A1; (81) Tenascin C - TNC; (82) FAP; (83) DKK-1; (84) CD52; (85) CS1 - SLAMF7; (86) Endoglin - ENG; (87) Annexin A1 - ANXA1; (88) V-CAM (CD106) - VCAM1; (89) ASCT2 (SLC1A5).

67. Thẻ tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 64 đến 66, trong đó kháng thể hoặc mảnh kháng thể là kháng thể được thiết kế xystein.

68. Thẻ tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 64 đến 67, trong đó tải lượng dược chất (p) của dược chất (D) với kháng thể (Ab) là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến khoảng 10.

69. Thẻ tiếp hợp theo phương án 68, trong đó p bằng 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 hoặc 10.

70. Hỗn hợp của các thẻ tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 64 đến 69, trong đó tải lượng dược chất trung bình trong mỗi kháng thể trong hỗn hợp của các thẻ tiếp hợp dược chất kháng thể nằm trong khoảng từ khoảng 1 đến khoảng 10.

71. Thẻ tiếp hợp hoặc hỗn hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 59 đến 70, để sử dụng trong trị liệu.

72. Dược phẩm chứa thẻ tiếp hợp hoặc hỗn hợp của phương án bất kỳ trong số các phương án từ 59 đến 70 và chất pha loãng, chất mang hoặc tá dược được dụng.

73. Thẻ tiếp hợp hoặc hỗn hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 59 đến 70, hoặc dược phẩm theo phương án 72, để sử dụng trong điều trị bệnh tăng sinh ở đối tượng.

74. Thể tiếp hợp, hỗn hợp hoặc dược phẩm theo phương án 73, trong đó bệnh là bệnh ung thư.

75. Sử dụng thể tiếp hợp hoặc hỗn hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 59 đến 70, hoặc dược phẩm theo phương án 72 trong phương pháp điều trị bệnh.

76. Phương pháp điều trị bệnh bao gồm bước cho đối tượng bị bệnh sử dụng dược phẩm theo phương án 72.

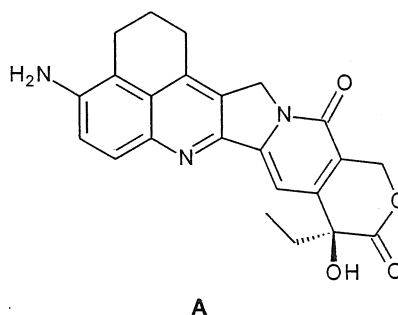
77. Phương pháp theo phương án 76, trong đó phương pháp điều trị bệnh là để điều trị bệnh ung thư.

78. Phương pháp theo phương án 77, trong đó đối tượng bị bệnh được sử dụng dược chất hóa trị liệu, kết hợp với thể tiếp hợp.

79. Sử dụng thể tiếp hợp hoặc hỗn hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 59 đến 70 trong phương pháp sản xuất thuốc để điều trị bệnh tăng sinh.

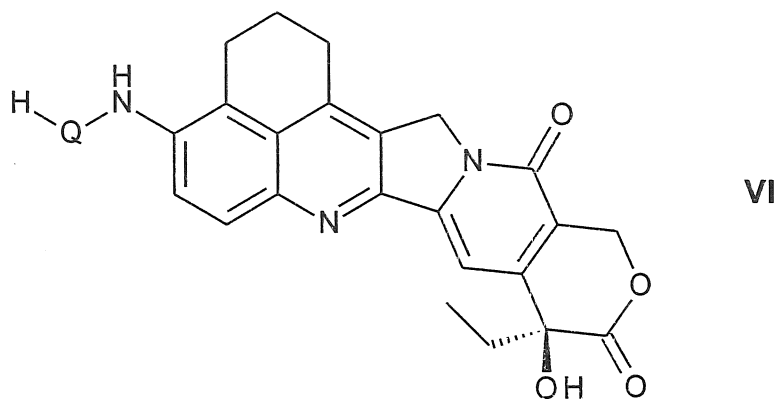
80. Phương pháp điều trị động vật có vú mắc bệnh tăng sinh, bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu của thể tiếp hợp hoặc hỗn hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 59 đến 70, hoặc dược phẩm theo phương án 72.

81. Hợp chất A:



dưới dạng chất đồng phân đối ảnh đơn lẻ hoặc ở dạng được làm giàu chất đồng phân đối ảnh.

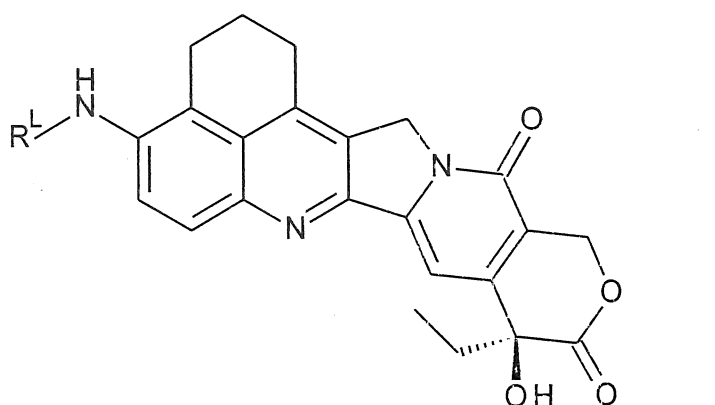
82. Hợp chất có công thức VI:



trong đó Q là như trong phương án bất kỳ trong số các phương án 1 và 3 và 12.

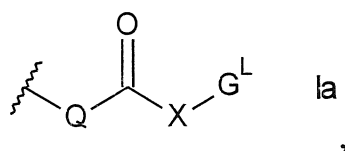
Các phương án của sáng chế từ đơn ưu tiên thứ 1 (P1)

P1-1. Hợp chất có công thức I:



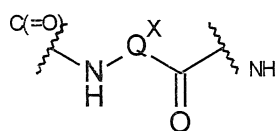
và muối và solvat của nó, trong đó R^L là gốc liên kết để nối với chất liên kết tế bào, được chọn từ

(ia):



trong đó

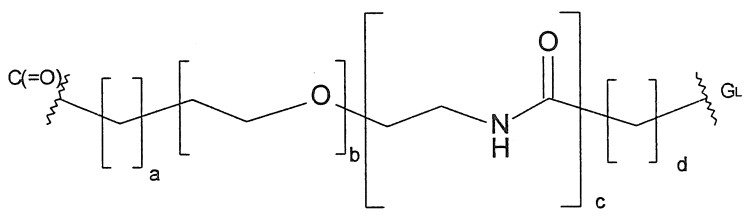
Q là:



, trong đó Q^X là nhóm sao cho Q là gốc axit amin, gốc dipeptit

hoặc gốc tripeptit;

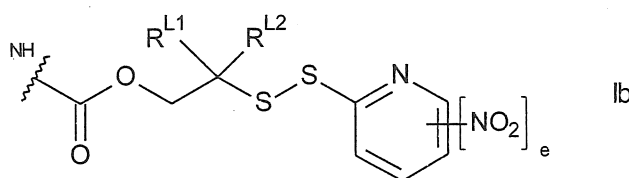
X là:



trong đó a = từ 0 đến 5, b = từ 0 đến 16, c = 0 hoặc 1, d = từ 0 đến 5;

G^L là gốc liên kết để nối với đơn vị phối tử;

(ib):



trong đó R^{L1} và R^{L2} độc lập được chọn từ H và metyl, hoặc cùng với nguyên tử carbon mà chúng liên kết với tạo thành nhóm xyclopropylen hoặc xyclobutylen ; và

e bằng 0 hoặc 1.

P1-2. Hợp chất theo phương án P1-1, trong đó R^L có công thức Ia.

P1-3. Hợp chất theo phương án P1-2, trong đó Q là gốc axit amin.

P1-4. Hợp chất theo phương án P1-3, trong đó Q được chọn từ Phe, Lys, Val, Ala, Cit, Leu, Ile, Arg, và Trp.

P1-5. Hợp chất theo phương án P1-2, trong đó Q là gốc dipeptit.

P1-6. Hợp chất theo phương án P1-5, trong đó Q được chọn từ $^{NH}-Phe-Lys-C=O$, $^{NH}-Val-Ala-C=O$, $^{NH}-Val-Lys-C=O$, $^{NH}-Ala-Lys-C=O$, $^{NH}-Val-Cit-C=O$, $^{NH}-Phe-Cit-C=O$, $^{NH}-Leu-Cit-C=O$, $^{NH}-Ile-Cit-C=O$, $^{NH}-Phe-Arg-C=O$, $^{NH}-Trp-Cit-C=O$, và $^{NH}-Gly-Val-C=O$.

P1-7. Thẻ tiếp hợp theo phương án P1-6, trong đó Q được chọn từ $^{NH}-Phe-Lys-C=O$, $^{NH}-Val-Cit-C=O$ và $^{NH}-Val-Ala-C=O$.

P1-8. Hợp chất theo phương án P1-2, trong đó Q là gốc tripeptit.

P1-9. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-2 đến P1-8, trong đó a nằm trong khoảng từ 0 đến 3.

P1-10. Hợp chất theo phương án P1-9, trong đó a bằng 0 hoặc 1.

P1-11. Hợp chất theo phương án P1-9, trong đó a bằng 0.

P1-12. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-2 đến P1-11, trong đó b nằm trong khoảng từ 0 đến 8.

P1-13. Hợp chất theo phương án P1-12, trong đó b bằng 0.

P1-14. Hợp chất theo phương án P1-12, trong đó b bằng 4.

P1-15. Hợp chất theo phương án P1-12, trong đó b bằng 8.

P1-16. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-2 đến P1-15, trong đó c bằng 0.

P1-17. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-2 đến P1-15, trong đó c bằng 1.

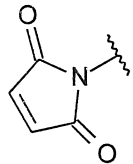
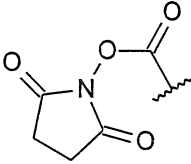
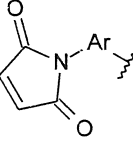
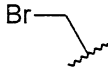
P1-18. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-2 đến P1-17, trong đó d nằm trong khoảng từ 0 đến 3.

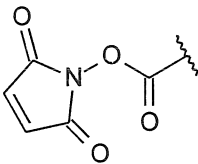
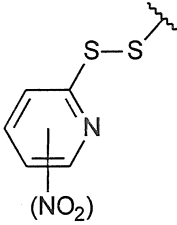
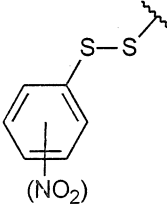
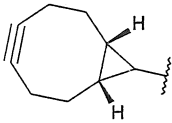
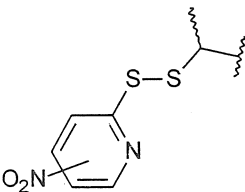
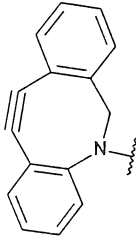
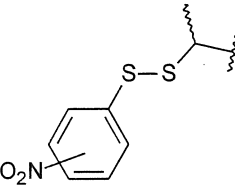
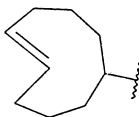
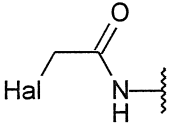
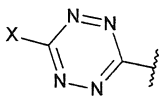
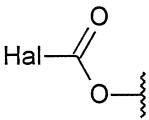
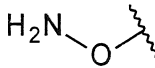
P1-19. Hợp chất theo phương án P1-18, trong đó d bằng 1 hoặc 2.

P1-20. Hợp chất theo phương án P1-19, trong đó d bằng 2.

P1-21. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-2 đến P1-8, trong đó a bằng 0, c bằng 1 và d bằng 2, và b bằng 0, 4 hoặc 8.

P1-22. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-2 đến P1-21, trong đó G^L được chọn từ

(G^{L1-1})		(G^{L6})	
(G^{L1-2})		(G^{L7})	

(G ^{L2})		(G ^{L8})	
(G ^{L3-1})	 trong đó nhóm NO ₂ là tùy ý	(G ^{L9})	
(G ^{L3-2})	 trong đó nhóm NO ₂ là tùy ý	(G ^{L10})	
(G ^{L3-3})	 trong đó nhóm NO ₂ là tùy ý	(G ^{L11})	
(G ^{L3-4})	 trong đó nhóm NO ₂ là tùy ý	(G ^{L12})	
(G ^{L4})	 trong đó Hal = I, Br, Cl	(G ^{L13})	
(G ^{L5})		(G ^{L14})	

trong đó Ar thể hiện nhóm C₅₋₆ arylen, và X thể hiện C₁₋₄ alkyl.

P1-23. Hợp chất theo phương án P1-22, trong đó G^L được chọn từ G^{L1-1} và G^{L1-2}.

P1-24. Hợp chất theo phương án P1-22, trong đó G^L là G^{L1-1}.

P1-25. Hợp chất theo phương án P1-1, trong đó R^L có công thức Ib.

P1-26. Hợp chất theo phương án P1-25, trong đó cả R^{L1} và R^{L2} đều là H.

P1-27. Hợp chất theo phương án P1-25, trong đó R^{L1} là H và R^{L2} là metyl.

P1-28. Hợp chất theo phương án P1-25, trong đó cả R^{L1} và R^{L2} đều là metyl.

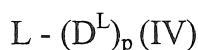
P1-29. Hợp chất theo phương án P1-25, trong đó R^{L1} và R^{L2} cùng với nguyên tử carbon liên kết với chúng tạo thành nhóm xyclopropylen.

P1-30. Hợp chất theo phương án P1-25, trong đó R^{L1} và R^{L2} cùng với nguyên tử carbon liên kết với chúng tạo thành nhóm xyclobutylen.

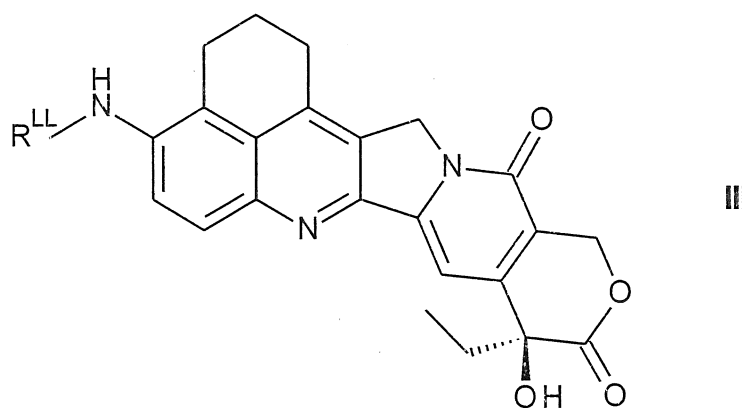
P1-31. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-25 đến P1-30, trong đó e bằng 0.

P1-32. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-25 đến P1-30, trong đó e bằng 1.

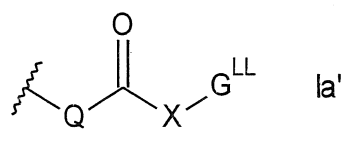
P1-33. Thể tiếp hợp có công thức IV:



hoặc muối hoặc solvat được dụng của nó, trong đó L là Đơn vị phối tử (tức là, chất hướng đích), D^L là đơn vị gốc liên kết được chất có công thức III:

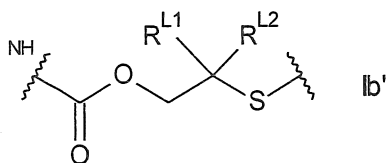


R^{LL} là gốc liên kết được nối với đơn vị phối tử được chọn từ (ia'):



trong đó Q và X là như được xác định theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-1 đến P1-21 và G^{LL} là gốc liên kết được nối với đơn vị phối tử; và

(ib'):

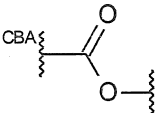
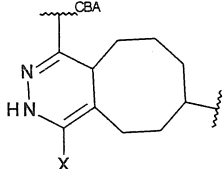
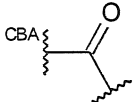
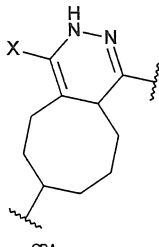
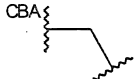
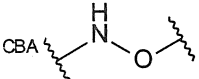


trong đó R^{L1} và R^{L2} như được xác định trong tuyên bố bất kỳ trong số các phương án P1-1 và từ P1-25 đến P1-30; và

p là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 20.

P1-34. Thử tiếp hợp theo phương án P1-33, trong đó G^{LL} được chọn từ

(G^{LL1-1})		(G^{LL8-1})	
(G^{LL1-2})		(G^{LL8-2})	
(G^{LL2})		(G^{LL9-1})	
(G^{LL3-1})		(G^{LL9-2})	
(G^{LL3-2})		(G^{LL10})	
(G^{LL4})		(G^{LL11})	

(G^{LL5})		(G^{LL12})	
(G^{LL6})		(G^{LL13})	
(G^{LL7})		(G^{LL14})	

trong đó Ar thể hiện nhóm C_{5-6} arylen và X thể hiện C_{1-4} alkyl.

P1-35. Thể tiếp hợp theo phương án P1-34, trong đó G^{LL} được chọn từ G^{LL1-1} và G^{LL1-2} .

P1-36. Thể tiếp hợp theo phương án P1-35, trong đó G^{LL} là G^{LL1-1} .

P1-37. Thể tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-33 đến P1-36, trong đó chất liên kết tế bào là kháng thể hoặc mảnh có hoạt tính của chúng.

P1-38. Thể tiếp hợp theo phương án P1-37, trong đó kháng thể hoặc mảnh kháng thể là kháng thể hoặc mảnh kháng thể đối với kháng nguyên kết hợp khối u.

P1-39. Thể tiếp hợp theo phương án P1-38, trong đó kháng thể hoặc mảnh kháng thể là kháng thể mà liên kết với một hoặc nhiều kháng nguyên kết hợp khối u hoặc thụ thể bề mặt tế bào được chọn từ (1)-(88): (1) BMPR1B; (2) E16; (3) STEAP1; (4) 0772P; (5) MPF; (6) Napi3b; (7) Sema 5b; (8) PSCA hlg; (9) ETBR; (10) MSG783; (11) STEAP2; (12) TrpM4; (13) CRIPTO; (14) CD21; (15) CD79b; (16) FcRH2; (17) HER2; (18) NCA; (19) MDP; (20) IL20R-alpha; (21) Brevican; (22) EphB2R; (23) ASLG659; (24) PSCA; (25) GEDA; (26) BAFF-R; (27) CD22; (28) CD79a; (29) CXCR5; (30) HLA-DOB; (31) P2X5; (32) CD72; (33) LY64; (34) FcRH1; (35) IRTA2; (36) TENB2; (37) PSMA - FOLH1; (38) SST; (38.1) SSTR2; (38.2) SSTR5; (38.3) SSTR1; (38.4) SSTR3; (38.5) SSTR4; (39) ITGAV; (40) ITGB6; (41) CEACAM5; (42) MET; (43) MUC1; (44) CA9; (45) EGFRvIII; (46) CD33; (47) CD19; (48) IL2RA; (49) AXL; (50) CD30 - TNFRSF8; (51) BCMA - TNFRSF17; (52) CT Ags - CTA; (53) CD174 (Lewis Y) - FUT3; (54) CLEC14A; (55) GRP78 - HSPA5; (56) CD70; (57) kháng

nguyên đặc hiệu tế bào gốc; (58) ASG-5; (59) ENPP3; (60) PRR4; (61) GCC - GUCY2C; (62) Liv-1 - SLC39A6; (63) 5T4; (64) CD56 - NCMA1; (65) CanAg; (66) FOLR1; (67) GPNMB; (68) TIM-1 - HAVCR1; (69) RG-1/Mindin đích khối u tuyến tiền liệt - Mindin/RG-1; (70) B7-H4 - VTCN1; (71) PTK7; (72) CD37; (73) CD138 - SDC1; (74) CD74; (75) Claudins - CLs; (76) EGFR; (77) Her3; (78) RON - MST1R; (79) EPHA2; (80) CD20 - MS4A1; (81) Tenascin C - TNC; (82) FAP; (83) DKK-1; (84) CD52; (85) CS1 - SLAMF7; (86) Endoglin - ENG; (87) Annexin A1 - ANXA1; (88) V-CAM (CD106) - VCAM1; (89) ASCT2 (SLC1A5).

P1-40. Thẻ tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-37 đến P1-39, trong đó kháng thể hoặc mảnh kháng thể là kháng thể được thiết kế xystein.

P1-41. Thẻ tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-37 đến P1-40, trong đó tải lượng dược chất (p) của dược chất (D) với kháng thể (Ab) là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến khoảng 10.

P1-42. Thẻ tiếp hợp theo phương án P1-41, trong đó p bằng 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 hoặc 10.

P1-43. Hỗn hợp của các thẻ tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-33 đến P1-42, trong đó tải lượng dược chất trung bình trong mỗi kháng thể trong hỗn hợp của các thẻ tiếp hợp dược chất kháng thể hợp chất nằm trong khoảng từ khoảng 1 đến khoảng 10.

P1-44. Thẻ tiếp hợp hoặc hỗn hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-33 đến P1-43, để sử dụng trong trị liệu.

P1-45. Dược phẩm chứa thẻ tiếp hợp hoặc hỗn hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-33 đến P1-43 và chất pha loãng, chất mang hoặc tá dược dược dụng.

P1-46. Thẻ tiếp hợp hoặc hỗn hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-33 đến P1-43, hoặc dược phẩm theo phương án P1-45, để sử dụng trong việc điều trị bệnh tăng sinh ở đối tượng.

P1-47. Thẻ tiếp hợp hoặc hỗn hợp theo phương án P1-46, trong đó bệnh là bệnh ung thư.

P1-48. Sử dụng thẻ tiếp hợp hoặc hỗn hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-33 đến P1-43, hoặc dược phẩm theo phương án P1-45 trong phương

pháp điều trị bệnh.

P1-49. Phương pháp điều trị bệnh bao gồm bước cho bệnh nhân sử dụng được phẩm theo phương án P1-45.

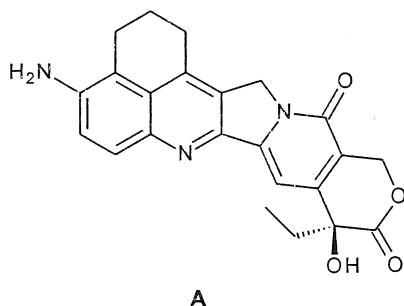
P1-50. Phương pháp theo phương án P1-49, trong đó phương pháp điều trị bệnh là để điều trị bệnh ung thư.

P1-51. Phương pháp theo phương án P1-50, trong đó bệnh nhân được sử dụng được chất hóa trị liệu, kết hợp với thể tiếp hợp.

P1-52. Sử dụng thể tiếp hợp hoặc hỗn hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-33 đến P1-43 trong phương pháp sản xuất thuốc để điều trị bệnh tăng sinh.

P1-53. Phương pháp điều trị động vật có vú mắc bệnh tăng sinh, bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu của thể tiếp hợp hoặc hỗn hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P1-33 đến P1-43, hoặc được phẩm theo phương án P1-45.

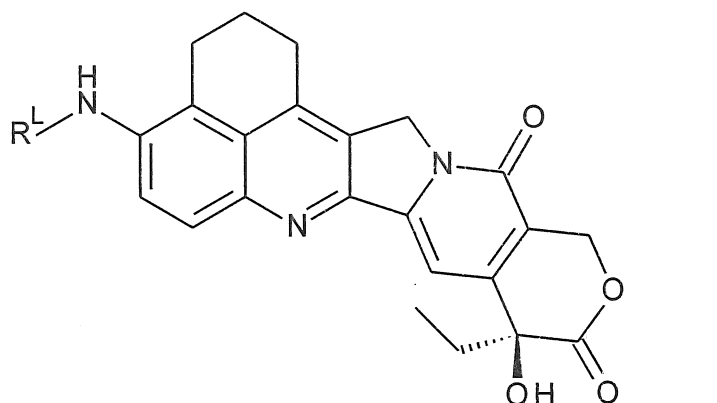
P1-54. Hợp chất A:



dưới dạng chất đồng phân đối ảnh đơn lẻ hoặc ở dạng được làm giàu chất đồng phân đối ảnh.

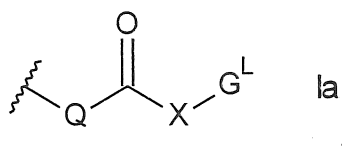
Các phương án của sáng chế từ đơn ưu tiên thứ 2 (P2)

P2-1. Hợp chất có công thức I:



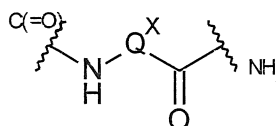
và muối và solvat của nó, trong đó R^L là gốc liên kết để nối với chất liên kết tế bào, được chọn từ

(ia):



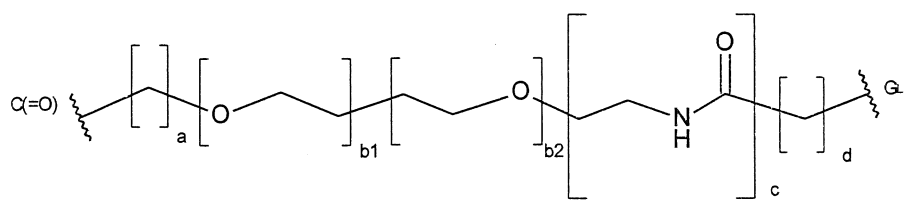
trong đó

Q là:



, trong đó Q^X là nhóm sao cho Q là gốc axit amin, gốc dipeptit, gốc tripeptit hoặc gốc tetrapeptit;

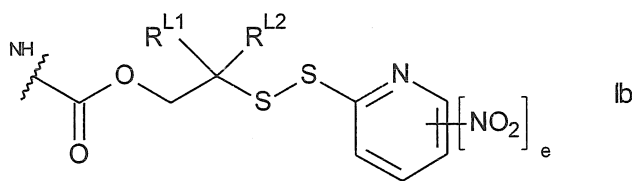
X là:



trong đó $a =$ từ 0 đến 5, $b_1 =$ từ 0 đến 16, $b_2 =$ từ 0 đến 16, $c = 0$ hoặc 1, $d =$ từ 0 đến 5, trong đó ít nhất nếu b_1 hoặc $b_2 = 0$;

G^L là gốc liên kết để nối với đơn vị phối tử;

(ib):



trong đó R^{L1} và R^{L2} độc lập được chọn từ H và methyl, hoặc cùng với nguyên tử carbon mà chúng liên kết với tạo thành nhóm xyclopropylen hoặc xyclobutylen ; và

e bằng 0 hoặc 1.

P2-2. Hợp chất theo phương án P2-1, trong đó R^L có công thức Ia.

P2-3. Hợp chất theo phương án P2-2, trong đó Q là gốc axit amin.

P2-4. Hợp chất theo phương án P2-3, trong đó Q được chọn từ Phe, Lys, Val, Ala, Cit, Leu, Ile, Arg, và Trp.

P2-5. Hợp chất theo phương án P2-2, trong đó Q là gốc dipeptit.

P2-6. Hợp chất theo phương án P2-5, trong đó Q được chọn từ NH -Phe-Lys- $^{C=O}$, NH -Val-Ala- $^{C=O}$, NH -Val-Lys- $^{C=O}$, NH -Ala-Lys- $^{C=O}$, NH -Val-Cit- $^{C=O}$, NH -Phe-Cit- $^{C=O}$, NH -Leu-Cit- $^{C=O}$, NH -Ile-Cit- $^{C=O}$, NH -Phe-Arg- $^{C=O}$, NH -Trp-Cit- $^{C=O}$, và NH -Gly-Val- $^{C=O}$.

P2-7. Hợp chất theo phương án P2-6, trong đó Q được chọn từ NH -Phe-Lys- $^{C=O}$, NH -Val-Cit- $^{C=O}$ và NH -Val-Ala- $^{C=O}$.

P2-8. Hợp chất theo phương án P2-2, trong đó Q là gốc tripeptit.

P2-9. Hợp chất theo phương án P2-8, trong đó Q được chọn từ NH -Glu-Val-Ala- $^{C=O}$, NH -Glu-Val-Cit- $^{C=O}$, NH - α Glu-Val-Ala- $^{C=O}$, và NH - α Glu-Val-Cit- $^{C=O}$.

P2-10. Hợp chất theo phương án P2-2, trong đó Q là gốc tetrapeptit.

P2-11. Hợp chất theo phương án P2-10, trong đó Q được chọn từ NH -Gly-Gly-Phe-Gly- $^{C=O}$; và NH -Gly-Phe-Gly-Gly- $^{C=O}$.

P2-12. Hợp chất theo phương án P2-11, trong đó Q là NH -Gly-Gly-Phe-Gly- $^{C=O}$.

P2-13. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-2 đến P2-12, trong đó a nằm trong khoảng từ 0 đến 3.

P2-14. Hợp chất theo phương án P2-13, trong đó a bằng 0 hoặc 1.

P2-15. Hợp chất theo phương án P2-13, trong đó a bằng 0.

P2-16. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-2 đến P2-15, trong đó b1 nằm trong khoảng từ 0 đến 8.

P2-17. Hợp chất theo phương án P2-16, trong đó b1 bằng 0.

P2-18. Hợp chất theo phương án P2-16, trong đó b1 bằng 2.

P2-19. Hợp chất theo phương án P2-16, trong đó b1 bằng 3.

P2-20. Hợp chất theo phương án P2-16, trong đó b1 bằng 4.

P2-21. Hợp chất theo phương án P2-16, trong đó b1 bằng 5.

P2-22. Hợp chất theo phương án P2-16, trong đó b1 bằng 8.

P2-23. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-2 đến P2-15 và P2-17, trong đó b2 nằm trong khoảng từ 0 đến 8.

P2-24. Hợp chất theo phương án P2-23, trong đó b2 bằng 0.

P2-25. Hợp chất theo phương án P2-23, trong đó b2 bằng 2.

P2-26. Hợp chất theo phương án P2-23, trong đó b2 bằng 3.

P2-27. Hợp chất theo phương án P2-23, trong đó b2 bằng 4.

P2-28. Hợp chất theo phương án P2-23, trong đó b2 bằng 5.

P2-29. Hợp chất theo phương án P2-23, trong đó b2 bằng 8.

P2-30. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-2 đến P2-29, trong đó c bằng 0.

P2-31. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-2 đến P2-29, trong đó c bằng 1.

P2-32. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-2 đến P2-31, trong đó d nằm trong khoảng từ 0 đến 3.

P2-33. Hợp chất theo phương án P2-32, trong đó d bằng 1 hoặc 2.

P2-34. Hợp chất theo phương án P2-32, trong đó d bằng 2.

P2-35. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-2 đến P2-12, trong đó a bằng 0, b1 bằng 0, c bằng 1 và d bằng 2, và b2 nằm trong khoảng từ 0 đến 8.

P2-36. Hợp chất theo phương án P2-35, trong đó b2 bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.

P2-37. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-2 đến P2-12, trong đó a bằng 1, b2 bằng 0, c bằng 0 và d bằng 0, và b1 nằm trong khoảng từ 0 đến 8.

P2-38. Hợp chất theo phương án P2-37, trong đó b1 bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.

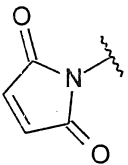
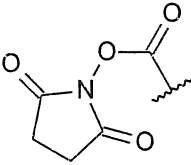
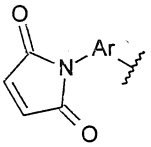
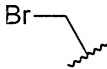
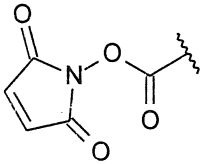
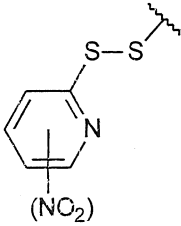
P2-39. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-2 đến P2-12, trong đó a bằng 0, b1 bằng 0, c bằng 0 và d bằng 1, và b2 nằm trong khoảng từ 0 đến 8.

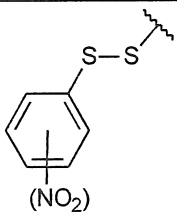
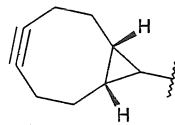
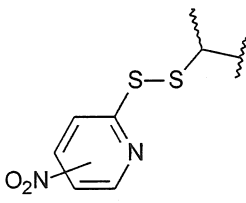
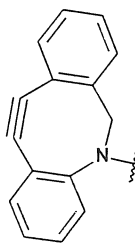
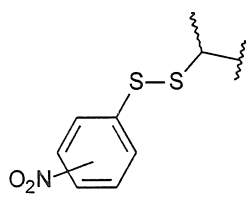
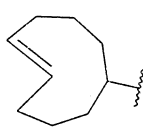
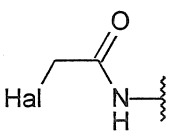
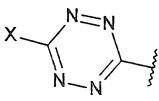
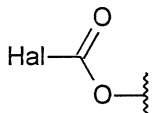
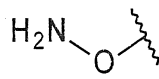
P2-40. Hợp chất theo phương án P2-39, trong đó b2 bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.

P2-41. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-2 đến P2-12, trong đó b1 bằng 0, b2 bằng 0, c bằng 0, một của a và d bằng 0, và giá trị còn lại trong số a và d nằm trong khoảng từ 1 đến 5.

P2-42. Hợp chất theo phương án P2-41, trong đó giá trị còn lại trong số a và d bằng 1 hoặc 5.

P2-43. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-2 đến P2-42, trong đó G^L được chọn từ

(G^{L1-1})		(G^{L6})	
(G^{L1-2})		(G^{L7})	
(G^{L2})		(G^{L8})	
(G^{L3-1})	 trong đó nhóm NO ₂ là tùy ý	(G^{L9})	

(G ^{L3-2})	 trong đó nhóm NO₂ là tùy ý	(G ^{L10})	
(G ^{L3-3})	 trong đó nhóm NO₂ là tùy ý	(G ^{L11})	
(G ^{L3-4})	 trong đó nhóm NO₂ là tùy ý	(G ^{L12})	
(G ^{L4})	 trong đó Hal = I, Br, Cl	(G ^{L13})	
(G ^{L5})		(G ^{L14})	

trong đó Ar thể hiện nhóm C₅₋₆ arylen, và X thể hiện C₁₋₄ alkyl.

P2-44. Hợp chất theo phương án P2-43, trong đó G^L được chọn từ G^{L1-1} và G^{L1-2}.

P2-45. Hợp chất theo phương án P2-43, trong đó G^L là G^{L1-1}.

P2-46. Hợp chất theo phương án P2-1, trong đó R^L có công thức Ib.

P2-47. Hợp chất theo phương án P2-46, trong đó cả R^{L1} và R^{L2} đều là H.

P2-48. Hợp chất theo phương án P2-46, trong đó R^{L1} là H và R^{L2} là metyl.

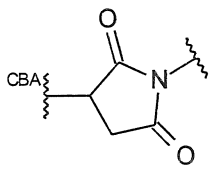
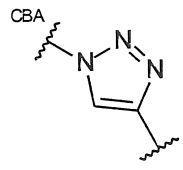
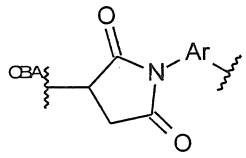
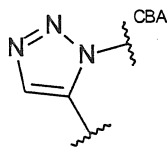
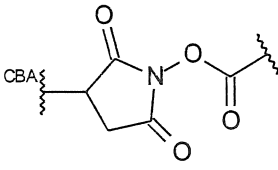
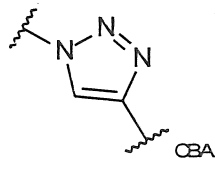
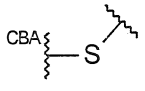
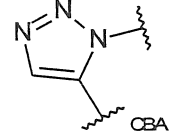
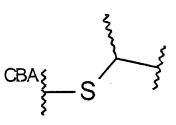
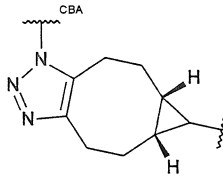
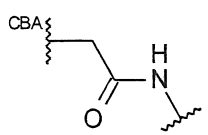
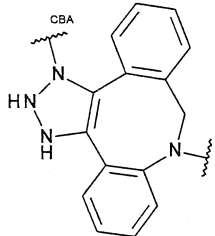
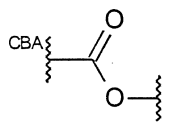
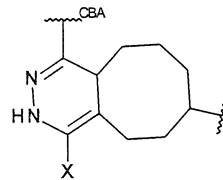
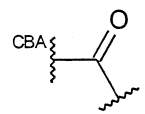
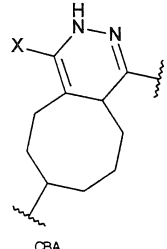
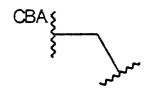
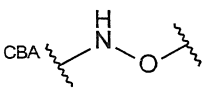
P2-49. Hợp chất theo phương án P2-46, trong đó cả R^{L1} và R^{L2} đều là metyl.

P2-50. Hợp chất theo phương án P2-46, trong đó R^{L1} và R^{L2} cùng với nguyên tử carbon liên kết với chúng tạo thành nhóm xyclopropylen.

P2-51. Hợp chất theo phương án P2-46, trong đó R^{L1} và R^{L2} cùng với nguyên tử carbon liên kết với chúng tạo thành nhóm xyclobutylen.

p là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 20.

P2-55. Thể tiếp hợp theo phương án P2-54, trong đó G^{LL} được chọn từ

(G^{LL1-1})		(G^{LL8-1})	
(G^{LL1-2})		(G^{LL8-2})	
(G^{LL2})		(G^{LL9-1})	
(G^{LL3-1})		(G^{LL9-2})	
(G^{LL3-2})		(G^{LL10})	
(G^{LL4})		(G^{LL11})	
(G^{LL5})		(G^{LL12})	
(G^{LL6})		(G^{LL13})	
(G^{LL7})		(G^{LL14})	

trong đó Ar thể hiện nhóm C_{5-6} arylen và X thể hiện C_{1-4} alkyl.

P2-56. Thử tiếp hợp theo phương án P2-55, trong đó G^{LL} được chọn từ G^{LL1-1} và G^{LL1-2} .

P2-57. Thử tiếp hợp theo phương án P2-56, trong đó G^{LL} là G^{LL1-1} .

P2-58. Thử tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-54 đến P2-57, trong đó đơn vị phối tử là kháng thể hoặc mảnh có hoạt tính của chúng.

P2-59. Thử tiếp hợp theo phương án P2-58, trong đó kháng thể hoặc mảnh kháng thể là kháng thể hoặc mảnh kháng thể đối với kháng nguyên kết hợp khối u.

P2-60. Thử tiếp hợp theo phương án P2-59, trong đó kháng thể hoặc mảnh kháng thể là kháng thể mà liên kết với một hoặc nhiều kháng nguyên kết hợp khối u hoặc thụ thể bề mặt tế bào được chọn từ (1)-(89): (1) BMPR1B; (2) E16; (3) STEAP1; (4) 0772P; (5) MPF; (6) Napi3b; (7) Sema 5b; (8) PSCA hlg; (9) ETBR; (10) MSG783; (11) STEAP2; (12) TrpM4; (13) CRIPTO; (14) CD21; (15) CD79b; (16) FcRH2; (17) HER2; (18) NCA; (19) MDP; (20) IL20R-alpha; (21) Brevican; (22) EphB2R; (23) ASLG659; (24) PSCA; (25) GEDA; (26) BAFF-R; (27) CD22; (28) CD79a; (29) CXCR5; (30) HLA-DOB; (31) P2X5; (32) CD72; (33) LY64; (34) FcRH1; (35) IRTA2; (36) TENB2; (37) PSMA - FOLH1; (38) SST; (38.1) SSTR2; (38.2) SSTR5; (38.3) SSTR1; (38.4) SSTR3; (38.5) SSTR4; (39) ITGAV; (40) ITGB6; (41) CEACAM5; (42) MET; (43) MUC1; (44) CA9; (45) EGFRvIII; (46) CD33; (47) CD19; (48) IL2RA; (49) AXL; (50) CD30 - TNFRSF8; (51) BCMA - TNFRSF17; (52) CT Ags - CTA; (53) CD174 (Lewis Y) - FUT3; (54) CLEC14A; (55) GRP78 - HSPA5; (56) CD70; (57) kháng nguyên đặc hiệu tế bào gốc; (58) ASG-5; (59) ENPP3; (60) PRR4; (61) GCC - GUCY2C; (62) Liv-1 - SLC39A6; (63) 5T4; (64) CD56 - NCMA1; (65) CanAg; (66) FOLR1; (67) GPNMB; (68) TIM-1 - HAVCR1; (69) RG-1/Mindin đích khối u tuyến tiền liệt - Mindin/RG-1; (70) B7-H4 - VTCN1; (71) PTK7; (72) CD37; (73) CD138 - SDC1; (74) CD74; (75) Claudins - CLs; (76) EGFR; (77) Her3; (78) RON - MST1R; (79) EPHA2; (80) CD20 - MS4A1; (81) Tenascin C - TNC; (82) FAP; (83) DKK-1; (84) CD52; (85) CS1 - SLAMF7; (86) Endoglin - ENG; (87) Annexin A1 - ANXA1; (88) V-CAM (CD106) - VCAM1; (89) ASCT2 (SLC1A5).

P2-61. Thử tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-58 đến P2-60, trong đó kháng thể hoặc mảnh kháng thể là kháng thể được thiết kế xystein.

P2-62. Thử tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-58 đến

P2-61, trong đó tải lượng dược chất (p) của dược chất (D) với kháng thể (Ab) là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến khoảng 10.

P2-63. Thẻ tiếp hợp theo phương án P2-62, trong đó p bằng 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 hoặc 10.

P2-64. Hỗn hợp của các thẻ tiếp hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-58 đến P2-63, trong đó tải lượng dược chất trung bình trong mỗi kháng thể trong hỗn hợp của các thẻ tiếp hợp dược chất kháng thể nằm trong khoảng từ khoảng 1 đến khoảng 10.

P2-65. Thẻ tiếp hợp hoặc hỗn hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-54 đến P2-64, để sử dụng trong trị liệu.

P2-66. Dược phẩm chứa thẻ tiếp hợp hoặc hỗn hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-54 đến P2-64 và chất pha loãng, chất mang hoặc tá dược được dùng.

P2-67. Thẻ tiếp hợp hoặc hỗn hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-54 đến P2-64, hoặc dược phẩm theo phương án P2-66, để sử dụng trong việc điều trị bệnh tăng sinh ở đối tượng.

P2-68. Thẻ tiếp hợp, hỗn hợp hoặc dược phẩm theo phương án P2-67, trong đó bệnh là bệnh ung thư.

P2-69. Sử dụng thẻ tiếp hợp hoặc hỗn hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-54 đến P2-64, hoặc dược phẩm theo phương án P2-66 trong phương pháp điều trị bệnh.

P2-70. Phương pháp điều trị bệnh bao gồm bước cho bệnh nhân sử dụng dược phẩm theo phương án P2-66.

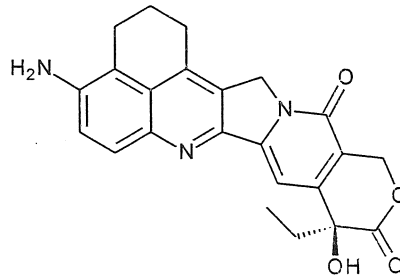
P2-71. Phương pháp theo phương án P2-70, trong đó phương pháp điều trị bệnh là để điều trị bệnh ung thư.

P2-72. Phương pháp theo phương án P2-71, trong đó bệnh nhân được sử dụng dược chất hóa trị liệu, kết hợp với thẻ tiếp hợp.

P2-73. Sử dụng thẻ tiếp hợp hoặc hỗn hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-54 đến P2-64 trong phương pháp sản xuất thuốc để điều trị bệnh tăng sinh.

P2-74. Phương pháp điều trị động vật có vú mắc bệnh tăng sinh, bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu của thể tiếp hợp hoặc hỗn hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ P2-54 đến P2-64, hoặc được phẩm theo phương án P2-66.

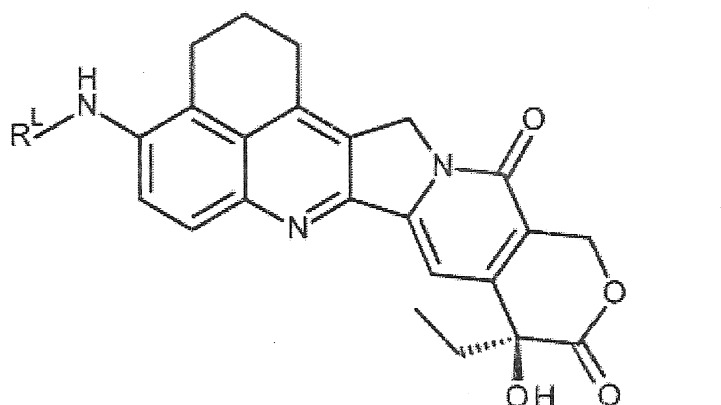
P2-75. Hợp chất A:



dưới dạng chất đồng phân đối ảnh đơn lẻ hoặc ở dạng được làm giàu chất đồng phân đối ảnh.

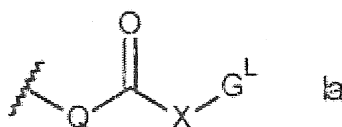
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức I:

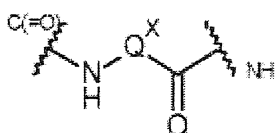


và muối và solvat của nó, trong đó R^L là gốc liên kết để nối với kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể, được chọn từ:

(ia):



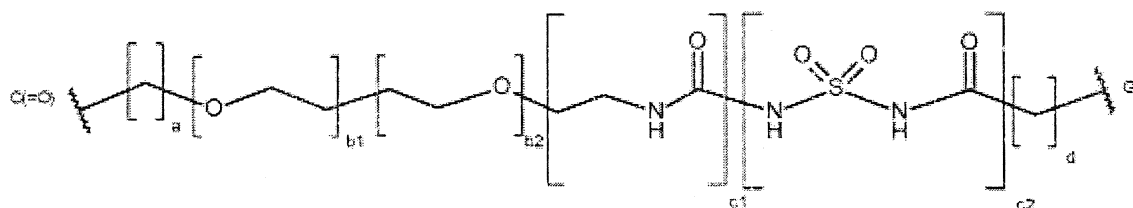
trong đó:



Q là:

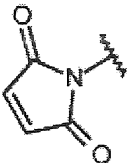
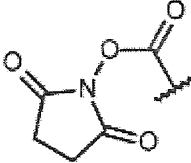
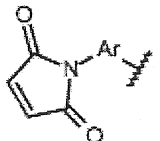
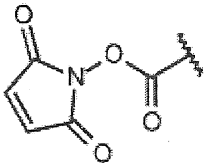
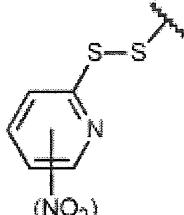
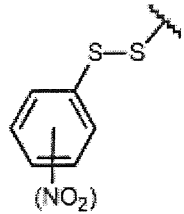
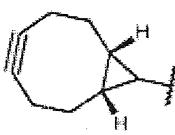
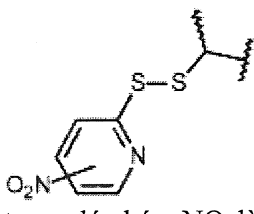
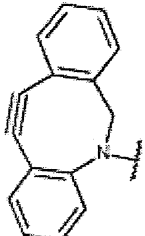
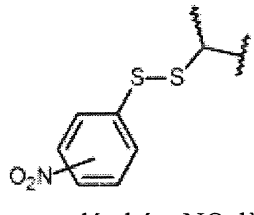
trong đó Q^X là nhóm sao cho Q là gốc axit amin, gốc dipeptit, gốc tripeptit hoặc gốc tetrapeptit, và trong đó nhãn bên trên $C(=O)$ và NH thể hiện nhóm mà các nguyên tử được liên kết vào;

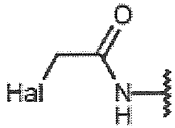
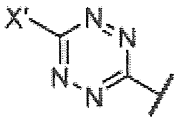
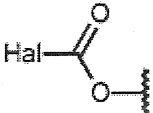
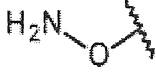
X là:



trong đó $a = 0$ đến 5, $b1 = 0$ đến 16, $b2 = 0$ đến 16, $c1 = 0$ hoặc 1, $c2 = 0$ hoặc 1, $d = 0$ đến 5, trong đó ít nhất $b1$ hoặc $b2 = 0$ và ít nhất $c1$ hoặc $c2 = 0$;

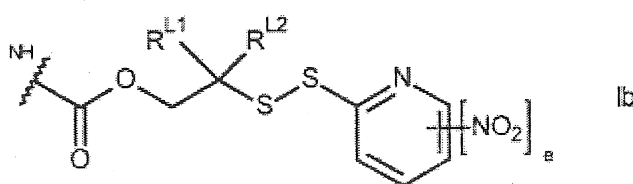
G^L là gốc liên kết để nối với kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể, trong đó G^L được chọn từ:

(G^{L1-1})		(G^{L6})	
(G^{L1-2})		(G^{L7})	
(G^{L2})		(G^{L8})	
(G^{L3-1})	 trong đó nhóm NO_2 là tùy ý	(G^{L9})	
(G^{L3-2})	 trong đó nhóm NO_2 là tùy ý	(G^{L10})	
(G^{L3-3})	 trong đó nhóm NO_2 là tùy ý	(G^{L11})	
(G^{L3-4})	 trong đó nhóm NO_2 là	(G^{L12})	

	tùy ý		
(G ^{L4})	 trong đó Hal = I, Br, Cl	(G ^{L3})	
(G ^{L5})		(G ^{L4})	

trong đó Ar thể hiện nhóm C₅₋₆ arylen, và X' thể hiện C₁₋₄ alkyl;

(ib):



trong đó R^{L1} và R^{L2} độc lập được chọn từ H và metyl, hoặc cùng với nguyên tử carbon liên kết với chúng tạo thành nhóm xyclopropylen hoặc xyclobutylen; và e bằng 0 hoặc 1.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R^L có công thức Ia, và trong đó Q là (a) gốc axit amin được chọn từ: Phe, Lys, Val, Ala, Cit, Leu, Ile, Arg, và Trp; hoặc (b) gốc dipeptit được chọn từ ^{NH}-Phe-Lys-C=O, ^{NH}-Val-Ala-C=O, ^{NH}-Val-Lys-C=O, ^{NH}-Ala-Lys-C=O, ^{NH}-Val-Cit-C=O, ^{NH}-Phe-Cit-C=O, ^{NH}-Leu-Cit-C=O, ^{NH}-Ile-Cit-C=O, ^{NH}-Phe-Arg-C=O, ^{HH}-Trp-Cit-C=O, và ^{NH}-Gly-Val-C=O; hoặc (c) gốc tripeptit được chọn từ: ^{NH}-Glu-Val-Ala-C=O, ^{NH}-Glu-Val-Cit-C=O, ^{NH}-αGlu-Val-Ala-C=O, và ^{NH}-αGlu-Val-Cit-C=O; hoặc (d) gốc tetrapeptit được chọn từ: ^{NH}-Gly-Gly-Phe-Gly-C=O; và ^{NH}-Gly-Phe-Gly-Gly-C=O, trong đó ^{NH}-thể hiện đầu tận cùng N, và -C=O thể hiện đầu tận cùng C của gốc.

3. Hợp chất theo điểm 2, trong đó a bằng: (a) 0 đến 3; hoặc (b) 0 hoặc 1; hoặc (c) 0, và cũng tùy ý trong đó b1 bằng: (a) 0 đến 8; hoặc (b) 0; hoặc (c) 2; hoặc (d) 3; hoặc (e) 4; hoặc (f) 5; hoặc (g) 8, và vẫn cũng tùy ý trong đó b2 bằng: (a) 0 đến 8; hoặc (b) 0; hoặc (c) 2; hoặc (d) 3; hoặc (e) 4; hoặc (f) 5; hoặc (g) 8.

4. Hợp chất theo điểm 2 hoặc 3, trong đó (i) c1 bằng: (a) 0; hoặc (b) 1; và (ii) c2 bằng: (a) 0; hoặc (b) 1; trong đó ít nhất một trong số c1 và c2 bằng 0, và tùy ý trong đó d bằng: (a) 0 đến 3; hoặc (b) 1 hoặc 2; hoặc (c) 2; hoặc (d) 5.

5. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 4, trong đó (a) a bằng 0, b1 bằng 0, c1 bằng 1, c2 bằng 0 và d bằng 2, và b2 bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8; hoặc (b) a bằng 1, b2 bằng 0, c1 bằng 0, c2 bằng 0 và d bằng 0, và b1 bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8; hoặc (c) a bằng 0, b1 bằng 0, c1 bằng 0, c2 bằng 0 và d bằng 1, và b2 bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8; hoặc (d) b1 bằng 0, b2 bằng 0, c1 bằng 0, c2 bằng 0, một trong số a và d bằng 0, và một trong số a và d còn lại bằng 1 hoặc 5; hoặc (e) a bằng 1, b2 bằng 0, c1 bằng 0, c2 bằng 1, d bằng 2, và b1 bằng 0, 2, 3, 4, 5 hoặc 8.

6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó G^L được chọn từ G^{L1-1} và G^{L1-2} .

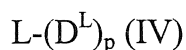
7. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R^L có công thức Ib, và (a) cả R^{L1} và R^{L2} là H; hoặc (b) R^{L1} là H và R^{L2} là methyl; hoặc (c) cả R^{L1} và R^{L2} là methyl; hoặc (d) trong đó R^{L1} và R^{L2} cùng với nguyên tử carbon liên kết với chúng tạo thành nhóm xyclopropylen; hoặc (e) trong đó R^{L1} và R^{L2} cùng với nguyên tử carbon liên kết với chúng tạo thành nhóm xyclobutylen

8. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 1-(3-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)propanamido)-N-((S)-1-(((S)-1-(((S)-9-ethyl-9-hydroxy-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahydro-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)amino)-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-3,6,9,12,15,18,21,24-octaoxaheptacosan-27-amit.

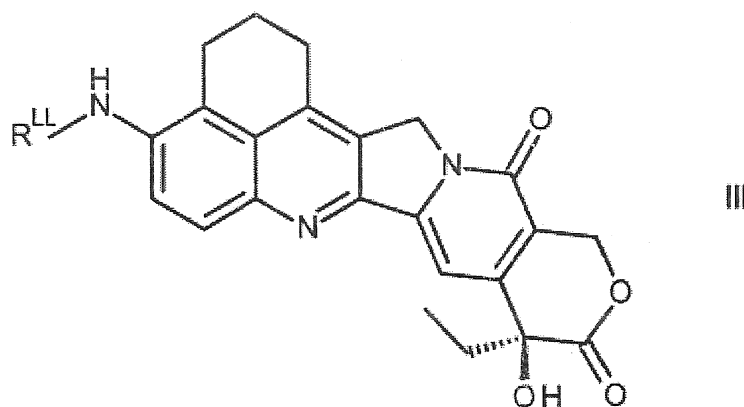
9. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là (S)-2-(2-(2-(2-(2-azidoetoxy)etoxy)etoxy)axetamido)-N-((S)-1-(((S)-9-ethyl-9-hydroxy-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahydro-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)-3-methylbutanamit.

10. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là N-((S)-1-(((S)-1-(((S)-9-ethyl-9-hydroxy-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahydro-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)amino)-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-4,7,10,13,16-pentaoxanonadec-18-ynamit.

11. Thể tiếp hợp có công thức IV:

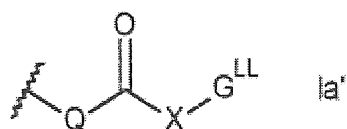


hoặc muối hoặc solvat được dụng của nó, trong đó L là đơn vị phối tử, D^L là đơn vị được chất gốc liên kết có công thức III:



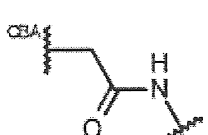
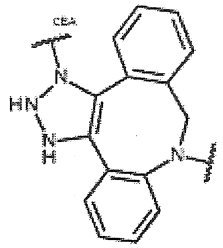
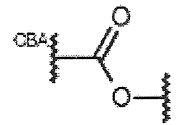
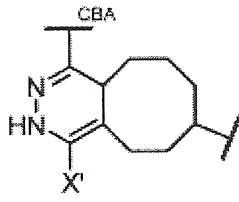
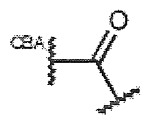
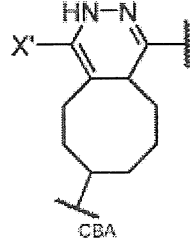
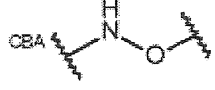
R^{LL} là gốc liên kết được nối với đơn vị phối tử được chọn từ

(ia’):

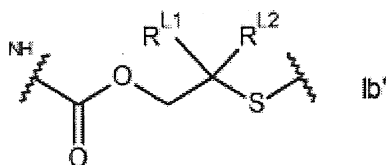


trong đó Q và X là như được định nghĩa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5 và G^{LL} là gốc liên kết được nối với đơn vị phối tử, trong đó G^{LL} được chọn từ:

(G^{LL1-1})		(G^{LL8-1})	
(G^{LL1-2})		(G^{LL8-2})	
(G^{LL2})		(G^{LL9-1})	
(G^{LL3-1})		(G^{LL9-2})	
(G^{LL3-2})		(G^{LL10})	

(G ^{LL4})		(G ^{LL11})	
(G ^{LL5})		(G ^{LL12})	
(G ^{LL6})		(G ^{LL13})	
(G ^{LL7})		(G ^{LL14})	

trong đó Ar thể hiện nhóm C₅₋₆ arylen và X' thể hiện C₁₋₄ alkyl; và
(ib'):



trong đó R^{L1} và R^{L2} là như được định nghĩa theo điểm 1 hoặc 7; và

p là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 20,

và trong đó đơn vị phối tử là kháng thể hoặc mảnh có hoạt tính của nó.

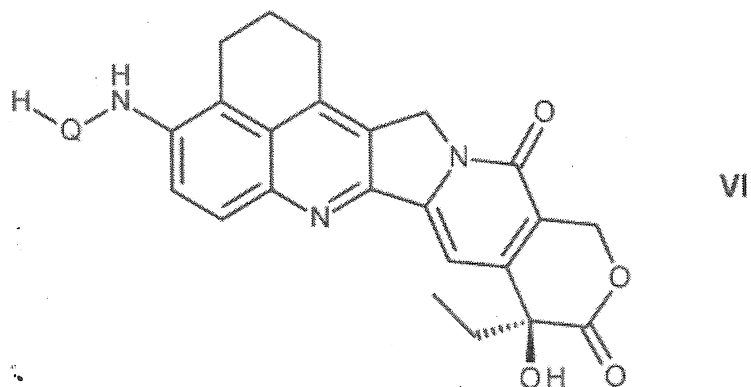
12. Thẻ tiếp hợp theo điểm 11, trong đó G^{LL} được chọn từ G^{LL1-1} và G^{LL1-2}.

13. Thẻ tiếp hợp theo điểm 11, trong đó Q là gốc dipeptit là ^{NH}-Val-Ala-^{C=O}, a bằng 0, b1 bằng 0, c1 bằng 1, c2 bằng 0 và d bằng 2, b2 bằng 8 và G^{LL} là G^{LL1-1}, trong đó ^{NH}-thể hiện đầu tận cùng N, và -^{C=O} thể hiện đầu tận cùng C của gốc.

14. Thẻ tiếp hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 11 đến 13, trong đó tải lượng được chất (p) của dược chất (D) với kháng thể (Ab) là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 10.

15. Dược phẩm chứa thể tiếp hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 11 đến 14 và chất pha loãng, chất mang hoặc tá dược được dùng.

16. Hợp chất có công thức VI:



trong đó Q là như được định nghĩa theo điểm 1 hoặc 2.

Thể tích khối u

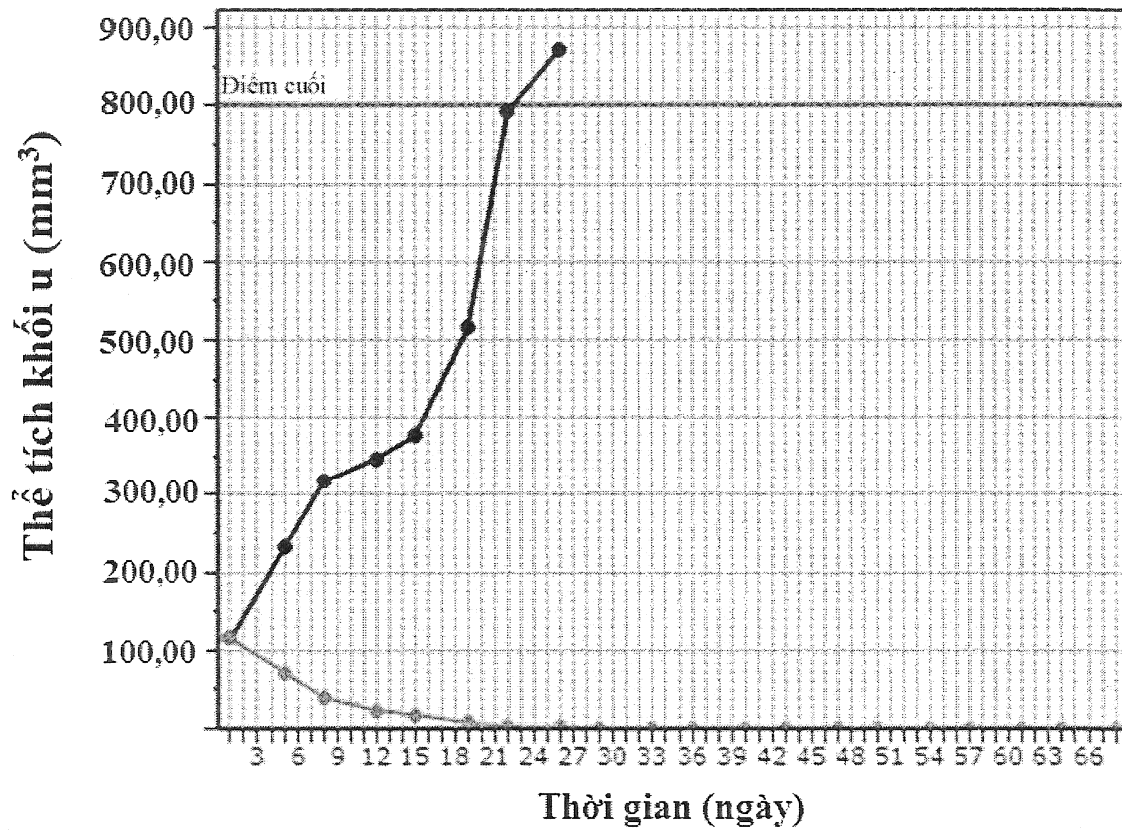
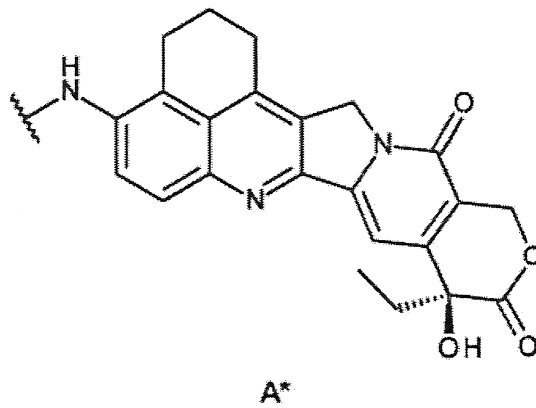


Fig.1



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> MEDIMMUNE LIMITED
 <120> HỢP CHẤT VÀ THỂ TIẾP HỢP CHỨA HỢP CHẤT NÀY
 <130> TOP-100-WO-PCT
 <140>
 <141>
 <150> 62/964,177
 <151> 2020-01-22
 <150> 62/826,393
 <151> 2019-03-29
 <160> 4
 <170> PatentIn phiên bản 3.5
 <210> 1
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <221> Nguồn
 <223> /Lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"
 <400> 1
 Asn Ala Val Pro Asn Leu Arg Gly Asp Leu Gln Val Leu Ala Gln Lys
 1 5 10 15
 Val Ala Arg Thr Cys
 20
 <210> 2
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <221> Nguồn
 <223> /Lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(18)
 <223> Axit amin bất kỳ
 <400> 2
 Asn Ala Val Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15
 Xaa Xaa Arg Thr Cys
 20
 <210> 3
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <221> Nguồn
 <223> /Lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"
 <400> 3
 Gly Gly Phe Gly
 1
 <210> 4
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <221> Nguồn
 <223> /Lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"
 <400> 4
 Gly Phe Gly Gly
 1